

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE BIOMEDICINA
ESTÁGIO DE PESQUISA E TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM BIOMEDICINA

Estudo retrospectivo analisando TRALI e pesquisa de métodos de detecção dos anticorpos anti-neutrófilos

MICHELLE LERSCH / 00180144

Julho/2012

Orientador: TOR GUNNAR HUNO ONSTEN

ÍNDICE

1. Abreviaturas	3
2. Resumo	4
3. Introdução expandida	5
4. Artigo	
a. Introdução resumida	13
b. Objetivo	16
c. Metodologia	16
d. Resultados	18
e. Discussão	23
f. Referências	25
5. Conclusão e perspectivas	27
6. Anexos	28

1. ABREVIATURAS

Ac - Anticorpos

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CID – Classificação internacional de doenças

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HLA – Anticorpos anti-leucócitos

HNA – Anticorpos anti-neutrófilos

IRANC – Insuficiência respiratória aguda não cardiogênica

NOTIVISA – Sistema Nacional de Notificação em Vigilância Sanitária

N. Transf. – Não transfundi

SUS – Sistema único de saúde

TRALI – Insuficiência respiratória aguda relacionada à transfusão

Transf. – Transfundi

UTI – Unidade de Tratamento Intensivo

UTI-Ad – Unidade de Tratamento Intensivo de adultos, incluindo as UTIs 1,2,3 e cardíaca do HCPA

UTI-Ped - Unidade de Tratamento Intensivo de crianças, incluindo UTIs pediátrica e neonatal do HCPA

2. RESUMO

A insuficiência respiratória aguda não cardiogênica relacionada à transfusão (TRALI) é a causa mais comum de morte após transfusão sanguínea e ela é subdiagnosticada e subnotificada em todo o mundo. A causa mais comum é a transfusão de anticorpos anti-neutrófilos do doador para o receptor, o que leva a uma lesão do endotélio pulmonar, cujo órgão se encontra previamente estressado. Tais dados se repetem em nossos hospitais. Através de um estudo retrospectivo de 2006 a 2011, foi avaliado o histórico transfusional dos pacientes diagnosticados com insuficiência respiratória aguda de causa não cardiogênica das UTIs do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A mortalidade encontrada foi alta, chegando a 95,8% nas UTIs, sendo que os únicos sobreviventes foram crianças. Dentre os 96 pacientes analisados, 22 são casos suspeitos de TRALI por terem transfundido em menos de 24 horas em relação ao diagnóstico. O hemocomponente que mais foi transfundido nesses casos foi concentrado de plaquetas. A média de transfusão nas UTIs do HCPA é de 5 a 6 mil por ano, portando, a incidência da TRALI foi dentro do esperado segundo a literatura, aparecendo 1 caso a cada 1600 transfusões. Em relação aos métodos de detecção dos HNA e HLA, o mais aplicável ao Banco de Sangue do HCPA é a combinação do Granulocyte Immunofluorescence or Flow Cytometry (GIFT) com o Granulocyte Agglutination Test (GAT). É notável a necessidade de mais estudos perante essa cruel realidade. Mais importante do que novas formas de tratamento, são formas de detecção dos anticorpos causadores desta patologia, visando a prevenção da mesma.

3. INTRODUÇÃO EXPANDIDA

A transfusão sanguínea é um procedimento que pode salvar muitas vidas, e por isso deve ser feita com todo cuidado e procurando o maior nível de segurança possível. Em geral, os pacientes que recebem sangue apresentam quadro grave de saúde. Portanto, é muito comum ocorrerem complicações após a transfusão, sendo estas ocasionadas ou não pelo próprio procedimento hemoterápico. Porém muitas destas complicações podem, ou poderiam, ser evitadas, e é por este motivo que existe uma bateria de testes pelo qual o sangue doado deve passar até chegar ao paciente. No entanto, existem patologias associadas à transfusão sanguínea que não estão completamente compreendidas ou que ainda não possuem testes de triagem específicos, tornando complicada sua prevenção.

Visando ampliar os conhecimentos da relação entre transfusão sanguínea e morbidade e mortalidade, inúmeros trabalhos sobre hemovigilância têm sido realizados pelo mundo todo. Além disso, estes estudos visam diminuir o uso de sangue e seus componentes em casos desnecessários [1]. Esses esforços têm contribuído consideravelmente para melhorar a qualidade e segurança das transfusões [2].

Desde a introdução da hemovigilância na década de 90, muitos países europeus estabeleceram um sistema de hemovigilância nacional. Por consequência, tem se aumentado consideravelmente a qualidade e a segurança da cadeia transfusional [2].

No Brasil, a hemovigilância, que vem sendo realizada desde 2000, está inserida nas ações de Vigilância em Saúde desenvolvidas no país e representa uma das áreas estratégicas de atuação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [3] e do Ministério da Saúde. A incorporação das ações de hemovigilância no Sistema Único de Saúde (SUS) traduz-se como um processo importante dentro da qualificação da medicina transfusional. Dessa forma, o objetivo maior da hemovigilância é o direcionamento de ações que ampliem e aprimorem a segurança nas transfusões sanguíneas, com particular ênfase nos incidentes transfusionais [3].

Visando unificar as informações para melhor estudá-las, esses sistemas de hemovigilância reúnem detalhes sobre todas as reações transfusionais ocorridas. Qualquer tipo de incidente que ocorrer o qual possa ter relação com as transfusões, deve ser relatado através de um questionário padronizado e anônimo, que inclui itens para identificar o tipo de componente de sangue envolvido, classificar o incidente de acordo com as possíveis causas e fornecer informações sobre o desfecho do paciente, além de avaliar a relação do incidente com a transfusão [4]. A partir destas informações essenciais é possível investigar as causas das reações transfusionais, para assim desenvolver métodos de detecção dos hemocomponentes que podem causá-lo, para enfim tentar diminuir o número destes incidentes.

No Brasil, este relatório de coleta de dados é a “Ficha de Notificação de Reações Transfusionais”, padronizada em nível nacional, realizado pela NOTIVISA - Sistema Nacional de Notificação em Vigilância Sanitária. A correta coleta e armazenamento destes dados são importantes para a análise do padrão de ocorrência das reações transfusionais e, conseqüentemente, para a elaboração de medidas preventivas e corretivas e seu posterior monitoramento [3].

As reações transfusionais que podem ocorrer são inúmeras. Elas podem ser classificadas como aguda - ocorrendo em até 24 horas após a transfusão - ou tardias - excedendo as primeiras 24 horas [3, 5].

Das reações agudas, as mais comuns são: hemolítica imunológica, hemolítica aguda não imune, febril não hemolítica, alérgica, anafilática, sobrecarga volêmica, contaminação bacteriana, insuficiência pulmonar aguda não cardiogênica, hipotensão. Dentre as tardias, as que se destacam são: hemolítica tardia, hepatite B e C, HIV, sífilis, malária, HTLV I e II, doença do enxerto contra o hospedeiro, surgimento de anticorpos irregulares/isoimunização [3] (tabela 1).

