

M

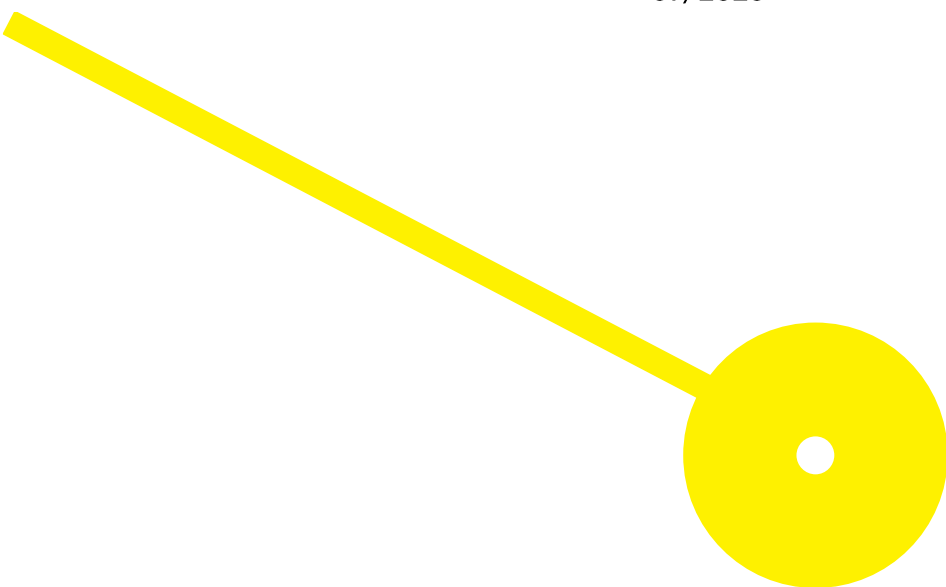
MESTRADO

Análises Clínicas e Saúde Pública - Imunohemoterapia e Transplantação

Aloimunização tardia nos doentes transfundidos na Região Autónoma da Madeira

Ana Sofia Rodrigues Lobo

07/2020



Aloimunização tardia nos doentes transfundidos na Região Autónoma da Madeira

Autor

Ana Sofia Rodrigues Lobo

Orientador

Maria Manuela Amorim de Silva e Sousa

Professor Especialista Análises Clínicas e Saúde Pública da ESS|PPorto

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em **Análises Clínicas e Saúde Pública – Área de Especialização em Imunohemoterapia e Transplantação** pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

Agradecimentos

A realização desta dissertação de mestrado contou com importantes apoios e incentivos motivacionais, todos essenciais para o meu sucesso na realização da mesma.

Ao Doutor João Daniel Meirinho Henriques de Moura, pela sua orientação, total apoio, disponibilidade, pelo saber que transmitiu, pelas opiniões e críticas que levaram à realização desta dissertação.

A toda a equipa docente pela sua orientação, participação e colaboração, porque sem eles não seria possível a realização deste trabalho.

Resumo

Introdução: A transfusão de eritrócitos é a base para o tratamento de doentes com hematopoiese comprometida e para doentes com perdas significativas de sangue. Após a transfusão de eritrócitos, existe contacto com antigénios, nomeadamente, estruturas de polissacarídeos e proteínas, que podem ser diferentes do recetor, originando um reconhecimento por parte do sistema imunológico. Neste contexto, o organismo do recetor, ao não reconhecer como próprios estes antigénios eritrocitários, desencadeia o processo de formação de anticorpos, designado por aloimunização.

Objetivos: O presente estudo tem como principal objetivo detetar a incidência acumulada de doentes aloimunizados por transfusão na Região Autónoma da Madeira (RAM). Compreende ainda descrever a frequência dos anticorpos responsáveis pela aloimunização bem como caracterizar a população alvo em relação a idade, sexo, grupo sanguíneo, patologias associadas e história transfusional prévia.

Metodologia: Realizou-se um estudo descritivo transversal aos registos clínico-laboratoriais de doentes aloimunizados, entre janeiro de 2016 e dezembro de 2019, no Serviço de Sangue e Medicina Transfusional do Hospital Doutor Nélio de Mendonça, na Região Autónoma da Madeira (RAM). Foram excluídos doentes cujo resultado do teste de antiglobulina indireta (TAI) foi positivo na primeira determinação na RAM, doentes com anemia hemolítica autoimune e imunizações por gravidez.

Resultados: A incidência acumulada de doentes aloimunizados foi de 1,05%, sendo o anticorpo mais frequente o anti- K (15,9%). A população em estudo é mais frequente do sexo feminino (59%), com uma média de idades de 69 ($\pm 13,63$) anos. O grupo de sangue ARhD positivo é o mais frequente, seguindo-se do ORhD positivo. A patologia hemato oncológica é a que apresenta uma maior frequência nos doentes aloimunizados, com uma média de 6,66 ($\pm 6,79$) transfusões de concentrados de eritrócitos por doente. A nível global o número médio de transfusões após o qual ocorre aloimunização é de 6,91 ($\pm 7,55$).

Conclusões: O presente estudo demonstrou que a aloimunização tardia na RAM apresenta uma incidência de acordo com o esperado. Contudo, tornou possível evidenciar que na realização dos testes pré-transfusoriais, a seleção do concentrado de eritrócitos a compatibilizar deve de ser sempre baseada no sistema ABO e RH mas também nos diversos sistemas de grupos sanguíneos com significado clínico.

Palavras-chave: Aloimunização, Transfusão, Anticorpos, Antigénios, Grupos sanguíneos com significado clínico, Respondedores

Abstract

Introduction: Erythrocyte transfusion is the basis for the treatment of patients with compromised hematopoiesis and for patients with significant blood loss. After the transfusion of erythrocytes, there is contact with antigens, namely polysaccharide structures and proteins, which may be different from the receptor, giving rise to recognition by the immune system. In this context, the recipient's body, by not recognizing these erythrocyte antigens as its own, triggers the antibody formation process, called alloimmunization.

Objectives: The main objective of this study is to detect the cumulative incidence of patients alloimmunized by transfusion in the Autonomous Region of Madeira (AMR). It also includes describing the frequency of antibodies responsible for alloimmunization as well as characterizing the target population in relation to age, gender, blood group, associated pathologies and previous transfusion history.

