

## FENÔMENO DE AGLUTINAÇÃO UMA DE SUAS APLICAÇÕES PRÁTICAS

Luiz Carlos Tovo \*

As proteínas ingeridas pelo organismo humano são atacadas pelas enzimas do aparelho digestivo, e se transformam em amino-ácidos, sendo estes finalmente aproveitados pelo organismo que sintetizará a sua própria proteína a partir deles.

Se, entretanto, a proteína fôr administrada por via parenteral, ela escapará à ação das enzimas digestivas e quando atingir a corrente circulatória e a intimidade dos tecidos vai gerar uma reação do organismo cuja finalidade é a de eliminar a proteína estranha à composição do corpo animal. Esta reação consiste na elaboração de substâncias que reagem especificamente com a proteína injetada.

A estas substâncias dá-se o nome de ANTICORPOS e às substâncias

que como as proteínas, solicitam a produção de anticorpos, dá-se o nome de ANTÍGENO.

Denomina-se então, de FUNÇÃO ANTIGENICA, a capacidade que têm determinadas substâncias (proteínas) de produzirem anticorpos e reagirem com estes anticorpos produzidos.

BORDET (1895), GRUBER e DURHAM (1896) demonstraram que se a uma emulsão de vibriões coléricos adicionarmos um traço de soro anticolérico, os germes se reúnem em grumos depositando-se no fundo do tubo e deixando o sobrenadante claro.

Este mesmo fenômeno, foi verificado com numerosas outras espécies de microrganismos e a ele dá-se o nome de AGLUTINAÇÃO

---

\* Colaborador de Ensino da Cátedra de Microbiologia

e ao anticorpo que o determina, o de aglutinina.

Há pois, reação entre antígeno e anticorpo, e se o antígeno estiver situado na superfície de partículas, resultará a agregação das mesmas e teremos então, o fenômeno da **AGLUTINAÇÃO**.

Já os antigos haviam observado que ao transfundirem o sangue de animais domésticos para o homem, êstes apresentavam hemoglobinúria, febre e não raro, morriam.

LANDOIS (1875) verificou que misturando-se «in vitro» o sangue humano ao sangue de animais, ocorria a aglutinação e lise dos glóbulos vermelhos.

LANDSTEINER (1900) entretanto, foi quem esclareceu os acidentes pós-transfusionais ao descobrir os grupos sanguíneos do sistema ABO, dizendo serem devidos a reações do aglutinogênio contido nas hemácias do doador com as isoaglutininas normais do sôro do receptor.

Com a descoberta do fator Rh em 1940, ficou demonstrado que acidentes pós-transfusionais pelo sistema ABO podiam ser desenvolvidos, devido a uma isoimunização ou sensibilização do receptor provocadas por transfusões anteriores, seja pelo estímulo antigênico exercido pelas hemácias fetais no decurso da gestação.

**Tipos de grupos sanguíneos — LANDSTEINER (1900)** foi quem primeiro reconheceu a existência de três grupos sanguíneos de 22 indivíduos normais, deixando reagir entre si os sôros e as hemácias desses indivíduos.

Estabeleceu então:

Grupo O — quando as hemácias dos indivíduos eram inaglutináveis.

Grupos A e B — quando os glóbulos vermelhos dos indivíduos eram aglutináveis por certos sôros e não por outros.

DESCATELLO e STURLI (1901) descobriram um 4º grupo, denominado AB, cujas hemácias eram aglutináveis por ambos os sôros.

Os grupos sanguíneos ficaram assim caracterizados:

Denominação do grupo	Reações das hemácias com os sôros	
	Anti-A	Anti-B
O	—	—
AB	+	+
A	+	—
B	—	+

(De O. Bier)

Essa nomenclatura é internacional, e hoje preferida às de JANSKY (I, II, III, IV) e de MOSS (IV, II, III, I) a fim de designar respectivamente os grupos O, A, B, AB.

A nomenclatura internacional indica o mecanismo pelo qual se operam as reações cruzadas entre os glóbulos e os sôros dos diferentes grupos.