REAÇÕES IMEDIATAS	REAÇÕES TARDIAS
Hemolítica Aguda Imunológica	Hemolítica Tardia
Febril Não Hemolítica	Hepatite B
Alérgica	Hepatite C
Anafilática	HIV
Sobrecarga Volêmica	Doença de Chagas
Contaminação Bacteriana	Sífilis
TRALI	Malária
Hipotensiva	HTLV I /II
Hemolítica Aguda Não Imune	Doença do enxerto contra o Hospedeiro
<i>Adaptado de [3]</i>	Isoimunização (Anticorpos Irregulares)

Tabela 1: lista de reações transfusionais imediatas e tardias

Entre as reações agudas, a mais fatal é a insuficiência respiratória aguda relacionada à transfusão (do inglês *Transfusional-related acute lung injury*, ou TRALI). Esta é a causa mais comum de morte relacionada à transfusão em todo o mundo [6-7], apesar de ainda ser subdiagnosticada e subnotificada [7].

TRALI é uma lesão pulmonar aguda que se inicia durante, ou em até 6 horas após o término da transfusão de um hemocomponente. É uma síndrome clínica que apresenta hipoxemia aguda, com edema pulmonar bilateral e ausência de hipertensão atrial esquerda (não cardiogênica). Nesta patologia é muito importante descartar outras formas de lesões pulmonares prévias e problemas cardíacos [3, 7-9], pois estes por si só poderiam causar insuficiência respiratória com sintomas semelhantes.

Esta reação aguda pode ocorrer com apenas uma unidade transfundida, porém após múltiplas transfusões os riscos são mais altos [7].

Como não existem testes diagnósticos nem sinais patognomônicos da TRALI, sua identificação é essencialmente clínica e passa por um processo de exclusão de outros diagnósticos[3, 6].

Os sinais mais comumente apresentados são taquipnéia, cianose, hipoxemia (saturação de oxigênio <90%), hipotensão, edema pulmonar e queda na função pulmonar apesar de funcionamento normal do coração. Infiltrado difuso consistente pode ser visto através de uma radiografia [3, 6-7, 9]. Segundo Ozier et al., em mais de 75% dos casos de TRALI ou possíveis TRALI o primeiro sintoma foi dispnéia e dessaturação do oxigênio, sendo que estes sinais ocorreram em uma hora de transfusão em mais da metade dos casos. Mais de 65% dos casos apresentou elevação da temperatura e mais de 55% hipotensão no estudo feito por Ozier et al.[9].

Ainda podem ocorrer febre e tremores. Como consequência mais grave pode ocorrer a insuficiência respiratória severa [3], levando inclusive à morte em mais de 5% dos casos [7].

Existem duas hipóteses associadas à ocorrência da TRALI, sendo que em ambas podem-se distinguir duas etapas:

- 1º: neutrófilos são sequestrados nos capilares pulmonares. Isso ocorre devido a um estresse no pulmão, que pode ser decorrente de diversos fatores, como cirurgia, sepse, etc. [3, 6-7]
- 2º: lesão da integridade endotelial [3] com conseqüente aumento da permeabilidade microvascular no pulmão com extravasamento, especialmente dos neutrófilos neste tecido [3, 7]. Além da destruição alveolar, fluido rico em proteína se acumula nos espaços alveolares [4]

Para a segunda etapa, existem duas hipóteses de causas associadas: anticorpos anti-leucócitos (HLA) / anti-neutrófilos (HNA) [6-7] ou substâncias ativas biologicamente como lipídios e citocinas capazes de ativar os neutrófilos [7, 9] (Figura 1).

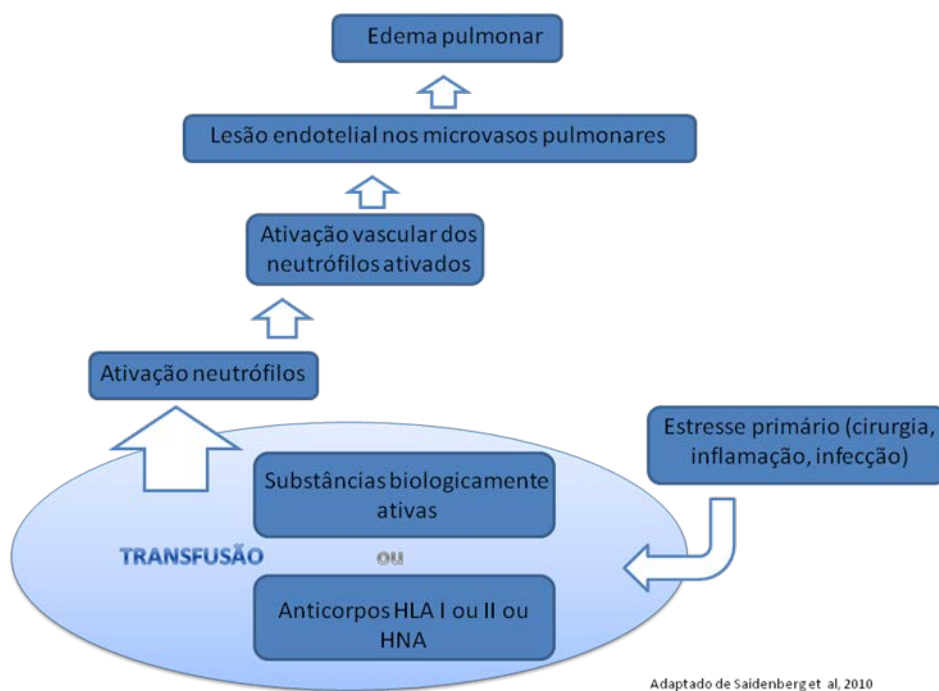


Figura 1: Esquema sobre a fisiopatologia da TRALI citando suas possíveis causas

A primeira hipótese é a chamada de imuno-mediada. Para que esta hipótese ocorra é necessário que o receptor expresse nos seus granulócitos o antígeno para o anticorpo produzido pelo doador [6]. Após ocorrer a junção do antígeno (expresso pelo receptor) e anticorpo (transfundido), o complemento vai ser ativado, o que reativa os neutrófilos sequestrados no pulmão, resultando em liberação de agentes citotóxicos levando ao dano endotelial, extravasamento do capilar e insuficiência respiratória [6](Figura 2).

