

ACADEMINA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Importância do NAT na Segurança Transfusional

Aline Garcia Aun

**São Jose do Rio Preto
2012**

**Pós-graduação *latu sensu*
Hematologia e Banco de sangue**

Importância do NAT na Segurança Transfusional

Monografia apresentada à
Academia de ciência e
tecnologia como requisito
parcial para a conclusão
do curso de Pós-graduação em
Hematologia e Banco de sangue.

**São Jose do Rio Preto
2012**

REVISÃO DE LITERATURA

Introdução

A hemoterapia, no Brasil e no mundo, caracterizou-se pelo desenvolvimento e adoção de novas tecnologias, objetivando minimizar os riscos transfusionais, especialmente quanto à prevenção da disseminação de agentes infecto-contagiosos. A indicação adequada do uso do sangue e componentes, atendendo preceitos da hemoterapia seletiva, vem propiciando uma maior otimização das unidades coletadas e redução quantitativa na exposição dos receptores. O Ministério da Saúde (MS) determina que, para cada doação efetivada, sejam realizados testes sorológicos para os seguintes patógenos: Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) 1 e 2, Vírus Linfotrópico – T Humano I e II (HTLV I e II), Tripanossoma cruzi, Treponema palladium, Plasmodium em áreas endêmicas de malária, Citomegalovírus (CMV), Vírus da Hepatite B (HBV) e Vírus da Hepatite C (HCV).

Com o início da hemoterapia, numerosas doenças começaram a ser transmitidas por transfusões de sangue e derivados; entre os agentes transmitidos, podemos citar: o treponema da sífilis, o plasmódio da malária, o tripanosoma da doença de Chagas e brucelose. Posteriormente, constatou-se a transmissão de hepatite, toxoplasmose, leishmaniose e, mais recentemente, o citomegalovírus, o vírus Epstein-Barr e o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). (1) Também é possível relacionar Creutzfeld-Jacob às transfusões, mas isso ocorre de forma raríssima. (1)

Uma moléstia é potencialmente transmissível sempre que o agente etiológico possa ser encontrado em sangue circulante, no período sintomático ou não. (1) Os testes sorológicos para triagem deverão ser adaptados a cada região, porque a prevalência dessas patologias está relacionada com a prevalência regional. (1)

No Brasil existem normas técnicas determinadas pelo Ministério da Saúde para a seleção de doadores de sangue. (2) Além da triagem clínica e epidemiológica, a triagem sorológica tem um papel de destaque na prevenção da doença transfusional para doença de Chagas, sífilis, hepatites B e C, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), HTLV I e II. (2) Os testes

utilizados devem apresentar alta sensibilidade, e a associação de dois ou mais testes de princípios diferentes tem sido recomendado pelo Ministério da Saúde para obtenção de índices máximos de sensibilidade e especificidade no resultado final. (2)

Muito se tem discutido sobre os critérios de seleção quando são utilizados testes que pesquisam anticorpos IgG contra determinados patógenos. (2) O enfoque da discussão é relevante, pois muitas vezes a presença desses anticorpos refere-se à infecções passadas e já tratadas, não implicando risco transfusional. (2) Enquanto o método *Polimerase Chain Reaction* (PCR) não é integralmente padronizado para uso rotineiro dos bancos de sangue, os testes sorológicos continuam desempenhando sua função de selecionar doadores, mesmo nos casos onde o patógeno já não está presente na circulação dos doadores. (2)

Os testes sorológicos ou imunoensaios são técnicas para a detecção e quantificação de抗ígenos e anticorpos, ou outras substâncias que desempenhem o papel de抗ígeno no ensaio; tais como drogas, hormônios, ácidos nucléicos, citocinas, etc. (3) Podem utilizar reagentes não-marcados ou reagentes marcados: os ensaios clássicos com reagentes não-marcados, como os que se baseiam no princípio da precipitação, possuem sensibilidade de detecção menor, pois é necessário que se formem grandes complexos抗ígeno-anticorpo para a sua detecção; já os ensaios com reagentes marcados, estes amplificam o sinal, aumentando a sensibilidade de detecção. (3) Os marcadores comumente utilizados são os radioativos, enzimáticos, fluorescentes e quimioluminescentes. (3) A amplificação do sinal também pode ser obtida com o emprego de partículas, como na aglutinação e nos métodos automatizados de precipitação. (3)

