



## RELATO DE EXPERIÊNCIA

### GERENCIAMENTO DA TERAPIA TRANSFUSIONAL PARA PACIENTE DE TRANSPLANTE HEPÁTICO COM ALOANTICORPO DE ALTA FREQUÊNCIA

MANAGEMENT OF TRANSFUSION THERAPY FOR LIVER TRANSPLANT PATIENT WITH HIGH FREQUENCY ALLOANTIBODY

GESTIÓN DE LA TERAPIA DE TRANSFUSIÓN PARA PACIENTE DE TRASPLANTE DE HÍGADO CON ALOANTICUERPOS DE ALTA FRECUENCIA

Carmen Martins Nogueira<sup>1</sup>, Leilismara Sousa<sup>2</sup>, Angela Pereira Carrano<sup>3</sup>, Leandro Augusto Barbosa<sup>4</sup>

#### RESUMO

A transfusão de sangue é vital para a gestão de pacientes que necessitam de transplante hepático, pois muitos deles são hemotransfundidos durante o curso da doença, ou para alcançar o sucesso do procedimento cirúrgico. A amostra de sangue do paciente que necessita de politransfusões deve ser fenotipada para antígenos altamente imunogênicos, além dos ABO e RhD, na tentativa de prevenir a aloimunização. No entanto, a relação custo/benefício deve ser considerada e protocolos para identificação de hemocomponentes compatíveis com esses pacientes devem ser estimulados. Neste estudo, unidades de sangue foram testadas para o paciente com aloanticorpos anti-e, anti-Fy<sup>a</sup> e uma aglutinina fria não identificada, utilizando o soro do paciente e plasma de doador com aloanticorpo anti-e e anti-E. Nas unidades selecionadas foi realizada a prova cruzada com o soro do paciente e as compatíveis foram fenotipadas para os antígenos “e” e “Fy<sup>a</sup>”. Como resultado, 2039 unidades de sangue foram testadas e 382 selecionadas. Através das provas cruzadas destas com o soro do paciente, foram encontradas 109 unidades compatíveis e 11 unidades encontradas foram fenotipicamente compatíveis com o paciente (0,54% das unidades totais). Este caso ilustra como é difícil a localização de sangue compatível para pacientes com múltiplos aloanticorpos de alta frequência. **Descritores:** Reações antígeno-anticorpo; Transplante de fígado; Transfusão de sangue; Transfusão de eritrócitos.

#### ABSTRACT

Blood transfusion is vital either for the management of patients requiring liver transplantation, since many of these are blood transfused during the course of disease, or for achieving a successful procedure. A blood sample from the patient requiring multiple transfusions should be phenotyped for highly immunogenic antigens, besides the ABO and RhD in an attempt to prevent alloimmunisation. However, the cost/benefit ratio should be considered and protocols for acquisition of blood products compatible with these patients should be encouraged. In this study, blood units were tested for the patient with alloantibodies anti-e and anti-Fy<sup>a</sup> and a cold agglutinin unidentified, using patient sera and plasma from a donor with alloantibody anti-e and anti-E. Crossmatch was performed on selected units with patient sera and the compatible ones were phenotyped for antigens “e” and “Fy<sup>a</sup>”. As a result, 2039 units of blood were tested and 382 selected. Through these crossed tests with patient sera 109 compatible units were found and 11 units found were phenotypically compatible with the patient (0.54% of total units). This case illustrates how difficult it is to locate compatible blood for patients with multiple alloantibodies high frequency. **Descriptors:** Antigen-antibody reactions; Liver transplantation; Blood transfusion; Erythrocyte transfusion.