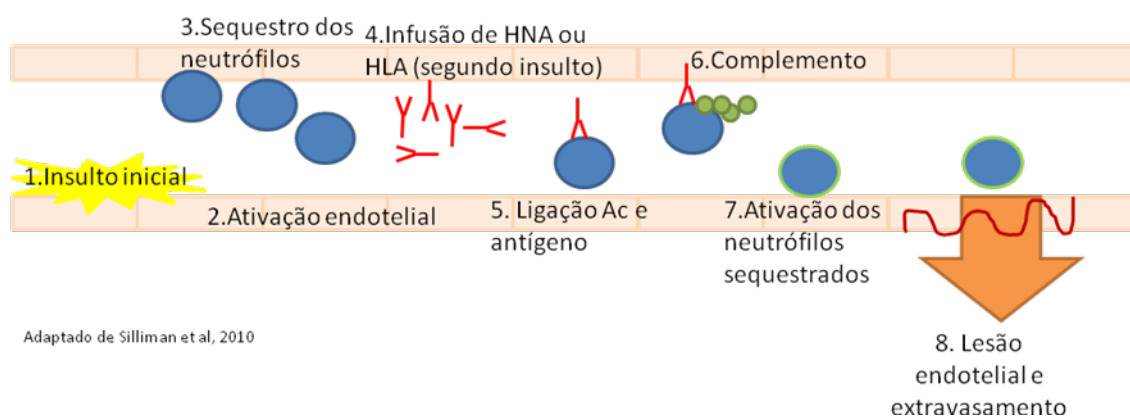


Figura 2: Esquema detalhado sobre ação dos anticorpos na patologia

Esses anticorpos são transfundidos no paciente, sendo que a maior frequência deles está em hemocomponentes doados por mulheres multíparas [7-9]. A maior quantidade de anticorpos é transfundida no plasma fresco congelado [3, 6-7, 9] e derivado de concentrado de plaquetas [6], mas também pode aparecer em outros hemocomponentes, até mesmo naqueles em que a quantidade de plasma é pequena [7].

A segunda hipótese é menos estudada e possui uma detecção mais complexa. Essas substâncias que podem levar à lesão endotelial pulmonar pela ativação dos neutrófilos podem, inclusive, ser geradas na bolsa de transfusão após a doação, quando estiver armazenada, isso decorrente de estresse oxidativo e morte celular. Portanto, o correto armazenamento das bolsas de sangue é essencial.

De acordo com o estudo realizado por Silliman et al., algumas análises recentes de casos de TRALI concluíram que casos mediados por anticorpo podem apresentar sintomas mais severos quando comparados com os casos de reação secundária a lipídios [6].

A prevenção da TRALI é difícil e a maioria dos esforços neste sentido peca por baixa sensibilidade ou especificidade. Consequentemente, não existe consenso sobre as medidas a serem tomadas. Entretanto, algumas medidas têm sido sugeridas na literatura médica transfusional e são indicadas pela ANVISA, como por exemplo:

- Exclusão de doadores cujo sangue tenha estado envolvido em casos de TRALI, ou pelo menos não utilização de seu plasma;
- Evitar o uso do plasma de doadoras do sexo feminino;
- No caso de doadoras multíparas, não utilizar seu plasma, ou submeter seu sangue à pesquisa de HLA e HNA antes de sua utilização [3]

Uma medida já adotada por muitos centros de transfusão é a restrição do uso de plasma de doadores femininos, utilizando apenas o plasma de doadores homens [4]. Estudos comprovam que se o plasma utilizado for obtido apenas de doadores homens, os casos de TRALI podem diminuir em até 30% [5]. Esta diminuição já foi comprovada em bancos de sangue como no Reino Unido e na Holanda [9].

Muitos estudos vêm sendo feitos para aprimorar a técnica de detecção das substâncias que causam esta patologia, sendo que a maioria detém-se na hipótese imuno-mediada [9].

Apesar de a indústria estar bastante desenvolvida em relação à descoberta e produção de reagentes e kits de detecção de diversas moléculas, a detecção de anticorpos HLA e HNA não se encontra em posição tão avançada e continua evoluindo a cada dia.

Levando em conta a dificuldade de detecção e de diagnóstico, a real incidência da TRALI não é conhecida. As estatísticas mencionam taxas variando de 1/1300 a 1/5000 casos por transfusões. Porém, existe possibilidade desta relação ser ainda maior, pois esta patologia certamente é subdiagnosticada devido à dificuldade de sua identificação [3, 8].

O subdiagnóstico deve-se, principalmente, ao fato de os profissionais envolvidos no pós-transfusional geralmente não serem treinados para identificar e associar certos sinais clínicos à transfusão. Neste caso, a causa da morte muitas vezes é dada como insuficiência respiratória não cardiogênica, ou seja, sem causa definida. Porém, se fossem cruzados dados com os centros de transfusão, poderia ser diagnosticada a TRALI.

O corrente decreto de hemovigilância declara que “qualquer pessoa, médico, farmacêutico, cirurgião dentista, enfermeiro que observa efeitos inesperados ou indesejáveis devido à transfusão de componentes do sangue, deve informar imediatamente” [4], porém a maior parte destes profissionais não foi treinada para reconhecer esta patologia. Portanto, a classificação da doença acaba sendo generalizada.

Nem a Classificação Internacional de Doenças (CID), que é usada no mundo todo, possui uma classificação específica para esta doença, confirmando a dificuldade neste campo [20]. Existe classificação para alguns tipos de insuficiência respiratória, mas nenhuma relacionada à transfusão.

Além da patologia não ser corretamente diagnosticada, muitas vezes também sua notificação não é feita da forma correta. Somado ao fato de que a CID não possui uma classificação para a TRALI, os dados dos centros de transfusão geralmente não são relacionados com os dados dos hospitais. Logo, os dados podem indicar falsos negativos, mascarando casos e não incentivando estudos mais aprofundados [7].

Analisando dados da ANVISA, é possível visualizar esta dificuldade em notificar e diagnosticar a TRALI, pois segundo divulgação deste órgão no ano de 2002 não foi registrado nenhum caso desta patologia (anexo 1). Considerando que foram transfundidos mais de 1.500.000 unidades em todo o país [21], é estatisticamente improvável que nenhum caso tenha ocorrido. O mesmo se repete em relação aos demais anos.

Apesar da dificuldade em diagnosticar e notificar, alguns países têm recentemente reportado suas experiências, o que é muito válido, mesmo levando em conta as diferenças de uso de hemocomponentes, avaliação do produto, diagnóstico de TRALI e hemovigilância que estes mesmos possuem [7].

Segundo Silliman et al. e dados da ANVISA, ocorrem em torno de 1/1300 a 1/5000 casos de TRALI por unidades transfundidas na América do Norte [3, 6], sendo que a mortalidade é de 5-35% [6-7].

Dos pacientes acometidos, aproximadamente 80% dos pacientes com TRALI apresentam melhora clínica em 48 a 96 horas [7], desde que o suporte respiratório seja agressivo e prontamente instituído. A melhora, verificada através de exame radiológico, também é observada neste mesmo prazo [3]. Pacientes em UTI merecem mais atenção, pois têm apresentado índices de mortalidade de 8%, e ainda maior risco de desenvolver TRALI [6].

Tais dados demonstram quão perigosa é essa patologia e que ela deve receber mais atenção nos próximos anos, procurando melhores tratamentos e, principalmente, formas de detecção para evitar que novos casos ocorram ou, pelo menos, que as estatísticas não sejam tão cruéis.

4. ARTIGO

Estudo retrospectivo analisando TRALI e pesquisa de métodos de detecção dos anticorpos anti-neutrófilos

Michelle Lersch ¹, Tor Gunnar Huno Onsten ²

¹Graduanda Biomedicina Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, Brasil

² Professor orientador. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, Brasil; Chefe Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre/RS, Brasil

4. A. INTRODUÇÃO

A transfusão sanguínea é um procedimento que pode salvar muitas vidas, porém traz consigo muitos riscos. Visando ampliar os conhecimentos da relação aos procedimentos hemoterápicos com morbidade e mortalidade, inúmeros trabalhos sobre hemovigilância têm sido realizados pelo mundo todo [1]. Esses esforços têm contribuído consideravelmente para melhorar a qualidade e segurança das transfusões [2].