Nas últimas décadas, houve um grande desenvolvimento nos testes para imunodiagnóstico, tanto com relação aos anticorpos e抗ígenos empregados, como com relação aos métodos. (3) O advento dos anticorpos monoclonais proporcionou um grande avanço pela possibilidade de produção, em grande quantidade, de anticorpos homogêneos e totalmente específicos; por outro lado, a análise da estrutura dos principais componentes antigênicos dos microorganismos levou à identificação dos抗ígenos mais importantes na detecção de anticorpos. (3) Com relação aos métodos, tem-se notado uma

tendência ao aperfeiçoamento dos testes já existentes, e ao mesmo tempo, do emprego de tecnologias emergentes, a fim de aumentar a sensibilidade dos resultados, tornar os testes mais rápidos e de simples execução. (3)

Para garantir a qualidade dos resultados é necessário um controle bem rigoroso, ou seja, as técnicas devem ser cuidadosamente padronizadas quanto à concentração do antígeno, especificidade dos anticorpos, tempo, temperatura, etc. (3) Além disso, deve-se manter um controle de qualidade permanente para avaliar equipamentos e reagentes. (3)

OBJETIVO

Descrever a importância da implementação da técnica do NAT em agências transfusionais segundo informações que constam na literatura.

Doença de Chagas

A doença de Chagas ou tripanossomíase americana tem como agente etiológico um parasita protozoário intracelular, o *Trypanosoma cruzi*. (4,7) Esses parasitas são transmitidos entre vários animais, incluindo gatos, cães e roedores; e eles são transmitidos entre os animais e aos homens por insetos vetores (triatomídeos). (4) Os triatomídeos apresentam hábitos noturnos e passam os parasitas infecciosos pelas fezes; e esses entram nos hospedeiros através da lesão cutânea ou através das membranas mucosas. (4) No local de entrada na pele pode aparecer um nódulo eritematoso transitório denominado chagoma. (4)

A transmissão dessa patologia, nas áreas urbanas, por transfusão de sangue e derivados apresenta grande importância, como consequência da migração de populações de áreas endêmicas para centros industrializados. (7) Considera-se a segunda via mais importante de transmissão da doença. (7) Outras formas de transmissão são: a transmissão vertical (congênita), a accidental, normalmente ocorre em laboratórios, e a oral, por ingestão de alimentos contaminados com vetores ou excretas de vetores parasitados. (7)

Essa patologia se manifesta através de duas formas clínicas: adquirida e congênita; sendo que essa última associa-se a nascimentos prematuros, abortos e placentites; e é rara, ocorrendo em menos de 1% dos casos diagnosticados, mas a transmissão durante a gravidez não pode ser evitada, já que as drogas utilizadas no tratamento são tóxicas e teratogênicas. (7) Em países como o Brasil, onde os casos congênitos tornam-se cada vez mais raros, a estratégia é o uso da sorologia quando a criança atinge seis meses de idade e imediatamente tratar os casos positivos. (7)

A forma adquirida classifica-se em aguda e crônica. (7) A fase aguda é mais frequente em crianças e apresenta como características como o sinal de Romaña e o chagoma de inoculação, que aparecem após 7 a 10 dias do contato com o vetor. (7) Outras manifestações clínicas eventualmente presentes são: febre, diarréia, anorexia, náuseas, vômitos, irritação das meninges, edema subcutâneo, hepato e esplenomegalia e linfoadenopatia. (7) Essa fase permanece durante dois meses, desaparecendo mesmo na ausência de tratamento específico. (7)

Logo após a fase aguda, aparece a intermediária, também chamada de inaparente ou latente ou subclínica, porque o paciente não apresenta alterações patológicas significativas, então o diagnóstico clínico é difícil e os testes sorológicos são positivos. (7) Esta se caracteriza como sendo a fase de equilíbrio entre o hospedeiro e o parasita, onde o sistema imunológico do paciente forma a resposta imune celular e humoral e isso promove uma diminuição de parasitas na circulação. (7)