Methodology: A descriptive cross-sectional study was conducted on the clinical-laboratory records of alloimmunized patients, between January 2016 and December 2019, at the Blood and Transfusion Medicine Service of the Hospital Doutor Nélio de Mendonça, in the Autonomous Region of Madeira (AMR). Were excluded patients whose result of the indirect antiglobulin test (IAT) was positive in the first determination in ADR, patients with autoimmune hemolytic anemia and immunizations by pregnancy.

Results: The cumulative incidence of alloimmunized patients was 1.05%, with the most frequent antibody being anti-K (15.9%). The study population is more frequent female (59%), with a mean age of 69 (± 13.63) years. The ArhD positive blood group is the most frequent, followed by positive RhD. Hemato-oncologic pathology is the most frequent in alloimmunized patients, with an average of 6.66 (± 6.79) transfusions of erythrocyte concentrates per patient. Overall, the average number of transfusions after which alloimmunization occurs is 6.91 (± 7.55).

Conclusions: The present study demonstrated that late alloimmunization in AMR has an incidence as expected. However, it made it possible to show that in the performance of pre-transfusion tests, the selection of the erythrocyte concentrate to be compatible must be based on the ABO and HR system but also on the various systems of blood groups with clinical significance.

Keywords: Alloimmunization, Transfusion, Antibodies, Antigens, Blood groups with clinical significance, Responders

Índice

1.	Introdução.....	1
1.1	Sangue.....	4
1.2	Grupos Sanguíneos.....	8
1.4	Laboratório de Imunohematologia.....	18
1.5	Perspetiva futura para a aloimunização tardia.....	22
2.	Objetivos.....	23
3.	Metodologia.....	24
4.	Resultados.....	25
5.	Discussão.....	31
6.	Conclusão.....	33
	Referências Bibliográficas.....	35

Índice de Figuras

Figura 1: Hematopoiese	4
Figura 2: Componentes sanguíneos	5
Figura 3: Esquema do gene RH	10
Figura 4: Esquema da Glicoprotéina do Sistema Kell.....	12
Figura 5: Esquema da glicoproteína do Sistema Kidd.....	13
Figura 6: Esquema da glicoprotéina do Sistema Duffy.....	14
Figura 7: Esquema da glicoprotéina do Sistema MNSs.....	15
Figura 8: Teste de Antiglobulina Humana.....	19

Índice de Tabelas

Tabela 1: Compatibilidade de grupo sanguíneo ABO do Concentrado de Eritrócitos	6
Tabela 2: Compatibilidade do grupo ABO no Concentrado de Plaquetas	7
Tabela 3: Compatibilidade do grupo ABO no Plasma Fresco Congelado.....	8
Tabela 4: Configuração do genótipo e fenótipo Sistema ABO.....	9
Tabela 5: Distribuição do perfil antigénico Rh em indivíduos de raça caucasiana.....	11
Tabela 6: Distribuição do perfil antigénico do Sistema Kell em indivíduos de raça caucasiana....	13
Tabela 7: Distribuição do perfil antigénico do Sistema Kidd em indivíduos de raça caucasiana...14	
Tabela 8: Distribuição do perfil antigénico do Sistema MNSs em indivíduos de raça caucasiana15	
Tabela 9: Características dos diferentes meios laboratoriais de identificação	20
Tabela 10: Atividade serológicas dos principais anticorpos em estudo.....	21
Tabela 11: Atividade serológica dos anticorpos em estudo.....	22
Tabela 12: Taxas de aloimunização e caraterísticas da população ⁽⁷⁾	23
Tabela 13: Média de idades da população em estudo	25
Tabela 14: Frequência de Aloanticorpos detetados no estudo	27
Tabela 15: Média de Transfusões das diferentes Patologias	30

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Distribuição por género da população em estudo	25
Gráfico 2: Distribuição por perfil ABO Rh da população em estudo.....	26
Gráfico 3: Doentes Transfundidos com CE na RAM.....	26
Gráfico 4: Resultados de TAD.....	28
Gráfico 5: Frequência de Reação Transfusional notificadas.....	28
Gráfico 6: Resultados da Resposta Imune dos doentes aloimunizados ao fim de 3 meses	29
Gráfico 7: Distribuição dos diferentes quadros clínicos.....	29

Lista de Siglas e Abreviaturas

AGH	Antiglobulina Humana
ASST	Autoridade para os Serviços de Sangue e Transplantação
CAA	Células Apresentadoras de Antígeno
CE	Concentrado de Eritrócitos
CID	Coagulação Intravascular Disseminada
CP	Concentrado de Plaquetas
CPD	Citrato, fosfato e dextrose
DHRN	Doença Hemolítica do Recém-Nascido
DTT	Ditiotreitol
EBA	Aliança de Sangue Europeu, do inglês <i>European Blood Alliance</i>
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Administração de Medicamentos e Alimentos, do inglês Food and Drug Administration</i>
GP	Glicoforina
IPST	Instituto Português de Sangue e Transplantação
ISBT	Sociedade Internacional de Transfusão de Sangue, do inglês <i>International Society of Blood Transfusion</i>
LISS	Meio salino de baixa força iónica, do inglês Low Ionic Strength Saline

MHC	Complexo Major de Histocompatibilidade, do inglês <i>Major histocompatibility complex</i>
HLA	Antigénio Leucocitário Humano, do inglês <i>Human Leukocyte antigen</i>
PEG	Polietilenoglicol
PFC	Plasma Fresco Congelado
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
RAM	Região Autónoma da Madeira
RCB	Recetores das células B
RCT	Recetores das células T
RT	Reação Transfusional
SHOT	Riscos graves de transfusão, do inglês <i>Serious Hazards of Transfusion</i>
SMD	Síndrome Mielodisplásico
SPHV	Sistema Português de Hemovigilância
SRS	Serviço Regional de Saúde
TAD	Teste de Antiglobulina Direto
TAI	Teste de Antiglobulina Indireto

1. Introdução

A Região Autónoma da Madeira (RAM), pertence à república Portuguesa, localiza-se no Oceano Atlântico e é constituída por um conjunto de Ilhas: Ilha da Madeira, Ilha do Porto Santo, Ilhas Selvagens e Deserta. Só a Ilha da Madeira e de Porto Santo são habitadas e têm um contacto direto com todos os integrantes do Serviço Regional de Saúde (SRS) através dos Centros de Saúde e Hospitais.