No Brasil, a Hemovigilância vem sendo realizada desde 2000 e está inserida nas ações de Vigilância em Saúde. Tem como objetivo maior o direcionamento de ações que ampliem e aprimorem a segurança nas transfusões sanguíneas, com particular ênfase nos incidentes transfusionais [3].

Muitas reações transfusionais podem ocorrer, as quais podem ser classificadas como aguda - ocorrendo em até 24 horas após a transfusão - ou tardia - excedendo as primeiras 24 horas [3, 5] (tabela1).

Dentre estas reações, a Insuficiência Respiratória Aguda Relacionada à Transfusão (do inglês *Transfusional-related acute lung injury*, ou TRALI) é a reação mais fatal e a causa mais comum de morte relacionada à transfusão em todo o mundo [6-7], apesar de ainda ser subdiagnosticada e subnotificada [7].

É uma lesão pulmonar aguda que se inicia durante, ou em até 6 horas após o término da transfusão de um ou múltiplos hemocomponentes [7]. Apresenta

hipoxemia aguda, com edema pulmonar bilateral e ausência de hipertensão atrial esquerda [3, 7]- [8] [9].

REAÇÕES IMEDIATAS	REAÇÕES TARDIAS
Hemolítica Aguda Imunológica	Hemolítica Tardia
Febril Não Hemolítica	Hepatite B
Alérgica	Hepatite C
Anafilática	HIV
Sobrecarga Volêmica	Doença de Chagas
Contaminação Bacteriana	Sífilis
TRALI	Malária
Hipotensiva	HTLV I /II
Hemolítica Aguda Não Imune	Doença do enxerto contra o Hospedeiro
<i>Adaptado de [3]</i>	Isoimunização (Anticorpos Irregulares)

Tabela 1: lista de reações transfusionais imediatas e tardias

A TRALI pode ser caracterizada pela ocorrência de duas etapas: primeiro, os neutrófilos são sequestrados nos capilares pulmonares [3, 6-7] e após, ocorre lesão da integridade endotelial [3] com consequente aumento da permeabilidade microvascular no pulmão com extravasamento, especialmente dos neutrófilos neste tecido [3, 7][4].

Existem duas substâncias que podem levar à lesão endotelial: anticorpos anti-leucócitos (HLA) e/ou anti-neutrófilos (HNA) (hipótese imuno-mediada) [6-7] ou substâncias ativas biologicamente como lipídios e citocinas capazes de ativar os neutrófilos [7, 9] (Figura 1). Ambos podem ser recebidos através de transfusão.

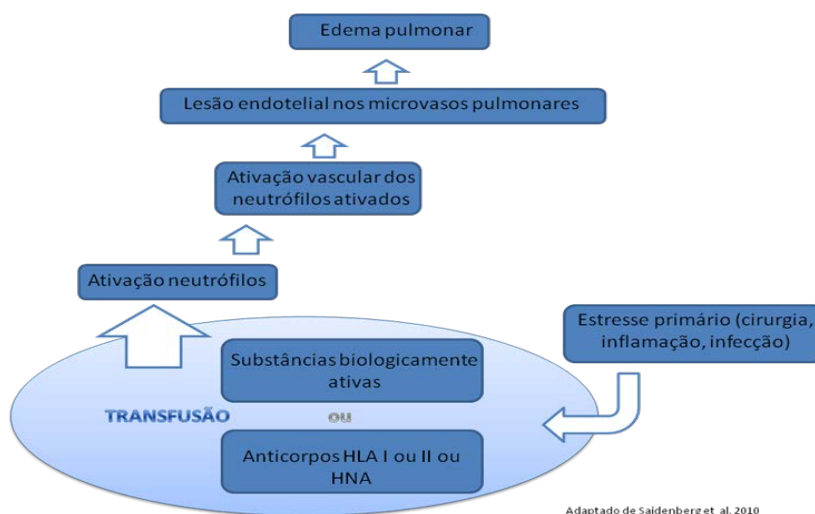


Figura 1: Esquema das etapas da TRALI com as duas hipóteses que podem gerar lesão endotelial [10]

Os anticorpos que são transfundidos no paciente têm maior frequência nos hemocomponentes doados por mulheres multíparas [7, 9]. A maior quantidade de anticorpos é transfundida no plasma fresco congelado [3, 6-7, 9] e derivado de concentrado de plaquetas [6], mas também pode aparecer em outros hemocomponentes, mesmo com quantidade de plasma pequena [7].

Focados nesta hipótese imuno-mediada, muitos centros de transfusão já restringiram o uso de plasma de doadores femininos, utilizando apenas o plasma de doadores homens [8], diminuindo em até 30% os casos de TRALI [5].

Estudos vêm sendo realizados para aprimorar as técnicas de detecção destes anticorpos [9], porém a indústria ainda não conseguiu confeccionar kits de detecção para HNA e HLA.

Portanto, a real incidência da TRALI não é conhecida. As estatísticas mencionam taxas variando de 1/1300 a 1/5000 casos por transfusões, porém levando em conta o subdiagnóstico e subnotificação, as taxas devem ser ainda maiores [3, 8]. A mortalidade é de 5-35% [6-7].

O subdiagnóstico deve-se principalmente ao fato de os profissionais envolvidos no pós-transfusional geralmente não serem treinados para identificar e associar certos sinais clínicos à transfusão. Desta forma, a causa da morte muitas vezes é dada como insuficiência respiratória não cardiogênica.

Além da patologia não ser corretamente diagnosticada, muitas vezes também sua notificação não é feita da forma correta. Somado ao fato de que a CID não possui uma classificação para a TRALI, os dados dos centros de transfusão geralmente não são relacionados com os dados dos hospitais. Logo, os dados podem indicar falsos negativos, mascarando casos e não incentivando estudos mais aprofundados [7].

Esses dados são assustadores e sugerem que a TRALI deve receber mais atenção, procurando melhores tratamentos e principalmente, formas de detecção para evitar que novos casos ocorram ou pelo menos, que as estatísticas não sejam tão cruéis.

4. B. OBJETIVOS

Dados semelhantes referentes a subdiagnóstico e subnotificação parecem se repetir no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no Rio Grande do Sul. Portanto, este trabalho propôs-se a buscar a história transfusional de pacientes previamente diagnosticados com insuficiência respiratória aguda não cardiogênica da Unidade de Tratamento Intensivo (UTI) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Através deste estudo retrospectivo, procurou-se estabelecer relação entre esses dados buscando possíveis casos de TRALI subdiagnosticados e subnotificados, objetivando corrigir os falsos negativos relatados pelo hospital.

Paralelamente, buscaram-se técnicas de detecção dos HNA que poderiam se adaptar à rotina do Banco de Sangue do HCPA, focando na prevenção desta patologia fatal.