A fase crônica ocorre em 20% dos pacientes infectados 5 a 10 anos após a infecção inicial, e classifica-se em duas formas principais: cardíaca e digestiva. (7) A forma cardíaca caracteriza-se por uma miocardite crônica difusa, e são observadas alterações no eletrocardiograma convencional, no raio X de tórax e no ecocardiograma; e os testes sorológicos podem confirmar os achados clínicos. (7) Na forma digestiva, o paciente pode apresentar megaesôfago e megacôlon; e os testes sorológicos, principalmente a pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. cruzi*, podem ser negativos, o que não exclui a etiologia chagásica. (7)

Do ponto de vista epidemiológico, a doença de Chagas é amplamente disseminada na América Latina; estima-se que cerca de 10 a 20 milhões de pessoas estão infectadas. (7)

O diagnóstico dessa patologia pode ser feito por métodos parasitológicos, radiológicos e por testes sorológicos. (7) Os métodos parasitológicos podem ser utilizados nas fases aguda e crônica; sendo que na fase aguda são utilizados métodos diretos para pesquisa de tripanossomas na corrente sanguínea, através de microscopia direta ou outras variações, como gota espessa ou a coloração de Giemsa; e métodos indiretos, como o xenodiagnóstico. (7)

Na fase crônica, são utilizados métodos indiretos, como xenodiagnóstico e hemocultura. (7) O xenodiagnóstico é realizado com ninfas de vetores, criadas em laboratórios e alimentadas com sangue de aves refratárias à infecção por *T. cruzi*, que são colocadas para sugar diretamente o sangue do paciente. (7) Depois são mantidas no laboratório a 28°C com cerca de 85% de umidade; e após um período de quatro a seis semanas, as fezes e os intestinos dos insetos, obtidos por esfregaço ou dissecção, são examinados por microscopia direta para a pesquisa do parasita. (7) A sensibilidade do método é de cerca de 50% na fase crônica e de 85% a 100% na fase aguda. (7) No xenodiagnóstico artificial, *in vitro*, as ninfas são colocadas para sugar o sangue dos pacientes suspeitos de infecção chagásica, colocados no interior de pequenos sacos de diálise, para evitar reações de hipersensibilidade em pacientes susceptíveis. (7)

A hemocultura, quando usada para diagnóstico, apresenta baixa sensibilidade, detectando cerca de 50% dos casos crônicos; porém, é importante para isolar cepas responsáveis pelas infecções no homem e nos animais. (7)

O método Polymerase Chain Reaction (PCR) é altamente sensível para a detecção de DNA do parasita, dessa maneira, representa um importante procedimento para casos com resultados duvidosos para a doença de Chagas. (7)

Os testes sorológicos são amplamente utilizados para esta patologia, ou seja, para selecionar doadores em bancos de sangue, para acompanhamento da terapêutica antiparasitária, para confirmar ou excluir uma suspeita clínica e

para inquéritos soroepidemiológicos. (7) O *T. cruzi* apresenta grande complexidade antigênica, o que promove a resposta imunológica do hospedeiro e tem levado diversos pesquisadores a procura de抗ígenos sensíveis e específicos, através da biologia molecular e síntese de peptídeos. (7) Em 1992, foi definido como antígeno ideal aquele que deveria estar presente em todas as cepas isoladas de diferentes áreas endêmicas, não estar presente em outros agentes etiológicos de doenças infecciosas e parasitárias, ser altamente imunogênico, estável e facilmente obtido para utilização em testes sorológicos. (7) É importante lembrar que mudando-se o limiar de reatividade do teste, cut-off, obtém-se índices de máxima sensibilidade ou especificidade; e isso será utilizado de acordo com as aplicações práticas de cada teste, ou seja, como são necessários testes de máxima sensibilidade nos bancos de sangue, trabalha-se com limiares de reatividade baixos; e no laboratório clínico, onde os resultados são utilizados para confirmar os achados clínicos dos pacientes ou para seguimento de alguma terapêutica, empregam-se testes de máxima especificidade, o que se consegue aumentando o limiar de reatividade. (7)