O Serviço de Sangue e Medicina Transfusional da RAM localiza-se no Hospital Dr. Nélio Mendonça, é constituído por duas áreas reguladas e inspecionadas de acordo com os requisitos das diretivas da União Europeia e do Decreto-lei 267/2007 de 24 de Julho, seguindo as competências da Autoridade para os Serviços de Sangue e Transplantação (ASST). A área de Serviço de Sangue na RAM é responsável pela colheita, análise dos componentes sanguíneos bem como pelo seu processamento e armazenamento. Todos estes procedimentos realizam-se em espaços físicos específicos e especializados, nomeadamente, sala de colheitas, laboratório de Virologia, laboratório de Imunohematologia, laboratório de fracionamentos e zona de armazenamento. Toda esta área centraliza-se no dador e na sua dádiva, contudo o dador para ser admissível tem que ter entre 18 e 65 anos, sendo que para dádivas de primeira vez tem que ter no máximo 60 anos, valor de hemoglobina para dadores do sexo masculino superior ou igual a 135g/l e do sexo feminino superior ou igual a 125g/l. Peso corporal superior ou igual a 50 kg e quantificação plaquetária valor igual ou superior a 150.000. Contudo, com o objetivo de maximizar toda a segurança da dádiva, o dador ainda responde a um inquérito, que tem por base o despiste de determinados comportamentos de risco, avaliando possíveis contactos a agentes infecciosos, bem como patologias que o possam impossibilitar de prosseguir para a dádiva. Segue-se uma entrevista com um médico especialista em imunohemoterapia, a fim de avaliar a sua admissibilidade como dador, vinculando toda a importância cívica do ato a realizar. Posteriormente, o dador segue para a sala de colheitas, onde decorre a identificação do dador e posterior colheita de 450-500ml de sangue total para um saco estéril com 63 ml de solução anticoagulante com citrato, fosfato e dextrose, o CPD, o qual permite a conservar a colheita de forma a manter a viabilidade e a função de cada constituinte celular. Associadamente, o sistema de colheita também permite recolher os tubos de análise essenciais para análises de virologia e de imunohematologia. O sangue total segue para o laboratório de fracionamento para ser fracionado nos diferentes constituintes: Eritrócitos, Plaquetas e Plasma Fresco, e são posteriormente armazenados. As amostras, colhidas durante a dádiva, seguem para o laboratório de virologia no qual são submetidas aos testes serológicos e de biologia molecular para rastreio/diagnóstico de Hepatite B, Hepatite C, Virus da Imunodeficiência Humana (HIV) e Sífilis. Quando o dador efetua a sua primeira dádiva, para além dos testes anteriormente referidos, realiza-se o teste serológico do Vírus linfotrópico humano (HTLV). No laboratório de Imunohematologia realizam-se as análises de imunohematologia para a determinação dos grupos sanguíneos ABO e RH, bem como o teste de antiglobulina indireto (TAI) a todas as dádivas. A área

da Medicina Transfusional na RAM é responsável pela distribuição e disponibilização dos componentes sanguíneos, bem como a realização de testes pré-transfusionais, realizada no laboratório de Imunohematologia. Esta área tem como objetivos verificar a prescrição e realizar os testes pré-transfusionais, avaliar a compatibilidade imunológica entre o dador e o recetor, selecionar o componente sanguíneo adequado para cada condição clínica, entregar e manusear de forma segura o sangue e componentes sanguíneos ao serviço prescritor e gerir o inventário de componentes. A finalidade é ter capacidade de dar uma resposta adequada, segura e rápida aos pedidos urgentes e de rotina de sangue e seus derivados a transfundir aos doentes, com base na garantia da qualidade do serviço prestado⁽¹⁾⁽²⁾.

A gestão do Serviço de Sangue e Medicina Transfusional, do Hospital Dr. Nélio Mendonça, tem desenvolvido estratégias para permitir a sua autossuficiência em todos os componentes sanguíneos, através de ações de sensibilização e marketing na população, com o objetivo de angariar o maior número de dadores e fidelizá-los.

A transfusão de eritrócitos é a base para o tratamento de doentes com hematopoiese comprometida e/ou perdas sanguíneas significativas. Após a transfusão de eritrócitos, existe contacto com antigénios, nomeadamente, estruturas de polissacarídeos e proteínas, que podem ser diferentes do recetor, originando um reconhecimento por parte do sistema imunológico.

✓ **Antigénios**

Antigénios são substâncias solúveis que podem ter especificidade para um anticorpo ou para os recetores das células T (RCT). Estes podem ser completos e têm a capacidade de induzir resposta imune específica, ou seja, têm imunogenicidade. Também podem ser incompletos os quais apenas têm a capacidade de interagir com os anticorpos e RCT, mas não tem capacidade de desenvolver uma resposta imunológica. Os antigénios encontram-se na superfície dos eritrócitos e das plaquetas e tem a capacidade de originar resposta imunológica, daí a sua importância na prática transfusional. Para os antígenos eritrocitários, quanto maior for a molécula maior será o número de epítomos, ou seja, mais locais capazes de gerar resposta imune. Acresce ainda referir que quanto maior for a sua complexidade, maior será a imunogenicidade^(3,4).