4. C. MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de dados dos pacientes e histórico transfusional

Inicialmente foi feita a seleção de pacientes com diagnóstico de insuficiência respiratória não-cardiogênica das Unidades de Tratamento Intensivo (UTI) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), tanto as do 13° andar (1, 2, adulto e cardíaca) quanto as da unidade pediátrica e neonatal dos anos de 2006 a 2011. Os CIDs utilizados para selecionar estes pacientes foram: J96.0, J96.9, J81, J80 (tabela 2)[10].

Estes pacientes foram separados em dois grandes grupos de acordo com a UTI na qual internaram: UTI-Pediátrica (incluindo pacientes da UTI-Neonatal) e UTI-Adulto (demais UTIs do HCPA).

Código	Doença
J80	Síndrome do Desconforto Respiratório do Adulto
J81	Edema Pulmonar, Não Especificado de outra forma
J96.0	Insuficiência Respiratória Aguda
J96.9	Insuficiência Respiratória Não Especificada

Tabela 2: CIDs utilizados para classificar TRALI [10]

Após, foi feita uma avaliação retrospectiva do histórico transfusional destes pacientes, coletando dados das transfusões realizadas (caso estas tenham ocorrido), como datas, hemocomponentes, quantidade de bolsas. Em relação aos doadores das relativas bolsas, foi avaliado o tipo sanguíneo, fator Rh, sexo e idade.

A partir destes dados foi possível comparar as datas de diagnóstico dos CIDs com as transfusões.

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o teste do qui-quadrado e o programa SPSS.

Métodos de detecção dos Anticorpos

Foi realizada uma breve revisão sobre os anticorpos anti-neutrófilos, com foco nos métodos de detecção com pesquisas nos bancos de dados disponibilizados na internet (Pubmed, Medline e Capes).

4. D. RESULTADOS

Possíveis casos de TRALI

Entre 2006 e 2011 foram diagnosticados 120 casos de insuficiência respiratória aguda não cardiogênica (IRANC) de causa inespecífica nas UTIs do HCPA.

Na UTI-Pediátrica ocorreram 32 casos de insuficiência respiratória durante os 6 anos estudados. Destas, 23 realizaram transfusão anteriormente, sendo que 7 transfundiram em período menor que 24 horas, sugerindo possível ocorrência de TRALI. Dos 9 pacientes que não transfundiram, 4 sobreviveram. Dos que transfundiram, nenhum sobreviveu (Tabela 3).

UTI-Ped	2006		2007		2008		2009		2010		2011		Período	
	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito
N.Transf	2	1	0	0	2	2	1	0	1	0	3	2	9	5
Transf	5	5	2	2	6	6	1	1	6	6	3	3	23	23
<24hs	1	1	1	1	3	3	0	0	1	1	1	1	7	7
>24hs	4	4	1	1	3	3	1	1	5	5	2	2	16	16

Tabela 3: histórico transfusional dos pacientes com IRANC na UTI-Pediátrica e Neonatal

Metade dos pacientes é do sexo masculino e a outra metade do sexo feminino, sendo que a idade média foi semelhante, 4,7 e 4,3 anos respectivamente (Tabela 4).

UTI-Ped	2006		2007		2008		2009		2010		2011		Período	
	N	Idade	N	Idade	N	Idade	N	Idade	N	Idade	N	Idade	N	Idade
Fem	5	3,8	0	-	3	7,8	0	-	4	3,3	4	2,6	16	4,3
Masc	2	7,7	2	0,1	5	4,7	2	0,6	3	6,1	2	8,2	16	4,7
Total	7	4,9	2	0,1	8	6,2	2	0,6	7	4,5	6	4,4	32	4,5

Tabela 4: idade e sexo dos pacientes com IRANC na UTI-Pediátrica e Neonatal

Comparando o número de casos na UTI-Pediátrica nesses anos, é possível ver que não existe uma tendência, levando em conta que em 2007 e 2009 ocorreram poucos casos em comparação aos demais anos (Gráfico 1).

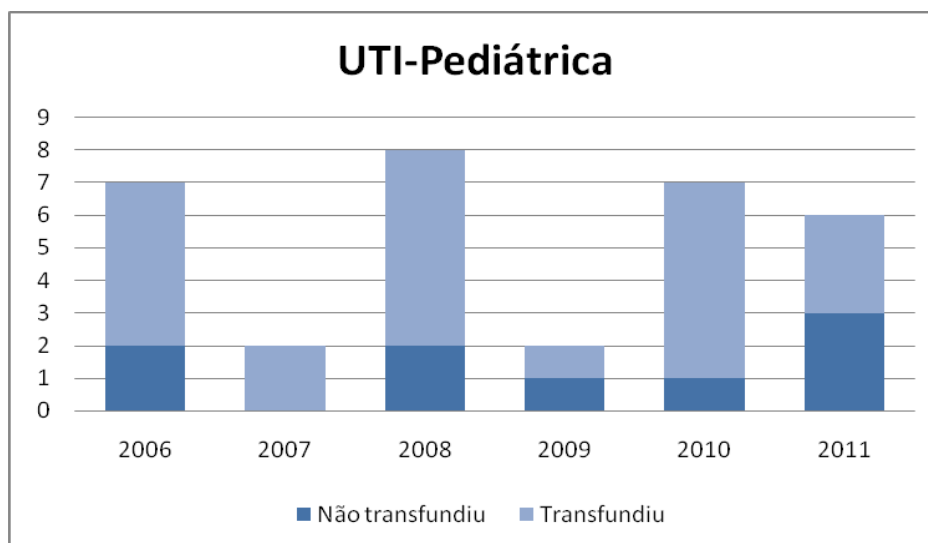


Gráfico 1: número de casos que transfundiu ou não de 2006 a 2011 na UTI-Pediátrica

Nas UTI-Adultos foram 88 pacientes diagnosticados com IRANC, sendo que praticamente metade (45 casos) transfundiu. Destes que transfundiram, 15 o fizeram em menos de 24 horas antes de diagnosticar a IRANC, portando são possíveis casos de TRALI. Dentre os adultos, não houve sobreviventes (Tabela 5).

UTI-Ad	2006		2007		2008		2009		2010		2011		Período	
	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito	N	Óbito
N.Transf	7	7	2	2	7	7	13	13	8	8	6	6	43	43
Transf	2	2	11	11	2	2	20	20	8	8	2	2	45	45
<24hs	0	0	4	4	0	0	11	11	0	0	0	0	15	15
>24hs	2	2	7	7	2	2	9	9	8	8	2	2	30	30

Tabela 5: histórico transfusional dos pacientes com IRANC nas UTI-Adultos

Houve predomínio de pacientes homens (57%), com idade média semelhante para ambos os sexos (Tabela 6): 57,9 anos para mulheres e 60,2 para homens.

UTI-Ad	2006		2007		2008		2009		2010		2011		Período	
	N	Idade	N	Idade	N	Idade	N	Idade	N	Idade	N	Idade	N	Idade
Fem	5	79,1	8	57,5	3	74,9	14	47,3	4	55,3	4	56,8	38	57,9
Masc	4	74,39	5	55,8	6	62,7	19	58	12	58,1	4	61,1	50	60,2
Total	9	77	13	56,8	9	66,8	33	52,6	16	58,1	8	59,0	88	59,0

Tabela 6: idade e sexo dos pacientes com IRANC nas UTI-Adultos

Nas UTI-Adultos houve um aumento significativo no ano de 2009, onde o número de casos praticamente duplicou neste ano, em relação aos demais, aumentando inclusive a parcela que realizou transfusão (Gráfico 2).