Voller e cols. descreveram o teste ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) para o diagnóstico de doença de Chagas. E este é um teste sensível, específico, com leitura objetiva e passível de automação; e foi padronizado em placas de microtitulação, com componentes antigênicos solúveis de *T. cruzi* previamente adsorvidos. (7) Após incubação com soro e conjugado enzimático, a reação é revelada com substrato e doador de hidrogênio, que libera cor no sobrenadante. (7) A intensidade da coloração é proporcional à quantidade de anticorpos presentes na amostra e é avaliada por espectrofotometria. (7)

HIV – AIDS

A síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) foi descrita em 1981, nos Estados Unidos, quando foram notificados aos *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) os primeiros casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii* e de sarcoma de kaposi em homossexuais masculinos previamente saudáveis.

Em 1983, foi identificado o agente etiológico, o vírus denominado HIV ou vírus da imunodeficiência humana, pertence à subfamília lentivirus dos retrovírus humanos. O HIV é um vírus RNA que se caracteriza pela presença de enzima transcriptase reversa, que permite a transcrição do RNA viral em DNA, que pode, então, se integrar ao genoma da célula do hospedeiro, passando a ser chamado de provírus. O DNA viral é copiado em RNA mensageiro, que é transcrito em proteínas virais. Ocorre, então, a montagem do vírus e, posteriormente, a gemulação. O HIV infecta principalmente células que apresentam a molécula CD4 em sua superfície, predominantemente linfócitos CD4 (linfócitos T4 ou T-helper) e macrófagos. A molécula CD4 age como receptor do vírus, mediando a invasão celular. A transmissão nas relações性uais é bidirecional, tanto nas relações heterossexuais como nas homossexuais. O risco aumenta com a prática de intercurso anal, na presença de ulcera genital e quando o estado de imunodeficiência do transmissor é mais avançado. A presença de doenças transmissíveis, a ausência de circuncisão e relações性uais durante o período menstrual também aumentam a possibilidade de transmissão do HIV.

Normalmente, o sistema imunológico produz células de sangue e anticorpos que defendem o organismo da presença de microorganismos patológicos. As principais células de defesa diante de uma infecção são os linfócitos T, as preferidas pelo HIV.

Meses ou anos após a pessoa ser infectada com HIV, o vírus destrói os linfócitos T. Com linfócitos T destruídos, o sistema imunológico começa a falhar na defesa do corpo contra doenças e tumores.

Deste modo, várias infecções que em situações normais não representariam grande problema, no organismo cujo sistema imunológico está comprometido elas se tornam graves ou fatais. São conhecidas como infecções oportunistas ou doenças oportunistas por se aproveitarem desta deficiência do sistema imunológico para se instalarem.¹²

A infecção pelo HIV pode ser dividida em quatro fases clínicas:

1. Infecção aguda

Também conhecida como *Síndrome da infecção retroviral aguda* ou *Infecção primária*, ocorre em cerca de 50% a 90% dos casos. O tempo entre a exposição e a manifestação dos sintomas varia de 5 a 30 dias e duram, em média, 14 dias. Iniciam no pico da viremia e da atividade imunológica e assemelham-se aos de outras infecções virais. Após a resolução da fase aguda, ocorre a viremia se estabiliza em níveis variáveis (*set points*), definidos pela velocidade da replicação e clareamento viral. O *set point* é fator prognóstico de evolução da doença. A queda da contagem de linfócitos T CD4+, de 30 a 90 células por ano, está diretamente relacionada à velocidade da replicação viral e progressão para a AIDS.

2. Fase assintomática

Na infecção precoce pelo HIV ou fase assintomática, são poucas ou inexistentes as alterações no estado geral. Alguns podem apresentar linfoadenopatia generalizada persistente, flutuante e indolor que podem mesmo passar despercebida.

3. Infecção sintomática inicial

Nesta fase, podem surgir sinais e sintomas inespecíficos, de intensidade variável e processos oportunistas de pouca gravidade, principalmente em pele e mucosas.

4. AIDS

A síndrome produzida pela infecção pelo HIV.

