

Detecção de Anticorpos Heterófilos em Soros de Indivíduos Idosos

Detection of Heterophilic Antibodies in Sera of Elderly Individuals

Samuel Guemra^{*}
 Beatriz Schlatter Hasenack^{**}
 Éryka Helena Trapp e Pinheiro^{*}
 Audrey de Souza Márquez^{***}

* Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

** Universidade Estadual de Londrina (UEL).

Resumo

Os anticorpos heterófilos (AH) são imunoglobulinas produzidas em resposta a um antígeno não específico cuja produção tende a aumentar com a idade. O objetivo deste trabalho foi detectar qualitativa e quantitativamente a presença de AH em soros de pacientes idosos. Foram analisadas 164 amostras de soro de indivíduos acima de 50 anos e 40 amostras de adultos jovens entre 18 e 30 anos (grupo controle) pela técnica de Paul-Bunnell-Davidsohn. Quarenta e quatro idosos (26,8%) e 24 adultos jovens (60,0%) foram não reagentes para a presença de AH. O título médio de AH foi $21,5 \pm 19,4$ e $12,9 \pm 7,4$ para mulheres e homens idosos, sendo $p < 0,05$, e $5,33 \pm 9,10$ e $7,0 \pm 9,33$ para mulheres e homens jovens, sendo $p > 0,05$ respectivamente. Concluiu-se com este estudo que os idosos, especialmente do sexo feminino, tendem a produzir quantidade significativamente maior de AH que adultos jovens.

Palavras-chave: Anticorpos heterófilos. Anticorpos interferentes. Idosos. Reação de Paul-Bunnell-Davidsohn.

Abstract

Heterophilic antibodies (AH) are immunoglobulins produced in response to non-specific antigens whose production tends to increase with age. The aim of this study was to detect, qualitative and quantitatively, the presence of AH in sera of elderly patients. One hundred sixty four serum samples from individuals above 50 years old and 40 samples from young adults ranging from 18 to 30 years old (control group) were analyzed by means of Paul-Bunnell-Davidsohn test. Forty four of the older individuals (26.8%) and 24 of the young adults (60.0%) were non reagent. AH medium title was 21.5 ± 19.4 and 12.9 ± 7.4 for elderly women and men, $p < 0.05$, and 5.33 ± 9.10 and 7.0 ± 9.33 for young women and men, $p > 0.05$, respectively. It was concluded that elderly people, especially women, tend to produce significantly higher amounts of AH than young people.

Key-words: Heterophilic antibodies. Interfering antibodies. Elderly. Paul-Bunnell-Davidsohn Reaction.

1 Introdução

Os anticorpos heterófilos (AH) são imunoglobulinas produzidas em resposta a um antígeno não específico ou contra antígenos animais induzidos a partir de vacinas, contato ambiental ou determinadas doenças infecciosas e autoimunes. Estes anticorpos apresentam multiespecificidade e possuem baixa afinidade (LEVINSSON, 1992).

Indivíduos não doentes podem apresentar títulos detectáveis de AH no soro, assim como pacientes desenvolvendo Mononucleose Infecciosa Aguda ou Doença do Soro (CALLEJO *et al.*, 1999). Diversos ensaios laboratoriais sofrem interferência por estes anticorpos em decorrência de reatividades cruzadas especialmente com elementos animais utilizados em kits diagnósticos (CHAN *et al.*, 2004; DESPRES; GRANT, 1998; RAMOS *et al.*, 2001;). Hawkins *et al.* (1980) detectaram uma prevalência de AH em 9,8% das mulheres e 12,4% dos homens em um estudo realizado com população saudável.

Boscato e Stuart (1986) estimaram que cerca de 40%

das amostras para análise apresentam AH circulantes em títulos elevados o suficiente para interferir em ensaios imunológicos. Considerando que é escasso na literatura dados que caracterizem a prevalência de AH na população, o objetivo deste trabalho foi detectar qualitativa e quantitativamente a presença de AH em soros de indivíduos idosos.

2 Material e Métodos

2.1 População estudada

Foram analisadas 204 amostras de soro sendo 164 de indivíduos acima de 50 anos, 110 residentes em instituições asilares (IA) e 54 idosos da comunidade (IC) que desenvolviam alguma atividade física regularmente ao participarem do projeto Provida do curso de Educação Física da UNOPAR – Universidade Norte do Paraná.

Para grupo controle foram utilizadas 40 amostras de soro de indivíduos jovens entre 19 e 30 anos. Antes da colheita de sangue para a realização dos exames laboratoriais, foram aplicados questionários que

permitiram a obtenção de informações pertinentes ao estudo e os idosos eram orientados quando ao jejum necessário para o dia da colheita de sangue, que foram previamente agendados.