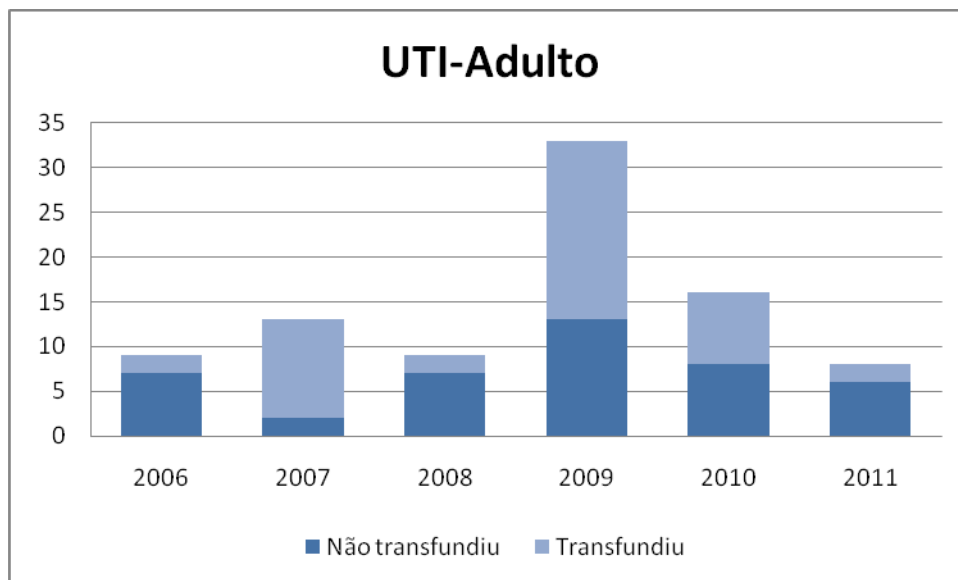


Gráfico 2: número de casos que transfundiou ou não de 2006 a 2011 na UTI-Adulto

A mortalidade da IRANC nas UTIs foi de 96,7%, com 116 óbitos entre os 120 diagnosticados, sendo que vale destacar que os sobreviventes foram todos da UTI-Ped.

Avaliando a totalidade dos casos do HCPA, percebe-se que a incidência de TRALI sofre baixa variação de um ano para outro, com exceção do ano de 2009, no qual a quantidade apresentada é de aproximadamente o dobro da média de ocorrências nos demais anos do período estudado (Gráfico 3).

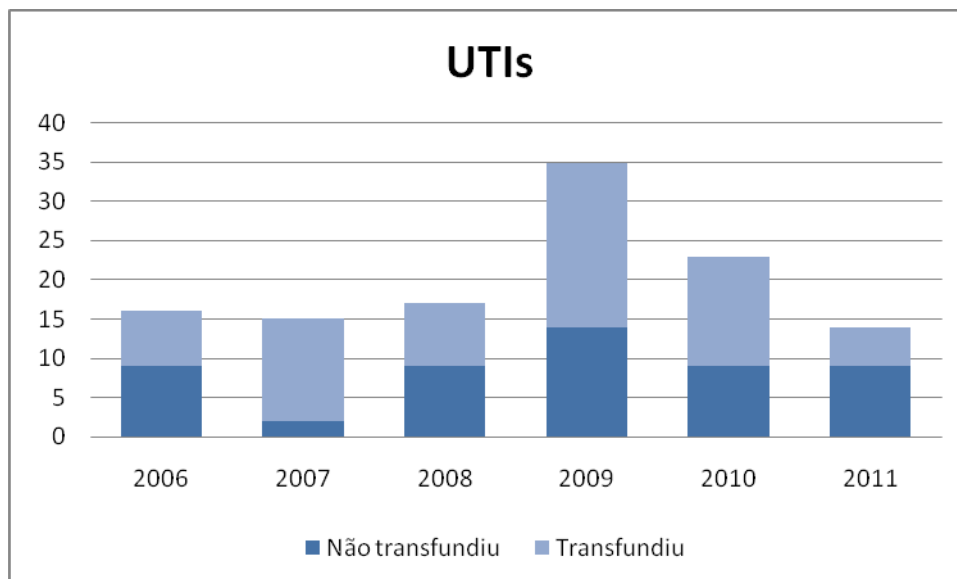


Gráfico 3: número de casos que transfundiu ou não de 2006 a 2011 em todas UTIs do HCPA

A avaliação dos dados demonstra que 22 pacientes encaixam-se como possíveis casos de TRALI por terem transfundido em menos de 24 horas antes do diagnóstico de IRANC. Destes pacientes, 9 são do sexo feminino e 13, masculino. A idade média ficou em 32,5 anos. A média de tempo de internação destes pacientes foi de 24 dias, e a média de transfusão realizada foi de 32 unidades de hemocomponentes por paciente, sendo o concentrado de plaquetas o mais transfundido (58%), seguido de concentrado de hemácias (22%), plasma fresco (16%) e por último, crioprecipitado (5%).

A média de transfusões em todo o hospital no período estudado é de 58 mil unidades por ano. Nas UTIs é de 6 mil por ano. Portanto, a incidência da TRALI nas UTIs calculada através deste trabalho foi em torno de 1 caso para 1600 transfusões.

Detecção dos anticorpos HNA e HLA

Em relação à forma de detecção dos HNA, através da pesquisa bibliográfica foi verificado que a maioria dos laboratórios que fazem a detecção destes anticorpos anti-neutrófilos utiliza neutrófilos frescos intactos para realizar um *screening*. São utilizadas células frescas devido ao curto período de duração destas células após coletadas e à dificuldade da indústria de fazer um painel que conserve as células com estes antígenos [11]. As técnicas recomendadas pelo ISBT Working

Party on Granulocyte Immunobiology na detecção de anticorpos anti-neutrófilos é a combinação do Granulocyte Immunofluorescence or Flow Cytometry (GIFT) e Granulocyte Agglutination Test (GAT) [12](Tabela 7). Estes métodos têm sido efetivos para a detecção de anticorpos reativos para neutrófilos, apesar de trabalhosos. Estes métodos detectam HNA e HLA I e possivelmente HLA II.

MÉTODO DETECÇÃO	DESCRIÇÃO
GAT	Incubação de neutrófilos frescos intactos isolados de doadores saudáveis com soro da amostra. Após é possível ver aglutinação se a amostra apresentar os Ac contra neutrófilos. Caso não apresente aglutinação, é possível que não existam Ac na amostra [11, 13].
GIFT	Incubação dos neutrófilos frescos intactos isolados de doadores saudáveis com soro da amostra. Após é incubado junto um segundo anticorpo conjugado com um fluorocromo. Análise pode ser por microscopia de fluorescência ou por citometria de fluxo, ambos detectaram a fluorescência caso exista os Ac [11, 14].