O diagnóstico da infecção pelo HIV é feito em laboratórios, a partir da realização de testes sorológicos. No Brasil, o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV é regulamentado por meio da Portaria de Nº 59/GM/MS, de 28 de janeiro de 2003.

Para o diagnóstico correto do HIV, deve-se considerar a fase da doença, dada sua grande capacidade de manifestar-se de diferentes formas em cada pessoa. Na fase aguda, apresentam-se as patologias virais. Na fase inicial da AIDS propriamente dita, deve ser analisado o quadro clínico do paciente e o órgão atingido.

O tempo necessário para que o exame de AIDS detecte a presença do HIV no

sangue é geralmente de três a 12 semanas depois de adquirido o vírus, com período médio de aproximadamente dois meses. Esse tempo decorrido entre a infecção pelo HIV e a detecção de anticorpos pelos testes sorológicos (positivação da sorologia para o HIV), é chamado de *janela imunológica*.

Quando um vírus se reproduz, o corpo ativa um processo que gera anticorpos contra esse vírus. O teste anti-HIV detecta os anticorpos produzidos pelo organismo e não o vírus em si. Por isso, há um período de tempo desde o dia em que a pessoa adquire o vírus até que ela tenha anticorpos suficientes que possam ser detectados nos testes de laboratório. A esse tempo dá-se o nome de janela imunológica. Nesse período, a pessoa tem muito vírus e pouco anticorpo. Então, o teste, que só detecta anticorpos, não vai identificar que a pessoa tem o vírus, embora já o tenha. Daí a importância de se fazer o teste dois meses após a exposição ao vírus. Por isso, é preciso estar atento a esse período em casos de risco de infecção recente e resultado negativo de sorologia anti-HIV.

Os testes realizados em laboratórios para detecção da infecção pelo HIV são denominados testes sorológicos. Estes testes baseiam-se na detecção de anticorpos contra o HIV presentes ou não na amostra do paciente. Em adultos, esses anticorpos aparecem no sangue dos indivíduos infectados, em média de 3 a 12 semanas após a infecção. Em crianças com até 18 meses, o resultado dos testes sorológicos é de difícil interpretação. Um resultado positivo em amostras de crianças com idade inferior a 18 meses pode ou não significar infecção. Nesse caso, os anticorpos detectados nos testes sorológicos podem ser da mãe e não do bebê.

Sífilis

A sífilis é uma doença infecciosa causada pelo espiroqueta *Treponema pallidum*. (4,5) A transmissão dessa patologia pode ocorrer por via sexual, por contato com o sangue ou as lesões, e por via placentária; sendo que a doença ativa durante a gestação resulta em sífilis congênita. (4,5)

A sífilis primária ocorre aproximadamente 3 semanas após a infecção pelo treponema através do contato com um indivíduo infectado, caracteriza-se com uma lesão (cancro) única, indolor, elevada, vermelha, firme e localizada no

local da invasão da bactéria no pênis, cérvix, na parede vaginal ou no ânus. (4) Este cancro normalmente cicatriza rapidamente, desaparecendo espontaneamente dentro de 3 a 6 semanas, mas podem persistir por períodos mais longos, especialmente em imunossuprimidos. (4,5) Podem ser demonstradas espiroquetas nessas lesões; e eles também se propagam por todo o corpo por disseminação hematológica e linfática mesmo antes do aparecimento do cancro. (4) Nessa fase também pode ocorrer linfadenopatia. (5)

A fase secundária se manifesta cerca de 2 a 10 semanas após o desaparecimento da ferida, e se deve à disseminação e proliferação das espiroquetas dentro da pele e tecidos mucocutâneos. (4,5) Todas as lesões que aparecem nessa fase são indolores, mas também contêm treponemas e, assim são infecciosas. (4) A linfadenopatia persiste por várias semanas, após a qual o paciente entra na fase latente da doença. (4)

O estágio terciário da sífilis ocorre geralmente após 5 anos ou mais e atinge um terço dos pacientes sem tratamento. (4) Essa fase pode apresentar três manifestações: sífilis cardiovascular, neurosífilis e sífilis terciária supostamente benigna. (4)