✓ **Anticorpos**

Os anticorpos são glicoproteínas com função imunitária, sintetizados pelos linfócitos B e plasmócitos. Ao interagirem com antigénios específicos, são responsáveis pela ativação do sistema complemento, fagocitose e citotoxicidade celular. Um anticorpo é constituído por unidades estruturais básicas, cada uma das quais com duas grandes cadeias pesadas e duas cadeias leves, de menor peso molecular. A molécula de anticorpo apresenta a forma de Y. Nas extremidades dos braços do Y estão presentes o fragmento Fab o qual se liga ao antígeno e na base encontra-se o fragmento Fc. São conhecidas cinco classes de isotipos, as quais diferem na configuração da cadeia pesada e, conseqüentemente, tem funções diferentes na

defesa do organismo: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. Anticorpos da classe IgA encontram-se nas secreções e tem a função de proteção viral e bacteriana; os da classe IgD encontram-se na membrana plasmática de linfócitos B imaturos e são normalmente expressos com os anticorpos IgM; e os da classe IgE encontram-se na membrana dos basófilos e mastócitos, desencadeando principal papel na imunidade contra parasitas e em quadros alérgicos. Na Imunohemoterapia tem vital importância o estudo dos anticorpos do tipo IgG e IgM. O anticorpo do tipo IgG tem estrutura monomérica, é o principal anticorpo das respostas imunes e é capaz de atravessar a placenta. Tem uma atividade ótima a 37°C, o que os torna anticorpos com significado clínico. Por fim, os anticorpos do tipo IgM tem uma estrutura pentamérica, o que o impossibilita de atravessar a placenta, e são reconhecidos como anticorpos precoces, pois estão presentes nas fases agudas. Têm uma atividade ótima a 4°C, o que os torna anticorpos de baixo significado clínico, contudo quando presentes a 37°C desencadeiam quadros severos de reações transfusionais^(3,4).

✓ Reações transfusionais

Reações transfusionais são efeitos adversos que podem ocorrer na sequência de uma transfusão, sendo a detecção precoce essencial para evitar mortalidade e morbidade. Os sintomas mais comuns são calafrios, febre, dispneia, urticária e dor lombar, os quais devem de ser imediatamente comunicados ao serviço de sangue e a transfusão interrompida. No serviço de sangue toda a rastreabilidade deve de ser efetuada bem como repetição dos testes pré-transfusionais com a amostra pré-reação e com a amostra pós-reação. Tendo em conta que estas reações podem ser hemolíticas, mais graves, ou não hemolíticas, menos graves, a realização de um Teste de Antiglobulina Direto (TAD) é essencial para avaliar a presença de hemólise *in vivo*. As reações transfusionais hemolíticas podem ser imediatas ou tardias, assunto que irá ser abordado mais a frente neste trabalho.

A aloimunização pode decorrer como consequência de uma transfusão, transplante ou gestação. Relativamente á exposição durante a gestação, antigénios paternos presentes na circulação fetal estimulam uma resposta imunogénica materna. Como consequência fetal poderá decorrer a Doença Hemolítica do Recém Nascido (DHRN), onde os principais anticorpos responsáveis são por ordem decrescente de importância o anti-D, anti-c e anti-K, seguidos pelos anti-C, anti-E, anti-e, anti-Fy^a e anti-Jk^a ⁽⁵⁾. Por outro lado, na aloimunização por transfusão de componentes sanguíneos a administração de um ou mais componentes de um dador ao recetor, pode desencadear ativação de vários mecanismos efetores que resultam em proteção do mesmo, com formação de anticorpos, anticorpos anti eritrocitários ou aloanticorpos. A aloimunização ocorre em, aproximadamente, 0,3 a 2% da população em geral. Sendo que o risco de aloimunização é de 1% por unidade transfundida, aumentando nos doentes politransfundidos e com patologias hemato-oncológicas, nomeadamente, Síndrome Mielodisplásico (SMD)⁽⁶⁾.

Segundo dados da *Food and Drug Administration* (FDA), nos Estados Unidos da América (EUA) as reações

transfusionais que envolveram anticorpos sem serem do Sistema ABO foram a segunda causa de mortalidade associada a transfusões entre 2005 e 2013 ⁽⁷⁾.

Na Europa, a *European Blood Alliance* (EBA) realiza a comparação das atividades de serviços de 19 países membros. No Reino Unido, nos dados obtidos pela *Serious Hazards of Transfusion* (SHOT), organização independente de Hemovigilância, observou-se entre 2010 e 2018 uma taxa de mortalidade de 8,3% associada a Reações Transfusionais Hemolíticas, englobando as reações transfusionais tardias ⁽⁶⁾. Em Portugal, dados obtidos entre 2009 e 2017, pelo Instituto Português de Sangue e Transplantação (IPST), evidenciam a existência de 186 notificações referentes a reações transfusionais hemolíticas tardias ⁽⁸⁾.

1.1 Sangue

Um adulto tem em média seis litros de sangue no seu organismo cujos constituintes celulares são provenientes da maturação das células na medula óssea, hematopoiese. Inicialmente são células tronco que se diferenciam em duas linhagens, mieloide e linfóide, as quais se distinguem em dez tipos de células especializadas. Ocorre a maturação de ambas as linhagens, evoluindo para células maduras diferenciadas, as quais têm a capacidade de se regenerar, de forma a reaparecer novas células a cada segundo (Figura 1)⁽⁹⁾.