Foram critérios de exclusão idosos que estivessem apresentando algum quadro clínico infeccioso ou apresentassem amostras lipêmicas. Todos os idosos que participaram do projeto ou responsáveis assinaram um termo de consentimento aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Norte do Paraná - UNOPAR, Londrina-PR.

2.2 Reação de Paul-Bunnell-Davidsohn

A detecção e quantificação dos AH foi realizada segunda a técnica de Paul-Bunnell-Davidsohn (REICHE *et al.*, 1998), que utiliza hemácias de carneiro, hemácias de boi e antígenos de rim de cobaio (Forssmann) como reagentes para detectar e diferenciar os AH presentes na amostra.

Inicialmente, todas as amostras foram inativadas a 56°C por 30 minutos e diluídas seriadamente em nove tubos com solução fisiológica. Em seguida, foi adicionado 100mL de hemácias de carneiro 2% a todos os tubos, que foram homogeneizados e incubados à temperatura ambiente por 2 horas. O décimo tubo da série foi utilizado como controle negativo, no qual só foi adicionado diluente e hemácia de carneiro 2%.

A leitura da reação foi realizada comparando-se cada tubo da série com o décimo tubo e a presença de aglutinação visível foi considerada positiva. A quantificação foi feita de acordo com a diluição seriada (1/7; 1/14; 1/28; 1/56; 1/112; 1/224; 1/448; 1/896 e 1/1792), onde o último tubo a apresentar aglutinação visível representava o resultado da reação.

Todas as amostras que apresentaram resultado superior ou igual a 1/56 foram analisadas quanto ao

tipo de AH por meio de um pré-tratamento da amostra com hemácias de boi 20% e antígeno de Forssmann 20% previamente à diluição seriada. Uma análise da quantidade de AH absorvidos por estes reagentes permite diferenciar os AH da Mononucleose Infecciosa, da Doença do Soro e do tipo Forssmann.

2.3 Análise estatística

Para a análise dos dados, os resultados foram agrupados em tabelas no programa Excel e os testes de Kruskal-Wallis e correlação de Pearson foram aplicados utilizando o programa Bioestat 5.0.

3 Resultados e Discussão

Dos 110 IA, 63 (57,3%) mulheres e 47 (42,7%) homens, 23 (20,9%) demonstraram resultado não reagente para a presença de AH, enquanto que dos 54 IC, 49 (90,7%) mulheres e 5 (9,3%) homens, 21 (38,9%) foram não reagentes. Dos 40 indivíduos jovens, 21 (51,3%) são mulheres e 19 (48,7%) são homens, 24 (60,0%) foram não reagentes (Figura 1).

Analisando os três grupos separadamente quanto ao sexo, foi observado que (17,5%) das mulheres e (25,5%) dos homens do grupo IA, (38,8%) das mulheres e (40,0%) dos homens do grupo IC e (66,7%) das mulheres e (52,6%) dos homens (JC) foram não reagentes, sendo significativas as diferenças encontradas entre os grupos de: mulheres IA e mulheres IC; mulheres IA e mulheres JC; mulheres IA e homens IA; mulheres IA e homens JC e mulheres IC e mulheres JC, $p < 0,05$ (Figura 2).

Estes dados mostram que a quantidade de indivíduos que apresentam níveis detectáveis de AH circulantes aumenta significativamente com a idade. Casos demonstrando a interferência laboratorial de AH em exames laboratoriais têm sido relatados para diferentes faixas etárias (ISMAIL *et al.*, 2002; SAYANFAR *et al.*, 2008; BONETTI *et al.*, 2008).