A sífilis congênita ocorre quando o *T. pallidum* atravessa a placenta; e essa transmissão materna é mais frequente durante as fases primárias e secundárias da sífilis, já que as espiroquetas são mais numerosas. (4,5) A morte intra-uterina e a perinatal ocorrem em aproximadamente 25% dos casos de sífilis congênita não-tratada. (4) As manifestações dessa patologia podem ocorrer nos primeiros 2 anos de vida, e recebe o nome de sífilis precoce (infantil), ou podem ocorrer posteriormente, recebendo o nome de sífilis tardia (4) A primeira caracteriza-se por congestão nasais (resfriado); e um exantema descamado ou bolhoso pode levar ao desprendimento da pele, particularmente das mãos e dos pés e em torno da boca e do ânus. (4) Também são comuns hepatomegalias e anormalidades esqueléticas. (4) Quase metade das crianças que apresentam sífilis neonatal e que não são tratadas, desenvolve as manifestações tardias; entre elas, a tríade de Hutchinson: dentes incisivos centrais cortados, ceratite intersticial com cegueira e surdez por lesão do oitavo nervo craniano. As anormalidades esqueléticas, neurológicas e faciais também podem ocorrer. (4)

O diagnóstico da sífilis recente pode ser realizado pela evidenciação da bactéria nas lesões, tanto no cancro, como nas lesões cutâneas ou de mucosas do secundarismo, e na sífilis congênita, por observação microscópica direta, em campo escuro, ou após a coloração pela prata, pelos corantes de Leishman ou Giemsa, ou por imunofluorescência. (5) Entretanto, os testes sorológicos que se baseiam na detecção dos anticorpos que aparecem devido à infecção são mais freqüentes. (5) Estes testes distinguem-se em testes lipoídicos ou de cardiolipina (testes para anticorpo não-treponema); e ao longo destes anos agregaram-se ao arsenal diagnóstico da sífilis os testes treponêmicos (testes para anticorpo anti-treponema). (4,5,6) Na última década, ainda surgiram os testes de amplificação de nucleotídeos. (6)

Os testes de cardiolipina são empregados há mais de 80 anos, porém essas reações sorológicas com antígenos lipídicos ainda são úteis e importantes para o diagnóstico e o controle de cura. (5,6) Esses testes utilizam esse fosfolípide, a cardiolipina, como antígeno para a pesquisa das “reaginas”, anticorpos que, embora habitualmente ocorrendo no soro em quantidades diminutas, na sífilis atingem altos níveis. (5) A cardiolipina está presente no tecido do hospedeiro e no *T. pallidum*. (4) O teste cardiolipínico do VDRL (Veneral Diseases Research Laboratory) é uma simples reação de floculação, que basicamente consiste em suspensões de cristais de colesterol como suporte da cardiolipina, em meio aquoso contendo lecitina, que são aglutinados em presença do soro reagente. (5) A prova do VDRL positiva-se 4 a 6 semanas após a infecção, e apresenta elevada sensibilidade na sífilis secundária (100%), que se reduz a 70% nas formas tardias. (4,6) De alta sensibilidade, mas sujeitos a resultados falso-positivos e falso-negativos, especialmente na sífilis tardia; por isso estes testes são de triagem e devem ter seus resultados confirmados com os testes treponêmicos. (4,5)

Os testes para anticorpos do treponema avaliam os anticorpos reativos com o *T. pallidum* após a absorção do soro com antígenos de treponemas não patogênicos; e são testes confirmatórios. (4) O teste de imunofluorescência (FTA-ABs) também se positivam 4 a 6 semanas após a infecção, mas ao contrário dos testes não treponêmicos, eles permanecem positivos indefinidamente, mesmo após tratamento bem-sucedido. (4)

Já em 1997, Zeechling et al. aplicavam a técnica do PCR em lesões de sífilis secundária. (6) A amplificação do RNA é mais sensível ainda e revela a presença do microorganismo vivo. (6)