Tabela 7: métodos indicados para detecção de HNA e HLA

GAT fornece melhor indicação pela relevância fisiológica, pois demonstra a aglutinação direta do anticorpo que resulta da especificidade de ambos [6].

Muitas outras formas ainda estão sendo estudadas por grupos de pesquisa como Bayat et al.[14-15], Hirayama et al. [16], Lopez et al. [17], Wozniak et al. [18], e têm sido sugeridas. A maioria busca conhecer e isolar os antígenos envolvidos para poder construir um painel fixo, que não precisa ser preparado todos os dias, o que atrasa e atrapalha bastante o trabalho nos bancos de sangue. Após este feito, será possível construir kits de detecção do tipo ELISA, que deverão ser muito mais práticos e eficientes. Porém, estas técnicas ainda estão em fase de descoberta e estudo.

Em relação aos anticorpos presentes na população, foi encontrado um estudo que mostra a prevalência destes em cada população de acordo com sua

origem (Anexo 2). De acordo com Bux et al., HNA1-b, -2 e -5a são os mais prevalentes entre os negros; e HNA1-b, -2, -3a e -5a os que mais aparecem na população de brancos [19]. Partindo deste estudo, é possível focar os testes de detecção para cada região do país.

4. E. DISCUSSÃO

No período entre 2006 e 2011 não havia sido notificado nenhum caso de TRALI no HCPA e isso inicialmente sugeria que não ocorria este tipo de reação transfusional neste hospital. Portanto, levando em consideração o número médio de 5 a 6 mil transfusões anuais apenas nas UTIs, e uma média de 58 mil transfusões anuais em todo hospital, é incoerente com a literatura que nenhum caso de TRALI tenha ocorrido. Esses dados sugeriam um subdiagnóstico e uma subnotificação desta patologia.

Após estudar mais detalhadamente alguns casos que sofreram IRANC nas UTIs deste hospital, foi possível perceber que realmente houve um subdiagnóstico e subnotificação, pois apenas nas UTIs foi detectado que 18% dos casos de IRANC podem ser TRALI, pois transfundiram no mesmo dia em que diagnosticaram a IRANC. Dos possíveis casos estudados, a mortalidade foi assustadoramente alta, chegando 96,7%, sendo que os únicos sobreviventes foram crianças.

Houve um aumento significativo de casos no ano de 2009. Uma das hipóteses sugeridas que pode explicar este fato é que neste ano foi o auge da gripe H1N1. Portanto, mais pessoas estavam com seu sistema respiratório fragilizado, ou seja, o endotélio pulmonar já estava estressado, já havia ocorrido o primeiro insulto para em seguida ocorrer a ativação dos neutrófilos sequestrados no endotélio. Não houve diferença entre os sexos, portanto o estudo não evidencia distinção de incidência entre homens e mulheres.

O hemocomponente mais associado foi o concentrado de plaquetas, que apresenta uma quantidade suficiente de plasma para ocasionar a patologia.

A média de TRALI nas UTIs ficou dentro da média da literatura, porém é bem alta, sendo de 1 caso para cada 1600 transfusões. É importante lembrar que geralmente os pacientes transfundem mais que uma unidade, e a incidência é calculada em quantidade de bolsas transfundidas. A média de hemocomponentes por paciente com possível incidência de TRALI deste estudo foi de 32 unidades. Considerando a totalidade dos pacientes das UTIs, a média de hemocomponentes por paciente entre os que transfundem foi de 21 unidades. Logo, indiretamente seria possível imaginar que ocorre 1 caso de TRALI para 76 pacientes que sofrem transfusão nas UTIs. Esses são dados extrapolados de um estudo geral, no entanto, serve para mostrar a assustadora realidade desta patologia.

Infelizmente, não é possível confirmar nenhum desses casos, pois os pacientes já faleceram e não foi realizado nenhuma biópsia ou teste para a TRALI.

É difícil identificar as causas exatas e mais abrangentes que ocasionam a falta de diagnóstico e notificação desta importante reação transfusional. Estas podem estar localizadas tanto na falta de treinamento dos profissionais que acompanham os pacientes, quanto na falha da CID a qual não apresenta uma classificação adequada para esta doença, ou ainda pode ser devido à falta de cruzamento de dados entre centro de hemoterapia e hospital.

Com este estudo foi demonstrado que há indícios da ocorrência da TRALI no HCPA, com alta incidência e mais alta ainda mortalidade. Portanto, a detecção dos anticorpos que pode evitar a transfusão de um hemocomponente que pode levar à TRALI é de extrema importância.

Como forma de detecção, as formas indicadas pelo ISBT parecem ser as melhores para serem aplicadas à rotina do Banco de Sangue do HCPA. São técnicas trabalhosas, porém de baixa complexidade, sem alto custo e com especificidade e sensibilidade aceitáveis, pelo menos até a indústria disponibilizar kits comerciais.

4. F. REFERÊNCIAS

1. Cahill, M.R., et al., *Haemovigilance is associated with decreased use and improved appropriateness of blood transfusion*. *Vox Sanguinis*, 2003. **85**: p. 121-122.
2. Vries, R.R.P.d., *Haemovigilance: recent achievement sand developments in the near future*. *ISBT Science Series*, 2009. **4**: p. 60-62.
3. Anvisa, A.N.d.V.S.-. *Manual Técnico de Hemovigilância - Investigação das reações transfusionais imediatas e tardias não infecciosas*. 2007.
4. Andreu, G., et al., *Hemovigilance network in France: organization and analysis of immediate transfusion incident reports from 1994 to 1998*. *Transfusion*, 2002. **42**: p. 1356-1364.
5. Schipperus, M.R., *The dutch hemovigilance system: transfusion reactions in patients (trip)*. *Blood Transfusion*, 2011. **9**: p. 6-10.
6. Silliman, C.C., et al., *Transfusion-related acute lung injury (TRALI): current concepts and misconceptions*. *Blood Rev*, 2009. **23**(6): p. 245-55.
7. Toy, P., et al., *Transfusion-related acute lung injury: definition and review*. *Crit Care Med*, 2005. **33**(4): p. 721-6.
8. Benjamin, R.J., *Tracking TRALI in target populations*. *Blood*, 2011. **117**(16): p. 4163-4.
9. Ozier, Y., et al., *Transfusion-related acute lung injury: reports to the French Hemovigilance Network 2007 through 2008*. *Transfusion*, 2011. **51**(10): p. 2102-10.
10. Saidenberg, E., et al., *Transfusion-related acute lung injury (TRALI): A Canadian blood services research and development symposium*. *Transfus Med Rev*, 2010. **24**(4): p. 305-24.
11. Stroncek, D.F., E. Fadeyi, and S. Adams, *Leukocyte antigen and antibody detection assays: tools for assessing and preventing pulmonary transfusion reactions*. *Transfus Med Rev*, 2007. **21**(4): p. 273-86.
12. Bierling, P., et al., *Recommendations of the ISBT Working Party on Granulocyte Immunobiology for leucocyte antibody screening in the*