#### RESUMEN

La transfusión de sangre es vital para el tratamiento de pacientes que requieren un trasplante de hígado, ya que muchos de éstos reciben transfusión de sangre durante el curso de la enfermedad o para lograr éxito en el procedimiento. Una muestra de sangre del paciente que requiere transfusiones múltiples debe ser fenotipada para antígenos altamente inmunogénicos, además de la ABO y RhD, con el intento de impedir la aloinmunización. Sin embargo, la relación costo/beneficio debe ser considerada y protocolos para la identificación de los componentes sanguíneos compatibles con estos pacientes deben ser alentados. En este estudio, las unidades de sangre fueron analizadas para el paciente con aloanticuerpos anti-e y anti-Fy<sup>a</sup> y una aglutinina fría no identificada utilizando el suero del paciente y plasma de un donante con aloanticuerpos anti-e y anti-E. La prueba cruzada fue realizada en las unidades seleccionadas con el suero del paciente y las compatibles fueron fenotipadas para antígenos “Fy<sup>a</sup>” y “e”. Como resultado, 2039 unidades de sangre fueron probadas y 382 seleccionadas. A través de estas pruebas cruzadas con el suero del paciente 109 unidades fueron consideradas compatibles y 11 unidades encontradas fueron fenotípicamente compatibles con el paciente (0,54% del total de unidades). Este caso ilustra lo difícil que es encontrar sangre compatible para los pacientes con aloanticuerpos alta frecuencia múltiple. **Descritores:** Reacciones antígeno-anticuerpo; Trasplante de hígado; Transfusión sanguínea; Transfusión de eritrocitos.

<sup>1</sup>HUCFF - Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro. <sup>2</sup>Laboratório de Bioquímica Celular, Faculdade de Bioquímica, Universidade Federal de São João del Rei. <sup>3</sup>HUCFF - Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro. <sup>4</sup>Laboratório de Bioquímica Celular, Faculdade de Bioquímica, Universidade Federal de São João del Rei.

## INTRODUÇÃO

O suporte transfusional é vital tanto para a gestão de pacientes transplantados hepáticos, pois muitos exigem grandes quantidades de unidades de sangue durante o curso de sua doença, quanto para o sucesso do procedimento cirúrgico.

Tradicionalmente, a prática da hemotransfusão implica o desenvolvimento de vários procedimentos para se garantir a segurança transfusional. Além disso, hoje em dia, há uma grande preocupação com o tempo, o dinheiro e a energia despendidos e com o investimento para promover uma transfusão de sangue segura e confiável. O melhor método para se proceder aos testes de compatibilidade ainda é uma questão muito controversa na prática transfusional.

Idealmente, um método adequado deve resultar em um hemocomponente seguro para ser transfundido, em um tempo adequado e de custo eficaz. Melhorias, tanto na perspectiva econômica quanto na eficácia da gestão de sangue, ganham relevância nas unidades hemoterápicas, resultando daí que muitos estudos são realizados em todo o mundo para verificar quais os passos na realização dos testes de compatibilidade de Concentrados de Hemácias (CHM) são estatisticamente necessários para garantir a segurança dos pacientes hemotransfundidos. Esses novos protocolos de testes de Prova-Cruzada devem reverter em grande economia para as unidades hemoterápicas em uma base anual.

O Hospital Clementino Fraga Filho, gerido pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), tem a equipe médica de referência mais experiente em transplantes de fígado na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. Pacientes portadores de múltiplos anticorpos

antes do transplante são o principal problema, de modo que encontrar hemocomponentes verdadeiramente compatíveis representa um enorme desafio para a gestão dos hemocentros.

Aqui, é relatado o caso de um paciente candidato ao transplante de fígado com múltiplos aloanticorpos de alta frequência e um autoanticorpo frio, bem como as dificuldades para a unidade hemoterápica em adquirir os hemocomponentes necessários ao seu tratamento.

## MÉTODOS

### PAI - Pesquisa de Anticorpos Irregulares (teste em tubo)

Amostras de sangue do paciente, submetidas ao laboratório hemotransfusional do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (Rio de Janeiro, Brasil), foram testadas para aloanticorpos através da utilização de um *kit* de reagentes para a detecção de anticorpos contra antígenos selecionados e foram realizados de forma padronizada e de acordo com as instruções do fabricante<sup>(1)</sup>. A técnica para a detecção de anticorpo envolve a utilização de 100 µL de soro, 50 µL de solução 5% de hemácias (RBCs) e de um tubo de ensaio de antiglobulina indireta salina. As reações foram classificadas como 4+, 3+, 2+, 1+, w+, ou negativa, e foi dada uma pontuação (*score*), tal como proposto por Marsh<sup>(2)</sup>, com valores de 12 (um único botão) a 0 (ausência de aglutinação detectada). Pontuações que foram observáveis apenas pela leitura microscópica foram desconsideradas.