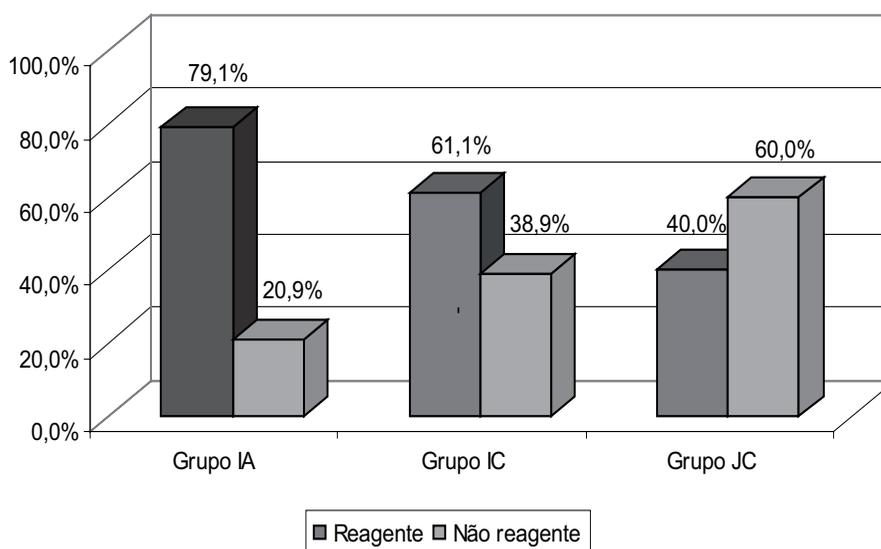


Figura 1. Positividade de anticorpos heterófilos nos grupos de idosos asilares (IA), idosos da comunidade (IC) e jovens da comunidade (JC). Os dados mostram que uma porcentagem significativamente maior de IC de ambos os sexos foram não reagentes em relação aos IA e JC, $p < 0,050$.

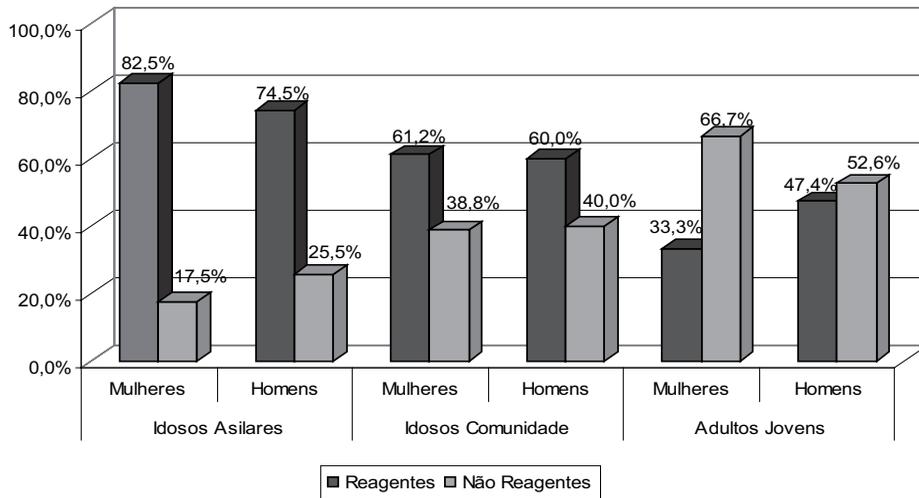


Figura 2. Positividade de anticorpos heterófilos nos grupos de idosos asilares (IA), idosos da comunidade (IC) e jovens da comunidade (JC) do sexo feminino e masculino: (17,5%) das mulheres e (25,5%) dos homens do grupo IA, (38,8%) das mulheres e (40,0%) dos homens do grupo IC e (66,7%) das mulheres e (52,6%) dos homens do grupo JC foram NR, sendo $p < 0,050$ para mulheres IA x mulheres IC; mulheres IA x mulheres JC; mulheres IA x homens IA; mulheres IA x homens JC e mulheres IC x mulheres JC.

O fato de indivíduos idosos apresentarem quantidades aumentadas deste tipo de anticorpo representa um ponto importante a ser observado em laboratórios que realizam exames diagnósticos. Além disso, foi observado que uma porcentagem significativamente maior de idosos do grupo IC (38,9%), que realizavam atividade física regularmente, foi não reagente em relação ao grupo IA (20,9%).

Alguns estudos demonstram que o exercício físico moderado está associado à melhora da resposta imunológica a vacinações em idosos, assim como diversos outros parâmetros imunológicos podem ser influenciados por esta prática (VENJATRAMAN; FERNANDES, 1997; WOODS et al., 1999; ROGERS et al., 2008).

O dado acima poderia sugerir que idosos com uma

vida mais ativa e saudável possam apresentar uma produção diminuída destes anticorpos interferentes ou que idosos sedentários ou apresentando doenças crônico-degenerativas apresentariam maior probabilidade de produzir quantidades maiores destes anticorpos. Porém, há a necessidade de estudos adicionais sobre o assunto.

Quando se analisa conjuntamente somente os indivíduos com resultado reagente, o título médio de AH para as mulheres idosas foi $21,5 \pm 19,4$ e para os homens idosos $12,9 \pm 7,4$, sendo $p < 0,05$.