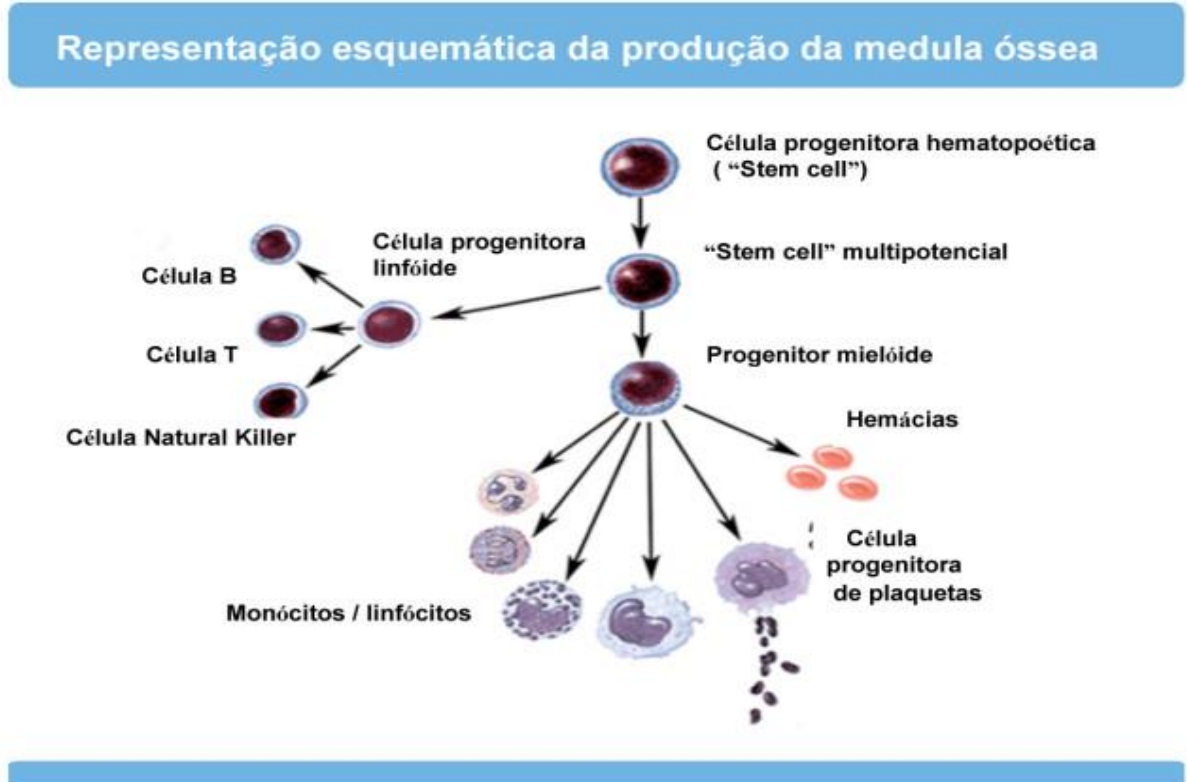


Figura 1: Hematopoiese

Fonte: <http://www.hospitalingles.com.br/transplante-medula-ossea/>

A hematopoiese é um processo de formação, desenvolvimento e maturação dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas a partir de uma célula tronco, as quais se encontram na medula óssea do indivíduo adulto. Em situações onde existe o comprometimento de uma correta hematopoiese, em que esteja implicado o transporte de oxigénio/dióxido de carbono e/ou para evitar e/ou corrigir distúrbios hemorrágicos ou de coagulação, é necessária uma terapia de suporte para repor os componentes do sangue em falta. Inicialmente, a terapia de suporte ou substitutiva utilizava o sangue total. No entanto, a evolução do conhecimento tecnológico e clínico tornou possível o fracionamento do sangue total. Assim, passou a ser possível utilizar os seus componentes de acordo com a indicação clínica, diminuindo riscos e melhorando a qualidade da intervenção. A diferenciação física dos três principais tipos de componentes sanguíneos, eritrócitos, plaquetas e plasma fresco, relaciona-se com os seus diferentes gradientes de densidade. Assim, após uma centrifugação os eritrócitos que têm uma maior densidade ficam no fundo do saco de colheita, seguem-se as plaquetas e leucócitos, e mais à superfície o plasma onde estão presentes os anticorpos, albumina, fatores de coagulação e imunoglobulina (Figura 2)⁽⁹⁾.

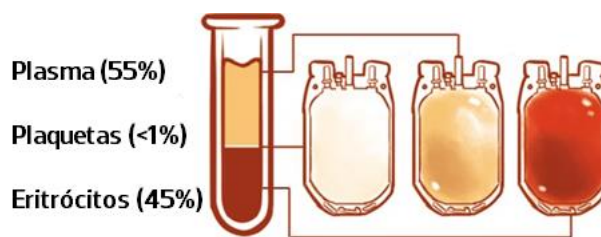


Figura 2: Componentes sanguíneos

Imagem adaptada

Fonte: <https://www.gazetadopovo.com.br/vida-e-cidadania/doacao-de-sangue-ficou-mais-inteligente-dltq2sbu8gh85f9uf4orsn34q/>

Os leucócitos são células diversificadas desde o núcleo ao citoplasma, desempenham a função de circular no sangue até serem estimulados quando em contacto com antígenos estranhos, desencadeando uma resposta imune protetora do organismo. Atualmente, os componentes sanguíneos são desleucocitados, na maior parte dos países da União Europeia, através do uso de filtros que irão reter os leucócitos para um nível inferior a um milhão por componente. A nível da medicina transfusional a desleucocitação permite a redução da aloimunização para antígenos do sistema leucocitário humano (HLA) e redução do risco de transmissão de vírus, como o citomegalovírus (CMV). Esta medida foi implementada em Portugal através da norma nº 009/CN-IPS/97 de 10 de Dezembro de 1997, a qual torna obrigatório a desleucocitação, medida de prevenção para eventual de contaminações por agentes causadores de encefalopatias espongiiformes transmissíveis entre outros^(3,9-13).

Além da avaliação dos leucócitos residuais, são executados periodicamente vários parâmetros de analíticos de forma a garantir toda a qualidade dos componentes sanguíneos administrados, os quais seguem as recomendações do Guia para a preparação, uso e controlo de qualidade de componentes sanguíneos, descrito pelo Comité Europeu. Os parâmetros analisados pelo laboratório de qualidade vão

deste a temperatura de transporte das unidades colhidas até ao fracionamento, medição do pH, avaliação da hemólise, avaliação do hematócrito, doseamento de FVIII e do fibrinogénio e o controlo microbiológico. Na presença de qualquer não conformidade num destes parâmetros a unidade é eliminada, e é avaliada a sua possível causa⁽⁹⁾.

- **Concentrado de eritrócitos**

Os eritrócitos são as células mais abundantes no sangue, e tem uma semivida *in vivo* de 120 dias, período a partir do qual as células senescentes ou danificadas são removidas da circulação pelo fígado e baço. São células essenciais para o transporte de oxigénio, visto armazenarem hemoglobina, proteína de ligação ao oxigénio, e nutrientes para as restantes células e tecidos do organismo⁽¹¹⁾.

O concentrado de eritrócitos (CE) é um componente derivado de uma dádiva de sangue total, contendo eritrócitos desleucocitados. Este é obtido por dádiva de sangue total após centrifugação, método utilizado na RAM, ou por aférese. É o componente do sangue mais transfundido na RAM e podem ter uma validade até 42 dias, armazenados entre 4 a 6° C. Em média na RAM, são transfundidos cerca de 5000 CE por ano, os quais visam a otimização da hemoglobina pela capacidade de transporte de oxigénio^(8,9,12).