### Tipagem em microcoluna de gel

Para a tipagem em microcoluna de gel (DiaMed-ID), 25 µL de soro e 50 µL de solução 1% RBCs, em uma solução de baixa força

iônica, foram usadas de acordo com as instruções do fabricante<sup>(3)</sup>. As reações foram classificadas e marcadas (sistema do tubo de ensaio) de acordo com a distribuição das células aglutinadas por toda a matriz de gel. As reações negativas apareceram como uma camada compacta de células na parte inferior do microtubo, tal como indicado pelo fabricante.

**Procedimentos de Prova Cruzada**

A técnica para Prova Cruzada envolveu o uso de 100 µL de soro, 50 µL de solução 5% RBCs, um tubo de ensaio de antiglobulina indireta, 25 µL de soro e 50 µL de solução 1% RBCs, em uma solução de baixa força em teste gel<sup>(3)</sup>, 25 µL de soro, 50 µL de solução 1% RBCs e 25 µL de bromelina, numa solução de baixa força iônica no ensaio de microplacas<sup>(4)</sup>.

**Identificação de antígenos**

A identificação de antígenos eritrocitários foi realizada por meio de

métodos padronizados e de acordo com as instruções do fabricante<sup>(3)</sup>. Os reagentes de teste foram usados com os cartões monoclonais gel Diamed-ID para sistema Rh (DCcEe) e anti-Fy<sup>a</sup>.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Um paciente do sexo masculino, 42 anos, grupo ABO sistema A, Rh-positivo, foi admitido no hospital para transplante hepático, apresentando níveis de hemoglobina de 10,6 g / dL. No entanto, a cirurgia foi cancelada devido à dificuldade de encontrar sangue compatível para o procedimento. O soro do paciente foi examinado para anticorpos e os aloanticorpos anti-e e anti-Fy<sup>a</sup> foram detectados (Tabela 1), bem como um autoanticorpo frio não completamente identificado e um TAD positivo.

**Tabela 1-** Tipo e especificidade dos anticorpos

| Anticorpo            | Título | Marsh Score |
|----------------------|--------|-------------|
| anti-Fy <sup>a</sup> | 1:256  | 53          |
| anti-e               | 1:32   | 25          |

O fenótipo do paciente foi determinado e está resumido na Tabela 2. Apenas os testes em gel neutro microcoluna foram realizados,

uma vez que o TAD positivo poderia causar um resultado falso positivo nos testes de gel de Coombs.

**Tabela 2-** Fenótipo do paciente

| D | C | C <sup>w</sup> | c | E | e | K | k | Kp <sup>a</sup> | Kp <sup>b</sup> | JK <sup>a</sup> | JK <sup>b</sup> | P <sub>1</sub> | Le <sup>a</sup> | Le <sup>b</sup> | Lu <sup>a</sup> | Lu <sup>b</sup> | M | N |
|---|---|----------------|---|---|---|---|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---|---|
| + | 0 | 0              | + | + | 0 | 0 | + | 0               | +               | 0               | +               | +              | 0               | +               | 0               | +               | + | + |

Para buscar sangue compatível, o protocolo foi organizado em três fases: Triagem, Prova Cruzada e Definição.

**Fase 1- Triagem**

Inicialmente foi utilizado o soro do paciente para o rastreio; porém, como uma enorme quantidade de sangue é necessária para a triagem, foram buscadas alternativas.

Plasmas congelados contendo os aloanticorpos anti-e e anti-E estavam disponíveis na coleção de doadores e foram posteriormente utilizados na triagem inicial. Sangue ABO, compatível com o tipo do paciente, foi

testado para antígenos de alta incidência em um teste de aglutinação em microplaca, e os resultados estão descritos na Tabela 3.

**Tabela 3-** Número de unidades de CHM selecionadas

| Fases            | Unidades | Unidades selecionadas | Percentual de unidades selecionadas |
|------------------|----------|-----------------------|-------------------------------------|
| <b>Triagem</b>   |          |                       |                                     |
| Soro do paciente | 1.102    | 171                   | 15,5                                |
| Soro anti-e      | 690      | 150                   | 21,7                                |
| Soro anti-E      | 247      | 61                    | 24,7                                |
| Total            | 2.039    | 382                   | 18,7                                |
| Prova Cruzada    | 382      | 109                   | 28,5                                |
| Definição        | 109      | 11                    | 10,1                                |
| Resultado total  | 2.039    | 11                    | 0,54                                |

Utilizando o soro do paciente, 1.102 unidades de concentrados de hemácias foram testadas e 171 foram selecionadas para a fase seguinte. Para o soro contendo o aloanticorpo anti-e, 690 unidades de CHM foram testadas e 150 foram selecionadas; para o plasma que apresentou o aloanticorpo anti-E, 247 unidades de CHM foram testadas e 61 foram selecionadas para a próxima fase: a Prova Cruzada.