- investigation and prevention of antibody-mediated transfusion-related acute lung injury.* Vox Sang, 2009. **96**(3): p. 266-9.
13. Nguyen, X.D., et al., *Rapid screening of granulocyte antibodies with a novel assay: flow cytometric granulocyte immunofluorescence test.* Transfusion, 2009. **49**(12): p. 2700-8.
 14. Behnaz Bayat, Y.T., * Silke Werth, Heike Berghöfer, Angelika Reil, Hartmut Kroll, Ulrich J. Sachs, and Sentot Santoso, *Implication of transfected cell lines for the detection of alloantibodies against human neutrophil antigen-3.* Transfusion, 2012. **52**: p. 9.
 15. Behnaz Bayat, S.W., Ulrich J. H. Sachs, and Sentot Santoso, *A novel enzyme-linked immunosorbent assay method for the detection of human neutrophil antigen-2a antibodies.* Transfusion, 2009. **49**: p. 6.
 16. Hirayama, F., *Recent advances in laboratory assays for nonhemolytic transfusion reactions* Transfusion, 2010. **50**: p. 252-263.
 17. Lopez, G.H., et al., *A standardized immunofluorescence test method with human neutrophil antigen-expressing cell lines to enhance antibody detection.* Vox Sang, 2012. **102**(2): p. 171-4.
 18. Wozniak, M.J., et al., *Detection of HNA-3a and -3b antibodies using transfected cell lines and recombinant proteins.* Transfusion, 2011.
 19. Bux, J., Human neutrophil alloantigens. Vox Sang, 2008. 94(4): p. 277-85.
 20. CID-10 Classificação Internacional de Doenças, disponível em: http://www.bulas.med.br/cid-10/?act=Search&_id_=217&_ev_=Submit&_formSearchSubmit=%3Adefault%3A&Description=&Code=J80&x=0&y=0 consultado em 11/06/2012.
 21. Hemocord, 2002. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/f99e9a80496ec00a8031f54ed75891ae/17-perspectivas_hemovigilancia_barbara_jesus_simoes.ppt?MOD=AJPERES#287,26,Slide 26

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A TRALI é uma doença com alto índice de incidência e de mortalidade. Logo, é necessário prestar mais atenção a sua prevenção. É possível incluir nos testes pré-transfusionais nos centros hemoterápicos a detecção dos HLA e HNA. Este seria um grande avanço na hemoterapia e certamente preveniria muitos casos de TRALI.

O principal motivo de estudos deste âmbito é criar melhorias nas transfusões. Os métodos sugeridos podem facilmente entrar na rotina do Banco de Sangue do HCPA. Ainda seria esperado que o hospital tomasse providências para evitar que continue ocorrendo o subdiagóstico e subnotificação, treinando seus profissionais para reconhecer esta patologia. Também seria interessante incluir um sistema que seja capaz de cruzar os dados com o centro de hemoterapia, para o Banco de Sangue ter conhecimento das reações transfusionais que ocorrem devido aos hemocomponentes liberados por este.

Ainda dentro deste projeto, podem ser testadas as amostras de soro das bolsas transfundidas nos pacientes classificados como possíveis TRALI. Essas amostras ficam guardadas por alguns anos no próprio Banco de Sangue e poderiam ser testadas com GIFT e GAT para detectar a presença dos anticorpos. Esse seria um indício de TRALI. Ainda não seria confirmatório, pois não são apenas HLA e HNA que causam esta doença e sua presença não é certeza de que a patologia vai ocorrer. Seria apenas mais um indício.

Apesar disso, estes testes utilizados como preventivos podem ser muito eficazes, uma vez que evitando a utilização dos hemocomponentes positivos para HNA e HLA a grande maioria dos casos de TRALI será evitada.

Considerando que os estudos das áreas biomédicas têm como objetivo a promoção e preservação da saúde, e as propostas sugeridas neste trabalho buscam reduzir a possibilidade de óbitos, e com isto, possibilitando a manutenção da vida, recomenda-se maior atenção aos problemas apontados ao longo da pesquisa.

6. ANEXOS

1.

TABELA 1 DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO E PERCENTUAL DE REAÇÕES SEGUNDO O ANO DE NOTIFICAÇÃO – BRASIL – 2002 A 2005

REAÇÃO	2002		2003		2004		2005		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
RFNH	36	29,5	260	54	355	52,7	588	58,0	1239	54,1
RAL	58	47,5	169	35	208	30,9	273	27,0	708	30,9
RAM	12	10	32	6,6	51	7,6	62	6,1	157	6,9
SV	3	2,5	4	0,8	14	2,1	18	1,8	39	1,7
RHA	1	0,8	7	1,4	6	0,9	10	1,0	24	1,0
RAG	5	4,1	4	0,8	10	1,5	4	0,4	23	1,0
AIRREG*	0	0	0	0	5	0,7	11	1,1	16	0,7
TRALI	0	0	3	0,6	7	1	4	0,4	14	0,6
RCB	1	0,8	2	0,4	0	0	2	0,2	5	0,2
HIV/AIDS*	2	1,6	0	0	0	0	2	0,2	4	0,2
RHIPO	1	0,8	1	0,2	1	0,1	1	0,1	4	0,2
HCV*	2	1,6	0	0	0	0	0	0,0	2	0,1
HNI	0	0	0	0	0	0	1	0,1	1	0,0
RHT*	0	0	0	0	0	0	1	0,1	1	0,0
OUTROS I	1	0,8	1	0,2	16	2,4	35	3,5	53	2,3
OUTROS T*	0	0	0	0	1	0,1	0	0	1	0,0
TOTAL	122	100	483	100	674	100	1012	100	2291	100

REAÇÕES IMEDIATAS: RFNH – reação febril não hemolítica, RAL – reação alérgica leve, RAM – reação alérgica moderada, RHA – reação hemolítica aguda, RAG – reação alérgica grave, SV – sobrecarga volêmica, TRALI - *Transfusion-Related Acute Lung Injury*, RCB – reação por contaminação bacteriana, Rhipo – reação hipotensiva, HNI – hemólise não imune, Outros I – outra reação imediata.

REAÇÕES TARDIAS*: AIRREG – aparecimento de anticorpos irregulares, HIV/AIDS - *Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immunodeficiency Syndrome*, HCV - Vírus da Hepatite C, RHT - reação hemolítica tardia.

Número e porcentagem de reações transfusionais ocorridas e registradas de 2002 a 2005 no Brasil, segundo ANVISA[3].

2.

Table 3 Human neutrophil alloantigens (HNA) frequencies (%)

	Amerindians ^a	Asians ^b	Africans ^c	Whites
HNA-1a	83-91	88-91	46-66	57-62
HNA-1b	36-80	51-54	78-84	88-89
HNA-1c	0-1	< 1	23-31	5
HNA-1 null	< 1	< 1	4	0, 15
HNA-2	nt	89-99	98	87-97
HNA-3a	nt	nt	nt	89-96
HNA-4a	> 99	nt	nt	99
HNA-5a	79-97	81	88	86-92

^aNorth and South American Indians.

^bChinese, Japanese, Koreans or Taiwanese.

^cAfrican and American blacks.

Prevalência dos HNA nas populações segundo Bux et al, 2008.