A transfusão de CE deve de respeitar a compatibilidade sanguínea do sistema ABO (tabela 1), onde o grupo sanguíneo ABO do CE do dador deverá ser compatível com o do plasma do recetor⁽³⁾.

Tabela 1: Compatibilidade de grupo sanguíneo ABO do Concentrado de Eritrócitos

Grupo Recetor	Grupo Dador			
	1ª linha	2ª linha	3ª linha	4ª linha
A	A	O		
B	B	O		
AB	AB	A	B	O
O	O			

Relativamente à compatibilidade do sistema RhD, um CE RhD positivo pode ser administrado a um doente RhD positivo e poderá ser administrado a um doente RhD negativo em algumas situações de exceção (ex. rutura de inventário de componentes em que o doente não é nem mulher em idade fértil, nem criança, nem tem presente em circulação anticorpo anti-D). Por outro lado, um CE RhD negativo pode ser administrado a qualquer doente, seja RhD positivo seja negativo. Contudo, atualmente devido ao conhecimento sobre as aloimunizações, todos os antígenos do sistema RH e Kell (C, c, E, e, K) deverão de ser respeitados, principalmente em doentes politransfundidos, com patologias hematológicas e oncológicas e mulheres em idade fértil, temática que irá ser abordada ao longo do trabalho. Assim, as unidades de CE deverão de ser fenotipicamente de grupos ABO, RH e Kell compatíveis^(14,15).

- **Concentrado de Plaquetas**

As plaquetas são componentes celulares derivados da linhagem megacariocítica cuja função essencial é a hemostase primária, com a formação do tampão plaquetário. A trombopoietina, produzida principalmente no fígado, estimula a medula óssea a produzir megacariócitos que, por sua vez, sintetizam plaquetas a partir do seu citoplasma. Cerca de um terço das plaquetas estão armazenadas no baço (11).

A transfusão de plaquetas, visa o tratamento ou prevenção de hemorragias em doentes com défice quantitativo ou qualitativo de plaquetas. Os concentrados de plaquetas (CP) utilizados podem ser obtidos por vários métodos, como aférese, *buffy-coat* e plasma rico em plaquetas (PRP). O método utilizado na RAM é o PRP onde iremos obter um concentrado de plaquetas standard do seguinte modo: a unidade de sangue total é centrifugada a baixa rotação, para que a quantidade ideal de plaquetas permaneça no plasma e a quantidade de eritrócitos e leucócitos fique reduzida. Obter-se-á um CP com validade até cinco dias em agitação contínua a uma temperatura de 22°C (±2°C), ideal para transfusões pediátricas. Contudo, nos adultos, de forma a perfazer o nível terapêutico ideal deverá ser administrada em forma de pool de plaquetas, a qual deverá conter entre quatro a seis concentrados de plaquetas ^(3,9,16).

A administração de CP deverá de ser uma transfusão isogrupal ou compatível no sistema ABO (tabela 2)⁽³⁾.

Tabela 2: Compatibilidade do grupo ABO no Concentrado de Plaquetas

Grupo Recetor	Grupo Dador			
	1ª linha	2ª linha	3ª linha	4ª linha
A	A	AB	B	O
B	B	AB	B	O
AB	AB	A	B	O
O	O	A	B	AB

- **Plasma Fresco Congelado**

O plasma fresco congelado (PFC) é constituído por água, iões, albumina, fatores de coagulação e imunoglobulinas. A sua transfusão visa a correção de anomalias ao nível da hemóstase secundária. Este componente pode ser obtido por aférese ou por método de separação após colheita de sangue total, método realizado na RAM. O método de separação dos componentes do PFC relaciona-se com as diferentes centrifugações e tempo de congelação. Deve ser congelado até 6h após o seu processamento a uma temperatura de -60°C (±5), com o intuito de manter os fatores de coagulação e uma validade de 2 anos. Contudo, só é feito a recolha de plasma a dadores do sexo masculino e com dádivas frequentes, pois este necessita de ficar pelo menos 6 meses congelado, quarentena, antes de ser libertado para os disponíveis, devido ao período de janela de certas patologias, ou seja, é necessário, pelo menos, duas

dávias subsequentes com marcadores virais negativos. Se estiverem cumpridos os critérios os PFCs de quarentena passam para as arcas dirigidas aos PFCs disponíveis^(3,17).

O PFC congelado pode ser fracionado em Plasma Isento de Crio e Crioprecipitado, os quais devido ao processo de descongelamento do plasma inicial tem níveis de fatores de coagulação mais reduzidos, nomeadamente FV e FVIII. O crioprecipitado é um derivado de plasma com alto peso molecular de proteínas que precipitam no frio, nomeadamente Fv_w, FVIII, FXIII e fibrinogénio. A sua transfusão visa a correção de hemorragias por anomalias ou défices isolados dos fatores^(3,17).

Na administração de PFC deverá de ser observada a compatibilidade no grupo ABO, ou seja, o plasma do dador tem de ser compatível com os eritrócitos do recetor (tabela 3)⁽³⁾.

Tabela 3: Compatibilidade do grupo ABO no Plasma Fresco Congelado

Grupo Recetor	Grupo Dador			
	1ª linha	2ª linha	3ª linha	4ª linha
A	A	AB	B	O
B	B	AB	B	O
AB	AB	A	B	O
O	O	A	B	AB

1.2 Grupos Sanguíneos

Todas as células têm marcadores de superfície que as diferenciam, nomeadamente pela presença de determinados antígenos. Os eritrócitos apresentam na sua superfície extracelular proteínas de superfície, antígenos, muitas deles são polimórficas que configuram os diferentes grupos sanguíneos. A maioria dos antígenos de grupo sanguíneo são glicoproteínas e sua especificidade é principalmente determinada pelo oligossacarídeo ou pela sequência de aminoácidos. Os 38 sistemas de grupo sanguíneo humano foram identificados e sequenciados e todos os polimorfismos são agora conhecidos. A maioria dos polimorfismos de grupo sanguíneo resulta de polimorfismos de nucleotídeo único que codificam substituições de aminoácidos em uma glicosiltransferase ou domínio extracelular de uma proteína da membrana dos eritrócitos. Mais de 250 antígenos são conhecidos e estão organizados em 38 sistemas de grupos sanguíneos reconhecidos pela Sociedade Internacional de Transfusão de Sangue (ISBT)^(2,11,18). Os antígenos eritrocitários podem ser classificados tendo em conta a sua função. Podem ser proteínas estruturais, onde o representante é os antígenos do sistema do grupo sanguíneo Gerbich, estruturais e de transporte, como os antígenos do sistema do grupo sanguíneo RH, de transporte, como os antígenos do sistema do grupo sanguíneo Kidd, recetores de adesão, como os antígenos do sistema do grupo