Ao analisar os grupos de idosos separadamente obtêm-se os seguintes resultados: grupo IA (mulheres $21,7 \pm 19,1$ e homens $12,6 \pm 7,2$), $p < 0,05$, grupo IC (mulheres $21,2 \pm 20,3$ e homens $16,3 \pm 10,7$) e grupo JC (mulheres $21,2 \pm 20,3$ e homens $16,3 \pm 10,7$), sendo $p > 0,05$ (Figura 3).

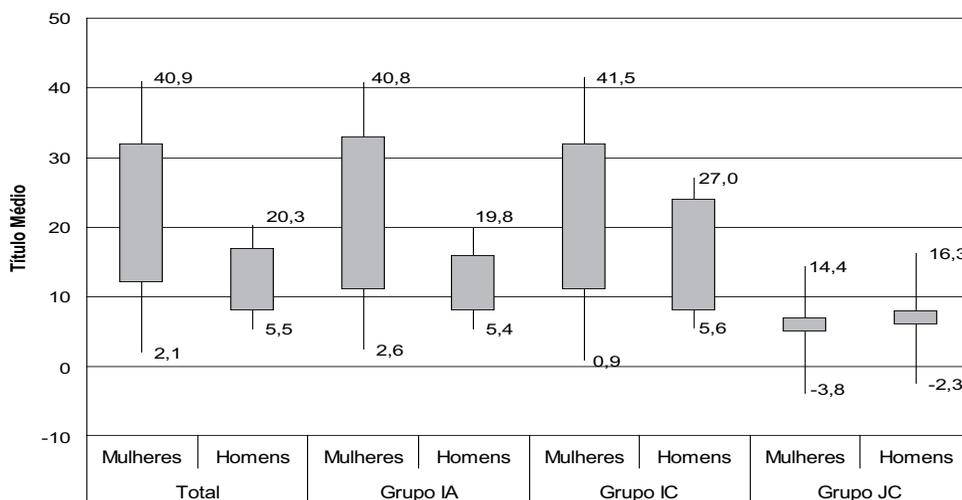


Figura 3. Título médio de anticorpos heterófilos em idosos do sexo feminino e masculino com resultados reagentes, analisando-se os dois grupos IA e IC em conjunto e separadamente. Na análise conjunta, o título médio de AH para as mulheres foi $21,5 \pm 19,4$ e para os homens $12,9 \pm 7,4$, sendo $p < 0,050$. Na análise em separado, os resultados foram: grupo IA (mulheres $21,7 \pm 19,1$ e homens $12,6 \pm 7,2$) e grupo IC (mulheres $21,2 \pm 20,3$ e homens $16,3 \pm 10,7$), sendo $p > 0,050$ entre as mulheres e homens dos dois grupos.

Seis (11,5%) mulheres do grupo - IA e 2 (6,7%) do grupo IC apresentaram título \geq 1/56, enquanto que nenhum dos homens de ambos os grupos e nenhum indivíduo do grupo JC demonstrou títulos maiores que 1/28 (tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de mulheres com título de AH maior ou igual a 1/56 nos grupos IA e IC. Nenhum homem de ambos os grupos assim como nenhum indivíduo do grupo JC apresentou título superior a 1/28.

Título AH	Mulheres	
	Grupo IA	Grupo IC
\geq 1/56	6 (11,5%)	2 (6,7%)
< 1/56	46 (88,5%)	28 (93,3%)

A análise dos resultados dos indivíduos reagentes mostrou que as idosas apresentaram título de AH significativamente mais elevados que os homens em ambos os grupos IA e IC e que, além disto, as idosas também podem expressar títulos elevados com mais frequência.

A análise geral das médias de todos os indivíduos pelo teste de Kruskal-Wallis demonstrou que existe diferença significativa entre os grupos de mulheres IA, mulheres IC e mulheres jovens e entre as mulheres e homens idosos.

Contudo, não houve diferença significativa entre as médias de mulheres (5,33 \pm 9,10) e homens jovens (7,0 \pm 9,33). Este dado demonstra que na população jovem, o gênero não influencia em maior ou menor produção de AH.

Porém, com a idade, as mulheres tendem a apresentar maiores chances de produzir autoanticorpos e anticorpos interferentes do tipo AH (BOREN; GERSHWIN, 2004; ROSATO; SALSANO, 2008).

Com este estudo foi possível concluir que uma quantidade significativamente maior de idosos residentes em asilos ou da comunidade, de ambos os sexos, apresentam quantidades elevadas de AH circulantes em relação aos indivíduos jovens.