#### Fase 2- Prova Cruzada

As unidades selecionadas de CHM foram testadas com o soro do paciente em ensaio de tubo para obter hemácias compatíveis com os aloanticorpos de outro paciente (anti-Fy<sup>a</sup>). As unidades de CHM selecionadas contra o soro do paciente na fase anterior não foram testadas nesta fase. Entre as 382 unidades de CHM testadas nesta fase, 109 unidades apresentaram 1+, w+ ou reatividade negativa, e foram selecionadas para a próxima fase. Torna-se importante relatar que o autoanticorpo frio foi desconsiderado, pois ele

não tinha relevância clínica, e por causa disso, muitas unidades mostraram fracas reações positivas. Portanto, essas unidades não foram descartadas nessa fase e foram selecionadas para os procedimentos de fenotipagem, na fase 3 - Definição.

#### Fase 3- Definição

As unidades de CHM, testadas e compatíveis com o soro do paciente foram combinadas para os antígenos Rh e Fy<sup>a</sup> para garantir a segurança da transfusão. Dentre as 109 unidades, apenas 11 foram fenotipicamente compatíveis e, por essa razão, reservadas para o paciente, a partir de um total de 2.039 unidades testadas em dois meses de investigação intensiva. Essas unidades foram disponibilizadas durante todo o período de admissão e até a alta do paciente do hospital.

Pacientes com alto índice de aloimunização estão em risco elevado de reações transfusionais hemolíticas, que podem ainda comprometer a condição clínica do

paciente. Pacientes transplantados de fígado frequentemente necessitam de grandes quantidades de sangue. A frequência e a natureza dos anticorpos eritrocitários destes foram examinadas por Ramsey<sup>(5)</sup>. Esse estudo mostrou que em 6,3% dos adultos foram encontrados anticorpos clinicamente significativos antes do transplante e, apesar de imunossupressão, a aloimunização emergiu num adicional de 7,5 % dentro de 1 a 5 semanas após o transplante. A frequência de aloanticorpos pré-cirúrgicos em pacientes de transplante de coração e pulmão foi, em média, 1,3%, e se elevou para 2,1% após a cirurgia<sup>(6)</sup>, uma imagem que certamente retrata a alta incidência de transfusões anteriores em pacientes de transplante de fígado. Além disso, estudos mostraram uma maior prevalência de aloimunização em receptores de transplante de fígado, que por si só leva a um aumento significativo de casos positivos para aloanticorpos após a hemotransfusão<sup>(7-11)</sup>.

Foi aplicado um protocolo para testar unidades de CHM compatíveis para um paciente com múltiplos anticorpos e em situação clínica crítica em que o transplante de fígado era requerido. A necessidade de obter unidades de sangue para pacientes com múltiplos anticorpos leva a testes extensos de fenotipagem de todas as unidades de CHM, o que pode se tornar um processo muito caro. Em vez de começar com um processo de fenotipagem, o procedimento foi iniciado com a triagem de unidades de CHM. Primeiramente, foi testado o soro do paciente, mas para os casos mais complexos (como este era), a grande quantidade de soro necessária causaria um estresse contínuo ao mesmo, devido ao elevado número de visitas e de coletas de sangue, sem mencionar o agravamento do estado de anemia do paciente.

Portanto, foi utilizado um estoque de plasma congelado de doadores de sangue que apresentavam anticorpo anti-e ou anti-E, pois a grande preocupação da unidade hemoterápica era a alta frequência de antígeno “e”. As unidades de sangue que eram incompatíveis com o plasma anti-e foram descartadas e as unidades com nenhuma reatividade para com o plasma anti-e, mas reativas com o plasma anti-E, foram selecionadas. Estas unidades selecionadas foram então testadas com o soro do paciente, para evitar qualquer incompatibilidade com o anti-Fy<sup>a</sup>.