sanguíneo Duffy, enzimática, como antígenos do sistema do grupo sanguíneo Kell. Num processo transfusional, um doente que recebe uma transfusão de eritrócitos que expressem antígenos diferentes do próprio, pode ou não ativar o seu sistema imune e desencadear uma aloimunização. Assim, garantir que as transfusões são realizadas com a compatibilidade não só relativamente ao grupo sanguíneo ABO, mas também dos restantes sistemas sanguíneos é fundamental para aumentar a segurança transfusional e evitar a formação de anticorpos com significado clínico^(11,18).

✓ Sistema ABO

O sistema ABO foi descoberto por Karl Landsteiner, em 1900, através de experiências em que com os eritrócitos isolados de uns indivíduos os fez reagir com o soro de outros indivíduos. Ao longo destas experiências observou o fenómeno de aglutinação que ocorria em alguns casos, enquanto que estava ausente em outros casos, o qual foi explicado pela configuração das cadeias de hidratos de carbono presentes na membrana extracelular das células vermelhas, células endoteliais e células epiteliais. Por exemplo, verificou que o soro de um indivíduo do grupo A aglutinava com os eritrócitos de um indivíduo do grupo B, devido à presença de isoaglutininas B, e que o soro de um indivíduo do grupo B aglutinava com os eritrócitos de um indivíduo do grupo A, devido à presença de isoaglutininas A. Evidenciou assim a presença de dois grupos sanguíneos A e B. Por último, identificou o grupo O, o qual não continha nenhum antígeno, mas sim as isoaglutininas anti-A e anti-B e não aglutinava nem com indivíduos do grupo A nem do grupo B⁽⁶⁾. Só em 1902 é que foram descobertos os antígenos A e B, denominado grupo AB por Von Descatello e Sturlir nos eritrócitos de indivíduos e nos seus soros a ausência das isoaglutininas anti-A e anti-B. Todos os antígenos do sistema ABO são de extrema importância para garantir a segurança na medicina transfusional e na transplantação (tabela 4). Os antígenos deste grupo sanguíneo já estão desenvolvidos à nascença. Os anticorpos desenvolvidos do sistema ABO são anticorpos naturais, isoaglutininas, os quais não precisam de exposição prévia para sintetizar. O estímulo para a maioria desses anticorpos permanece obscuro, semelhanças antigénicas de fatores ambientais ou substâncias microbianas com antígenos podem dar origem a sua produção⁽¹⁹⁾. O seu desenvolvimento decorre após seis primeiros meses de vida, atingindo um elevado título de anticorpo pelos 2 anos de idade⁽⁷⁾.

Tabela 4: Configuração do genótipo e fenótipo Sistema ABO

Genótipo	Fenótipo	Antígeno	Anticorpo
I ^A I ^A – I ^A i	A	A	B
I ^B I ^B – I ^B i	B	B	A
I ^A I ^B	AB	A + B	-----
ii	O	-----	A + B

Os antígenos expressos na membrana dos eritrócitos determinam os grupos sanguíneos de cada indivíduo, sendo os principais pertencentes ao sistema ABO e RH. Os restantes sistemas sanguíneos são capazes de produzir anticorpos com significado clínico, que podem provocar reações transfusionais com consequências fisiológicas que vão de leves a graves. Assim, são essenciais para evitar aloimunizações em doentes, com um maior risco, como por exemplo, doentes com doenças hematológicas e/ou oncológicas que necessitam de transfusões frequentes ⁽³⁾.

De entre os 38 grupos sanguíneos e 600 antígenos descobertos desde 1940, muitos são estudados tendo em conta a sua ação no organismo humano. Para obter sucesso transfusional, os antígenos do sistema ABO têm de ser primeiramente respeitados, seguindo-se os antígenos do grupo Rh. Contudo, outros sistemas sanguíneos também desencadeiam papéis importantes a nível transfusional, uns mais significativos que outros. Tendo em conta a temática deste trabalho, os principais sistemas sanguíneos responsáveis pelas aloimunizações pertencem aos sistemas: RH, Kell, Kidd, Duffy, MNSs, os quais serão abordados neste trabalho^(3,20).

✓ Sistema Rh

O sistema RH é o segundo com maior significado clínico. Os antígenos do sistema RH são proteínas com grande capacidade de ativar o sistema imunitário do recetor, criando assim quadros de aloimunização na presença de antígenos no dador não compatíveis com os do recetor. Os genes que codificam os antígenos deste sistema são genes polimórficos, daí a sua complexidade, onde dois genes o RHD e o RHCE, intimamente ligados no cromossoma 1, compartilham 97% de identidade e codificam 416 aminoácidos. O gene RHD codifica o antígeno D, o qual pode estar presente ou ausente resultando num fenótipo RhD positivo ou negativo, e o RHCE codifica o antígeno C/c, E/e resultando em quatro combinações possíveis de fenótipos: ce, Ce, cE ou CE (Figura. 3). A diversidade genética do *locus* RH bem como os antígenos identificados por técnicas moleculares permitiu a descoberta de mais de 275 alelos RHD e 50 alelos RHCE^(11,21,22).