Além disto, dentre os idosos com resultados reagentes, as mulheres demonstraram títulos expressivamente mais elevados que os homens em ambos os grupos de idosos, o que não se observa no grupo controle de indivíduos jovens.

Agradecimentos

Agradecemos aos docentes do Estágio Supervisionado em Análises Clínicas e do projeto Provida do curso de Educação Física e aos técnicos do LAC – Laboratório de Análises Clínicas da UNOPAR pela atenção e colaboração prestadas. Agradecemos também a todos os alunos e idosos que se envolveram no projeto tornando possível sua realização.

Referências

- BONETTI, A. et al. Interference by heterophilic antibodies in immunoassays: wrong increase of myoglobin values. *Acta Biomed*, v. 79, p. 140-143, 2008.
- BOREN, E.; GERSHWIN M. E. Inflamm-aging: autoimmunity, and the immune-risk phenotype. *Autoimmun Rev*, v. 3, n. 5, p. 401-406, 2004.
- BOSCATO, L. M.; STUART, M. C. Incidence and specificity of interference in two-site immunoassays. *Clin Chem*, v. 32, p.1491-1495, 1986.
- CALLEJO, F. J. G. et al. The nonserological diagnostic approach to infectious mononucleosis in an emergency service. *Acta Otorrinolaringol Esp*, v. 50, n. 6, p.467-472, 1999.
- CHAN, A. O. K. et al. A patient with an increased troponin level without evidence of ischaemic cardiac injury. *Hong Kong Med J*, v. 10, p. 277-279, 2004.
- DESPRESS, N.; GRANT, A. M. Antibody interference in thyroid assays: a potencial for clinical misinformation. *Clin Chem*, v. 44, p. 440-454, 1998.
- HAWKINS, B. R. et al. Population study of heterophile antibodies. *Vox Sang*, v. 39, n. 6, p.339-342, 1980.
- ISMAIL, A.A.A. et al. Wrong biochemistry results: two case reports and observational study in 5310 patients on potentially misleading thyroid-stimulation hormone and gonadotropin immunoassay results. *Clinical Chemistry*, v. 48, p. 2023-2029, 2002.
- LEVINSSON, S. S. Antibody multispecificity in immunoassay interference. *Clin Biochem*, v. 25, p. 77-87, 1992.
- RAMOS, H. E. et al. Interferência de anticorpos em teste de função tireoidiana: relato de caso. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 45, n. 2, p. 199-201, 2001.
- REICHE, E. M.V. et al. *Manual de exames. Procedimentos técnicos e interpretação Laboratorial*. Londrina: EDUEL, 1998.
- ROGERS, C. J. et al. Exercise enhances vaccine-induced antigen-specific T cell responses. *Vaccine*, v. 26, n. 42, p. 5407-5415, 2008.
- ROSATO, E.; SALSANO, F. Immunity, autoimmunity and autoimmune diseases in older people. *J Biol Regul Homeost Agents*, v. 22, n. 4, p.217-224, 2008.
- SHAYANFAR, N. et al. False-positive cardiac troponin T due to assay interference with heterophilic antibodies. *Swiss Med Wkly*, v. 138, p. 470, 2008.
- VENJATRAMAN, J. T.; FERNANDES, G. Exercise, immunity and aging. *Aging (Milano)*, v. 9, p.42-56, 1997.
- WOODS, J. A. et al. Effects of 6 months of moderate aerobic exercise training on immune function in the elderly. *Mech Ageing Dev*, v. 109, p.1-19, 1999.

Samuel Guemra

Graduado em Farmácia - Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).
Área de atuação - Embriologia - Laboratório de Fertilização in vitro
da UNOPAR.

e-mail: <samuel.guemra-farm@hotmail.com>

Beatriz Schlatter Hasenack

Mestrado em Microbiologia pela Universidade Estadual de Londrina
(UEL).

e-mail: <hasenack@onda.com.br>

Éryka Helena Trapp e Pinheiro

Especialista em Ciência da Saúde. Docente da Universidade Norte
do Paraná (UNOPAR).

e-mail: <trapp@sercomtel.com.br>

Audrey de Souza Márquez*

Doutorado em Microbiologia pela Universidade Estadual de Londrina
(UEL). Docente do curso de Farmácia da Universidade Norte do
Paraná (UNOPAR).

e-mail: <audreymarquez@labcetel.com.br>

* Endereço para correspondência:

Rua Heloísa Helena Muniz da Silva, 102. Condomínio Vale do
Arvoredo. CEP. 86047-585 – Londrina, Paraná, Brasil.