Finalmente, para evitar uma reação transfusional hemolítica, foram fenotipadas todas as unidades selecionadas para os antígenos dos anticorpos clínicos previamente detectados no soro do paciente: sistema Rh (DCcEe) e sistema Fy (Fy<sup>a</sup>). Portanto, os testes mais caros só foram utilizados na seleção final, com um número menor de unidades, sem a fenotipagem de todas as unidades de CHM, reduzindo drasticamente os custos totais e, adicionalmente, preservando o nível de hemoglobina do paciente.

As unidades selecionadas na fase da prova cruzada (109) foram menores do que o número de unidades selecionadas por triagem com o soro do paciente (171). Esses dados não foram totalmente inesperados, porque os testes de fase de triagem foram realizados em condições de microplacas, que são menos sensíveis do que o tubo de ensaio e não eram suficientemente fortes para detectar os aloanticorpos. Isso só reforça a necessidade de fenotipagem de todas as unidades selecionadas, uma vez que, devido ao título de aloanticorpos do paciente, ou para a sensibilidade da técnica, elas podem não ser capazes de detectar os fenótipos heterozigotos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi apresentada aqui a dificuldade em identificar unidades de CHM para pacientes com múltiplos aloanticorpos. Essa estratégia permitiu à unidade hemoterápica a gestão deste paciente com uma redução acentuada nos custos, mas sem subestimar a sua segurança, com ações importantes para evitar reações transfusionais hemolíticas para pacientes de transplante hepático. AGRACECIMENTO: Agradecemos ao Dr. Julio Alberto Mignaco, pela leitura crítica deste manuscrito.

## REFERÊNCIAS

- 1- Vengelen T. Technical manual. 13th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks; 1999.
- 2- Marsh WL. Scoring of hemagglutination reactions. *Transfusion*. 1972;12(5):352-3.
- 3- Lapierre Y, Rigal D, Adam J, et al. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Transfusion*. 1990;30(2):109-13.
- 4- Mallory D. Immunohematology Methods and Procedures. 1st ed. Washington: American Red Cross. 1993.
- 5- Ramsey G, Cornell FW, Hahn LF, et al. Red cell antibody problems in 1000 liver transplants. *Transfusion*. 1989;29(5):396-400.
- 6- Cummins D, Contreras M, Amin S, Halil O, Dowham B, Yacoub MH. Red cell alloantibody development associated with heart and lung transplantation. *Transplantation*. 1995;59(10):1432-35.
- 7- Au WY, Liu CL, Lo CM, Fan ST, Lam MF, Lam CK. Red blood cell alloantibodies and liver transplantation in Chinese patients. *Transplantation*. 2003;75(11):1904-6.
- 8- Shariatmadar S, Pirsopoulos NT, Vincek V, Noto TA, Tzakis AG. Alloimmunization to red cell antigens in liver and multivisceral transplant patients. *Transplantation*. 2007;84(4):527-31.
- 9- Boyd SD, Stenard F, Lee DK, Goodnough LT, Esquivel CO, Fontaine MJ. Alloimmunization to red blood cell antigens affects clinical outcomes in liver transplant patients. *Liver Transpl*. 2007;13(12):1654-61.
- 10- Luzo AC, Pereira FB, de Oliveira RC, Azevedo PR, Cunha RD, Leonardi MI, Leonardi LS, Cardoso AR, Caruy CA, Ataíde EC, Boin IF. Red blood cell antigen alloimmunization in liver transplant recipients. *Transplant. proc.* 2010;42(2):494-5.
- 11- Alqurashi S, Alsayyari AA, Abdullah K, Alwan A, Hajeer AH. Combined liver and kidney transplantation in a highly sensitized and positively cross-matched patient. *Saudi j. kidney dis. transplant*. 2011;22(4):757-60.

Recebido em: 29/01/2013  
 Versão final em: 10/03/2013  
 Aprovação em: 10/04/2013

### Endereço de correspondência

Leandro A. Barbosa  
 Endereço: Universidade Federal São João Del Rei - UFSJ. Campus Centro Oeste Dona Lindu Av. Sebastião Gonçalves Coelho, nº 400, Chanadour. CEP: 35504-296 - Divinópolis/MG.  
 E-mail: leaugust@yahoo.com.br