



Protocolo para quantificação de TRECs para triagem neonatal de linfopenias T

Responsável: Dr. Antonio Condino Neto

As imunodeficiências graves combinadas (*SCID*) constituem um grupo de imunodeficiências primárias (IDP) compreendido por 14 condições genéticas independentes, que compartilham o fenótipo clínico de profunda deficiência nas funções imunes celular e humoral. A característica marcante das *SCID* é a ausência completa ou o número muito baixo de linfócitos T maduros. Características adicionais ocorrem devido à presença ou ausência de linfócitos B e células *natural killer*, padrão de herança, e o defeito genético-molecular. Além das *SCID*, também é possível a triagem de outras IDP que apresentam linfopenias T como a Síndrome de Di George. A *SCID* é considerada uma emergência pediátrica, pois quase 100% das crianças morre antes de um ano de idade se não tratadas.

Aproveitando a coleta rotineira de sangue para que a triagem neonatal seja realizada, é possível mensurar a presença ou ausência de linfócitos T através da quantificação do número de círculos excisados de células T (do inglês: TRECs – *T Cell Receptor Excision Circles*), que são marcadores do desenvolvimento normal deste tipo celular. Amostras de sangue com baixo número ou níveis indetectáveis de TRECs são características da *SCID* e de todas as outras condições em que a produção e/ou sobrevivência das células T está profundamente prejudicada

COLETA:

O sangue deve ser coletado em cartão de coleta neonatal (se)melhante ao do “Teste do Pezinho”, segundo instruções abaixo:

- Colocar luva de procedimento SEMPRE;
- Realizar uma punção vigorosa (para evitar repetição) no calcâneo do bebê, com lanceta estéril descartável. Na falta da lanceta, utilizar com cautela agulha 25x8mm descartável;
- Não espremer o calcanhar do bebê devido ao perigo de hemólise e extravasamento de líquido intersticial, tanto na amostra coletada como no tecido subcutâneo, provocando edema, hematoma ou equimose;
- Aguardar a formação de gota espessa de sangue e encostar o verso do primeiro círculo do papel de filtro na gota de sangue formada. Deixar o sangue fluir naturalmente, evitando a “ordenha”, que libera plasma do tecido, diluindo a amostra colhida. Preencher todos os círculos com sangue.
- Não deixar coagular o sangue, no pezinho ou no papel de filtro, durante a coleta. A camada de sangue deve ser fina e homogênea, sem excesso ou falta de sangue, que provocam manchas claras ou escuras no papel de filtro e alteram o resultado do exame. **Nunca usar frente e verso do papel para preencher o círculo.** Esperar o sangue atravessar o papel até preencher os dois lados do círculo.

Caso seja necessário fazer a coleta através de punção venosa:

Utilizar heparina (tubo a vácuo de tampa verde) como anticoagulante. Utilizar então, um pipetador automático para aliquotar o sangue no papel filtro (aproximadamente 70uL de sangue para cada círculo) ou um capilar de vidro. Lembrando que, do mesmo modo, deve-se preencher o círculo do papel filtro de somente um lado. **Nunca usar frente e verso do papel para preencher o círculo.**

ARMAZENAMENTO DA AMOSTRA:

- Deixar secar as amostras de sangue colhidas em temperatura ambiente, durante 1 a 3 horas, na posição horizontal;
- Depois de seco, empilhar os papéis de filtro alternadamente, de modo que as amostras não fiquem em contato direto umas com as outras;
- Embalar com papel alumínio, colocar num saco plástico e armazenar num recipiente fechado (caixa de isopor ou marmita de metal) em freezer (-20°C) ou geladeira (4°C).

Para mais informações, por favor entrar em contato com Marília Kanegae através do e-mail: mppkanegae@yahoo.com