Basta reter que as designações O, A, B, e AB denotam os aglutinogênios presentes nas hemácias e que conforme a regra de LANDSTEINER não existem no sôro aglutininas capazes de agir sobre as

hemácias do mesmo sangue («horror autotóxico») mas sim para os antígenos que nelas não ocorrem.

Assim, um indivíduo do grupo A, em virtude de possuir em suas hemácias o aglutinogênio A, só poderá conter no sôro a aglutina B (Anti B); o indivíduo B possuirá o aglutinogênio B e aglutinina a (Anti A), etc. conforme o quadro abaixo: (de O. Bier)

Grupo sanguíneo	Agglutinogênio nas hemácias	Agglutininas no sôro
O	O	a, b
A	A	b (anti-B)
B	B	a (anti-A)
AB	AB	—

**Técnica para a determinação dos grupos sanguíneos** — A determinação dos grupos sanguíneos pode ser feita em lâmina ou em tubo pelas técnicas de BETH-VINCENT ou LANDSTEINER, respectivamente.

Descreveremos a técnica em lâmina com sôros anti-A e anti-B da JOHNSON-JOHNSON.

Estes sôros são preparados com sangue de doadores selecionados, imunizados por injeções de substâncias específicas A e B. Possuem elevado título de aglutininas e dão reações rápidas quando usados no teste em lâmina ou em tubo.

#### Técnica do teste em lâmina

1 — Colocar num dos cantos da

lâmina uma gota de sôro anti-A (verde) e no canto oposto, uma gota de sôro anti-B (amarelo). É conveniente dividir a lâmina ao meio com lápis dermatográfico para evitar confusão.

2 — Deixar cair uma pequena gota de sangue fresco sobre cada gota de sôro (A quantidade de sangue deve ser sempre menor que a de sôro).

3 — Misturar individualmente o sangue e o sôro de cada tipo com cantos diferentes de outra lâmina limpa.

4 — Fazendo oscilar a lâmina, assegura-se uma mistura perfeita do sôro e do sangue. Em cerca de 30 segundos a aglutinação tem início, tornando-se evidente em menos de 2 minutos podendo o resultado ser lido a olho nú.

Sangues que contém o aglutinogênio A ou B reagem intensamente, porém o aglutinogênio A<sub>2</sub> reage mais lentamente e a aglutinação é mais delicada.

Deve-se repetir a leitura após 5 minutos, a fim de confirmar os resultados.

#### Colheita de sangue

Deve-se usar sangue fresco. Sangues coagulados ou contaminados não são satisfatórios.

1 — Sangue venoso colhido em oxalato ou heparina é ideal para o teste e deve ser preferido.

2 — Sangue da polpa do dedo também pode ser empregado (usado por nós em nossos testes); neste caso ele deve ser pingado diretamente sobre as gotas de sôro pré-

viamente colocadas na lâmina. O sangue da polpa do dedo não deve ser oxalitado.

3 — Na eventualidade de só se poder usar sangue coagulado, deve-se proceder primeiro a libertação das hemácias, por meio de um bastonete de vidro ou de uma pipeta.

a — preparar uma suspensão de hemácias à 10% em solução fisiológica.

b — usar a suspensão de hemácias da mesma maneira já descrita.

As pesquisas de VON DUNGERN e HIRSZFELD (1910) mostraram que os sôros B, quando absorvidos por certas hemácias A, conservavam ainda a capacidade de aglutinar outras hemácias A.

Este fenômeno, analisado sobretudo por LANDSTEINER e seus colegas (1926), levou à conclusão de que há uma diferença qualitativa entre êsses dois tipos do sangue A, que podem ser convenientemente designados com  $A_1$  e  $A_2$ .

Existem pois, dois subgrupos tanto de A como de AB:  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_1B$ ,  $A_2B$ .

Nos sôros de B e O, além da isoaglutinina a, que reage tanto com glóbulos  $A_1$  como com glóbulos  $A_2$ , costuma existir também uma aglutinina  $a_1$ , específica para os glóbulos  $A_1$ .

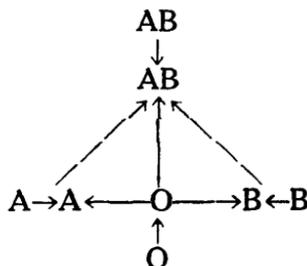
Na seleção de sôros padrões anti-A (a) para a determinação dos grupos sanguíneos é importante usar sôros que mostrem título elevado em relação à uma série de sangues A, a fim de incluir tanto glóbulos  $A_1$  como glóbulos  $A_2$ .