Hepatites

As principais infecções hepáticas são de origem viral, que ocorre por causa de um grupo de vírus que têm afinidade pelo fígado. (8) Estes vírus apresentam diferenças importantes entre si, tanto no que diz respeito à estrutura, conteúdo de ácidos nucléicos, vias de transmissão e formas de inativação, bem como na evolução clínica dos indivíduos infectados. (9) Dentre as hepatites viriais, as que estão envolvidas em transfusões, são as causadas pelos vírus da hepatite B e C. (1)

A hepatite transfusional era ainda frequente em 1985, existindo numerosos relatos como o de Cid. e cols. que encontraram 44% de casos de hepatite pós-transfusional em pacientes com hipertensão portal de diferentes etiologias. (1) A hepatite transfusional pelo HBV foi estudada em hemofílicos por Mello em 1986 e, apesar do uso de testes de alta sensibilidade para detectar-se o HbsAg, 5 a 10% das hepatites pós-transfusionais são pelo HBV. (1)

Desenvolvimento

Estimativas dos riscos de se transmitir infecções através de transfusões sanguíneas são importantes para os médicos avaliarem os benefícios esperados e os custos que estas intervenções podem acarretar e assim, decidir entre essas ou outras medidas terapêuticas. (1,2)

Nos Estados Unidos, as altas taxas de transmissão das hepatites por transfusões ocorreram em 1960 e no início de 1970, mas o risco de infecções por esses vírus após esse procedimento terapêutico vem diminuindo desde 1980. (2) Os casos de transmissão do HIV ocorreram com elevada incidência desde o início até o meio de 1980; sendo que São Francisco apresentou as taxas mais elevadas. (2) Esses dados diminuíram significativamente com a

implantação dos testes de anticorpos contra o HIV em 1985; e continuam diminuindo com as novas técnicas laboratoriais que surgem a cada dia. (2)

O grande número de casos de transmissão do HIV por transfusões de 1983 a 1985 levou a um paradigma com relação a segurança da transfusão sanguínea. (2) Antes do aparecimento da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), o público geral e a profissão médica consideravam a transfusão sanguínea como uma medida ideal para salvar vidas, apesar dos altos riscos de transmissão das hepatites. (2)

Estabelecendo políticas para diminuir os riscos de transmissão de doenças infecciosas por transfusões sanguíneas, conclui-se existir três possibilidades: risco zero, risco mínimo e risco mínimo com um custo aceitável. (2) O risco zero não é alcançável devido a várias limitações, por exemplo, na transfusão sanguínea um único método não é 100% eficiente, então seria necessário usar múltiplos métodos, e quando múltiplos métodos são utilizados, aumenta o potencial de erros. (2)

Muitas metodologias podem ser usadas para reduzir o risco de transmissão de agentes infecciosos através das transfusões. (2) Mais de um método pode ser empregado para reduzir o risco de todos os agentes infecciosos ou de um agente específico. (2) Métodos aplicáveis a todos os agentes incluem: minimizar a realização das transfusões não necessárias, por exemplo, estabelecer doações autólogas, e minimizar a exposição a múltiplos doadores, por exemplo, realizar preferencialmente aféreses de plaquetas do que utilizar sangue total de doadores diferentes. (2) Métodos aplicáveis a múltiplos agentes simultaneamente incluem: inativação de agentes infecciosos, por exemplo, tratamento de plasma com detergentes solventes, e remoção das células infectadas. (2) Métodos aplicáveis a agentes individuais incluem: seleção do doador e procedimentos de triagem, e testes laboratoriais. (2)

Um dos métodos mais básicos de se estabelecer que uma doença foi transmitida por alguma transfusão é através de relatos de casos clínicos pós-transfusão; porém há várias limitações nesse campo, por exemplo, o próprio não reconhecimento da associação com transfusão, e isso pode ocorrer quando o período de incubação é prolongado antes do desenvolvimento da doença clínica. (2) A investigação de *look-back* analisa quando ocorre o desenvolvimento de uma doença em um receptor, que recebeu transfusão de

um doador que subsequentemente documentou infecção com potencial de transmissão por transfusões sanguíneas. (2)

O método mais adequado para se determinar o risco de transmissões por transfusões é um estudo prospectivo, onde seria coletado amostras sanguíneas do paciente antes e após da transfusão. (2)

Ainda pode ocorrer transmissão de agentes virais através das transfusões; e o primeiro fator que contribui para esses riscos são as doações sanguíneas durante o período de janela imunológica, que é um estágio precoce da infecção, onde o doador está infectado, mas apresenta resultados negativos nos testes de triagem sorológica. (2)

Recentemente, o NAT (teste de ácido nucléico) tem diminuído o período de janela imunológica do vírus da hepatite C (HCV), de 70 dias usando o teste com anticorpos mais sensível, para 12 dias. (1) No caso do HIV, o período da janela imunológica era de 22 dias e passou para 13 a 15 dias com o NAT. (2) As taxas de transmissão do vírus da hepatite B (HBV) são tão altas quanto às do HIV. (2) A situação é diferente para o HTLV (vírus....), porque não há risco de transmissões através de componentes acelulares, tais como plasma fresco congelado (PFC) ou crioprecipitado, devido a associação do vírus com as células maduras. (2) Além disso, as taxas de transmissão do HTLV através de componentes celulares obtidos de doadores infectados variam de acordo com o período de estocagem do material; não há transmissões documentadas de células sanguíneas vermelhas estocadas por mais de 14 dias. (2)

Além do período de janela imunológica, outros fatores contribuem para a transmissão transfusional desses vírus; como: a existência de um estado crônico em que o doador se apresenta clinicamente assintomático e com persistência de resultados negativos nos testes com anticorpos na triagem; falha dos testes de triagem na detecção de vírus mutados e diferentes geneticamente; e erro laboratorial. (2)

Conclusão

O NAT é uma tecnologia desenvolvida para a detecção de ácidos nucleicos virais no período da janela imunológica ou fase inicial da infecção que precede a produção sistêmica de anticorpos. A Tecnologia de Amplificação de Ácidos Nucléicos (NAT) permite diminuir o risco residual transfusional para estes patógenos, reduzindo a janela de detecção destes vírus em doadores de sangue se comparado com os testes sorológicos (ELISA anticorpo ou antígeno ou testes ELISA combinados). Diferente dos testes sorológicos, o ensaio NAT não detecta a presença de anticorpos e sim o material genético do vírus, reduzindo a janela imunológica no caso do HIV de 20-22 dias para 10 dias e HCV de 70 dias para 11 dias o que diminuiria o risco da janela imunológica, que apesar de múltiplos teste ainda apresenta risco na hemoterapia.

Referências Bibliográficas

- 1- Soerensen R. Doenças transmissíveis por transfusão de sangue e derivados. In: Soerensen B, Os riscos da transfusão sanguínea. 1thed. São Paulo: Sarvier; 1995. p 45-61.
- 2- Ferreira AW, Ávila SLM. Sorologia: importância e parâmetros. In: Ferreira AW, Ávila SLM, Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2thed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p 1-8.
- 3- Sanchez MCA. Testes sorológicos. In: Ferreira AW, Ávila SLM, Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2thed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p 9-48.
- 4- McAdam AJ, Sharpe AH. Doenças infecciosas. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Robbins & Cotran Patologia – Bases patológicas das doenças. 7thed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p 357-432.
- 5- Camargo ME. Sífilis. In: Ferreira AW, Ávila SLM, Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2thed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p 215-20.
- 6- Rotta O. Diagnóstico sorológico da sífilis. An Bras Dermatol. 2005; 80 (3): 299-302.

- 7- Ferreira AW, Ávila SLM. Doença de Chagas. In: Ferreira AW, Ávila SLM, Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2thed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p 241-9.
- 8- Crawford JM. Fígado e trato biliar. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Robbins & Cotran Patologia – Bases patológicas das doenças. 7thed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p 919-82.
- 9- Sáez-Alquézar A, Bassit L, Sabino EC. Hepatites virais. In: Ferreira AW, Ávila SLM, Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2thed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p 74-91.
- 10 - Kleinman, S. Transfusion-transmitted infection risk from blood components and plasma derivates. In: Simon TL, Dzik WH, Snyder EL, Stowell CP, Strauss RG, Rossi's principles of transfusion medicine. 3thed. Lippincott Willians & Wilkins; 2002. p 703-17.