As isoaglutininas encontradas no sangue humano são de grande importância devido ao número crescente de transfusões sanguíneas que se estão utilizando para tratar muitas afecções clínicas e cirúrgicas.

Entretanto, é de maior importância determinar corretamente o tipo de sangue antes de injetá-lo em um paciente, devido ao perigo de uma reação grave (aglutinação) se se administra sangue de tipo incompatível.

Na transfusão sanguínea o melhor é injetar sangue do mesmo tipo. Todavia quando isto não é possível, pode-se dar sangue do tipo O, se não há incompatibilidade do fator Rh.

Esquema para escolha de um doador: (de O. Bier)



**Fator Rh** — Os avanços mais significativos nas transfusões sanguíneas e em certas enfermidades clínicas, resultaram do descobrimento por LANDSTEINER e WIENER (1940) do antígeno Rh (aglutinogênio).

Em 1939, LEVINE e STETSON já haviam observado um acidente transfusional numa paciente que apresentara copiosa hemorragia

após haver dado à luz um feto macerado, e por isso recebera transfusões de sangue do marido, que como ela, era do tipo O. Esta paciente possuía no seu sôro uma aglutinina irregular que aglutinava o sangue do marido e do filho, bem como as hemácias de 85% de indivíduos pertencentes ao grupo O. Sugeriram então que a reação transfusional observada se devia a uma aglutinina atípica, resultante da imunização da mãe por um antígeno fetal herdado do pai.

Em 1940, LANDSTEINER e WIENER, injetando hemácias de «Macacos rhesus» em coelhos conseguiram a produção de anti-corpos que aglutinavam, não só os glóbulos vermelhos daquele, como os de cêrca de 85% da população branca.

Denominaram fator Rh ao elemento responsável por esta reação de imunização, símbolo êste tirado das duas primeiras letras de «Rhesus».

Pouco depois LEVINE com KATZIN, BURNHAM e VOGEL, constataram que um acidente transfusional idêntico ao que relatara em 1930 era devido ao fatôr Rh, e que a paciente era portadora de uma aglutinina irregular anti-Rh.

Estava assim descoberto um novo, fator sanguíneo, que acarretou profundas modificações nos conceitos e técnicas de transfusão, trazendo por outro lado marcada contribuição para a patologia fetal e neofetal, ao ficar patenteado que a grande maioria dos casos de doença hemolítica do recém-nato a êle se deviam. As investigações que desde então se sucederam, vieram de-

monstrar que não se tratava porém de um único fator ou grupo, mas de vários constituindo o sistema Rh. Sabemos hoje que o sistema Rh é bem complexo.

Com efeito, além do sôro original (85%) que corresponde ao antígeno Rh<sub>0</sub> foram encontrados mais dois sôros anti-Rh e denominados de Rh' (70%) e Rh'' (30%).

Os indivíduos cujos glóbulos vermelhos contém o antígeno Rh são designados Rh positivos; aquêles cujos glóbulos vermelhos carecem do antígeno são Rh negativos.

Este fator é importante por sua capacidade imunizante; está provado que os anticorpos do fator Rh causam reação em indivíduos Rh negativos que préviamente receberam transfusões com sangue Rh positivo.

Pior é a situação quando está estimulada a formação de anticorpos em uma mãe Rh negativa durante a gravidez. Isto só ocorre quando o feto é Rh positivo como resultado dos gens herdados de um pai Rh positivo.

A criança pode sofrer eritroblastose e morrer no útero.

**Técnica para determinação do fator Rh<sub>0</sub> ou anti-D, 85% com o antisôro Rh<sub>0</sub> de JOHNSON-JOHNSON.**

O sôro anti-Rh<sub>0</sub> — é o único que se destina a deŕeterminação do fator Rh em gestantes e receptores de sangue, uma vez que se demonstrou que aproximadamente 93% de todos os casos de eritroblastose fetal e das reações por transfusões

de sangue, mesmo de grupos sanguíneos compatíveis ABO, são devidas a uma incompatibilidade de fator Rh<sub>0</sub>.

#### Técnica do teste em lâmina.

1 — Colheita do sangue — Sangue oxalatoado é o que se presta melhor para o teste. O oxalato deve ser usado em pequena quantidade, apenas o suficiente para impedir a coagulação, em excesso, interfere com a aglutinação. Uma gota da solução de oxalato de potássio é suficiente para um ml, de sangue venoso. Sangue coagulado também se presta para o teste, mas é preciso fazer uma suspensão de 40-50% no próprio soro.

Quando a colheita de sangue fôr impraticável, também se pode usar sangue da polpa do dedo (usado por nós nos testes); deve-se então pingá-lo diretamente sobre a lâmina sem qualquer agente anti-coagulante.

Todavia, os resultados obtidos com este processo, não são tão bons como os que se conseguem com a técnica acima descrita. Sangue citratado ou em suspensão de soro fisiológico é formalmente contra-indicado.

2 — Aquecer a lâmina junto a uma lâmpada elétrica a uma temperatura de aproximadamente 40°C.

3 — Sobre a lâmina já aquecida colocar duas gotas de sangue oxalatoado ou duas gotas de sangue da polpa do dedo, e uma gota de soro anti-Rh para testes em lâmina. Com o canto de uma lâmina limpa, ou com um bastão misturar rapidamente o sangue e o soro (Homogenizar) e espalhar uma superfície equivalente a um terço da lâmina.

4 — Agitar a lâmina com um movimento oscilatório, fazendo com que o sangue deslize de um lado para outro. A lâmina deve estar sempre aquecida a 40°C, bastando mantê-la sempre próxima da lâmpada.

5 — Em cerca de 30 segundos a aglutinação se inicia, tornando-se bastante evidente, com grandes grumos, em menos de 2 minutos.

Aglutinação indica sangue Rh positivo e a ausência de aglutinação no fim de 2 minutos traduz sempre Rh negativo.

Existem várias possibilidades de erro neste teste, que entretanto não abordaremos.

#### TRABALHO EXPERIMENTAL

Determinamos o grupo sanguíneo e fator Rh de 124 alunos matriculados em uma das séries da Faculdade de Odontologia, usando a técnica da lâmina e empregando soro Jonhson, e pudemos estabelecer o seguinte:

**PERCENTAGEM DE GRUPOS SANGUÍNEOS.**

Grupo O	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	TOTAL
43	59	16	6	124
35,2	47,3	13,5	4	%

**PERCENTAGEM DE FATOR Rh POSITIVO E FATOR Rh NEGATIVO.**

Rh +	Rh —	TOTAL
118	6	124
95,2	4,8	%

**RELAÇÃO ENTRE GRUPO SANGUÍNEO E FATOR Rh + E FATOR Rh —**

	GRUPO O		GRUPO A		GRUPO B		GRUPO AB	
	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%
Rh +	40	93,1	58	98,4	14	87,5	6	100
Rh —	3	6,9	1	1,6	2	12,5	0	0

**RELAÇÃO ENTRE GRUPO SANGUÍNEO E SEXO**

Sexo	Grupo O		Grupo A		Grupo B		Grupo AB	
	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%
Masc.	38	88,3	45	76,6	14	87,5	5	83,4
Fem.	5	11,7	14	23,4	2	12,5	1	16,6

**RELAÇÃO ENTRE FATOR Rh+ E FATOR Rh- COM SEXO**

Sexo	Rh +		Rh-	
	Total	%	Total	%
Masc.	96	81,4	5	83,4
Fem.	22	18,6	1	16,6

**BIBLIOGRAFIA:**

- BIER, Otto — Bacteriologia e Imunologia — 8a. Edição — Edições Melhoramentos - Págs. 271-277.
- GRELLE, F. C. — Manual de Obstetrícia — Volume 2. — Atheneu S. A. — Págs. 1493-1528.
- SMITH, D. T. e MARTIN, D. S. — Bacteriologia de Zinsser — Ed. UTEHA — México — Págs. 201-202.
- JOHNSON-JOHNSON — Bula que acompanha o sôro.