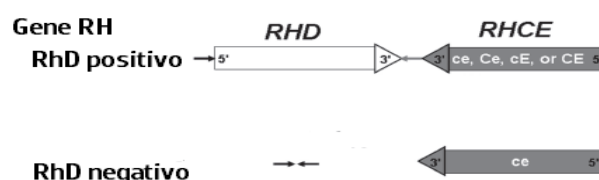


Figura 3: Esquema do gene RH

Imagem adaptada, Fonte: AABB

Atualmente são conhecidos 55 antígenos neste sistema, sendo na medicina transfusional mais relevantes o D, C, c, E, e. De entre estes antígenos a presença do antígeno D, RhD positivo, ou a sua

ausência, RhD negativo, é sempre incluído nos estudos pré-transfusionais para avaliação de compatibilidade e no acompanhamento de gravidez, com o objetivo de avaliar a imunização materna visto o antígeno D ser o mais imunogénico dentro dos antígenos RH e o principal responsável pela DHRN. No caso de uma gravidez, onde a gestante é RhD negativo e o progenitor masculino RhD positivo, é necessária a profilaxia da aloimunização pelo antígeno D, administrando-se soro anti-D. Este soro neutraliza os antígenos fetais em circulação no plasma materno, evitando a sensibilização materna, para que numa próxima gestação de um feto RhD positivo, não haja uma resposta anamnésica com produção de anticorpos do tipo IgG e consequente DHRN. Após uma transfusão, para a produção de anticorpos anti-D é necessária uma primeira exposição, o que se observa quando o recetor for RhD negativo e se for transfundido com antígenos RhD positivos. Assim, a exposição a um antígeno D resulta numa resposta imunológica potente, visto que o gene RHD está ausente num doente RhD negativo. No caso de uma imunização pelo gene RHCE, os antígenos C/c diferem apenas em quatro aminoácidos e os antígenos E/e diferem em um aminoácido. Estes cinco principais antígenos são responsáveis pela maioria das incompatibilidades RH, contudo visto estes genes serem muito polimórficos alguns novos antígenos podem resultar de diversos polimorfismos levando á criação de proteínas híbridas que expressam uma parte de cada gene^(3,15).

Existem variações na prevalência destes antígenos, estando expressos na Tabela 5 a distribuição do perfil antigénico RH em indivíduos de raça caucasiana⁽¹¹⁾.

Tabela 5: Distribuição do perfil antigénico Rh em indivíduos de raça caucasiana

Designação ISBT	Antigénio	Prevalência nos indivíduos de raça caucasiana (%)
RH1	D	85
RH2	C	68
RH3	c	80
RH4	E	29
RH5	e	96

A nível transfusional, os principais antígenos do sistema RH que apresentam maior imunogenicidade, são por ordem decrescente: D>C>E>e. Os resultados de estudos estimam que entre 30% a 85% dos recetores RhD negativos que tenham sido expostos a dadores RhD positivos desenvolveram anticorpo anti-D^(3,11).

✓ Sistema Kell

O sistema Kell foi identificado pela primeira vez em 1946 e é composto por 36 antígenos complexos altamente imunogénicos, como consequência de um *locus* polimórfico. Apresenta dois principais

antigénios o Kell (K) e o antígeno antitético (k) onde as suas proteínas diferem apenas numa mutação no exão 6 levando à alteração de um aminoácido (metionina no KEL1 e treonina no KEL2) na posição 193 da proteína. Também fazem parte integrante do sistema Kell os antígenos Kp(a/b) e Js(a/b). O gene *KEL* localiza-se no cromossoma 7q33 e é constituído por 19 exões ^(3,11,23).

As proteínas originadas pelo gene *KEL* são glicoproteínas de membrana tipo II, com um terminal T curto (citossol) e um terminal C (cisteína) que abrange o exterior da membrana uma única vez (Figura 4). Assim, os antígenos dependem da conformação da glicoproteína XK e são sensíveis à quebra de ligações por ação de agentes com dissulfeto, como o Ditiotreitól (DTT)⁽²³⁾.

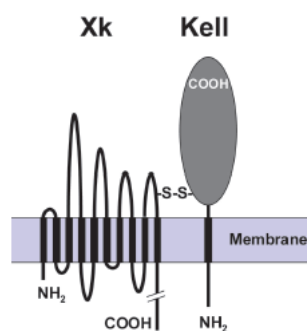


Figura 4: Esquema da Glicoproteína do Sistema Kell

Imagem adaptada, Fonte: AABB

A seguir ao sistema ABO e RH, o sistema Kell é o terceiro grupo responsável por desencadear respostas imunes mais graves. Os anticorpos anti-K são do tipo IgG, sendo que os principais implicados em respostas imunes são o anti-K, anti-k, anti-Kpa. O anti-K é o mais frequente e o anti-k é o mais raro. De facto, estima-se que uma em 500 pessoas tenha o antígeno k (cellano), ou seja, é altamente prevalente em todas as populações ^(3,11).

A imunização por anti-k, apesar de ser rara, é responsável por DHRN severa, onde os antígenos já estão desenvolvidos no período fetal e os anti-K maternos, pertencentes à classe IgG, têm como alvos os eritrócitos fetais, para a qual não existe terapêutica específica associada. Com estes fundamentos, é de boa prática transfusional na administração de componentes a mulheres em idade fértil que exista cuidado na compatibilidade dos antígenos do sistema Kell entre recetor e dador, para evitar futuros quadros de DHRN ⁽¹¹⁾.

Existem variações na frequência destes antígenos, estando expressos na tabela 6 a distribuição do perfil antígeno em indivíduos de raça caucasiana ⁽¹⁵⁾.

Tabela 6: Distribuição do perfil antigénico do Sistema Kell em indivíduos de raça caucasiana

Fenótipo	Frequência (%)
K-k+	91
K+k+	8,8
K+k-	0,2
Kp (a- b+)	97,7
Kp (a+ b+)	2,3
Kp (a+ b-)	Raro

✓ Sistema Kidd

O sistema Kidd é composto por três antígenos: Jka, Jkb e Jk3, localizados numa glicoproteína com 10 extensões da membrana (citoplasmáticas e extracelulares) (Figura 5). A glicoproteína Kidd é responsável pela osmolaridade dos eritrócitos, já que transporta ureia para dentro e fora dos mesmos, e também se encontra no rim, de forma a permitir a acumulação de concentrações de ureia, necessárias para produzir urina concentrada^(11,23).

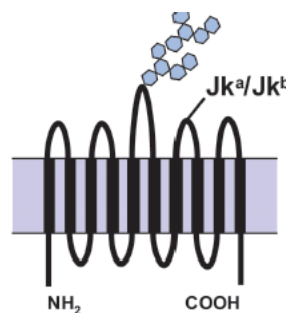


Figura 5: Esquema da glicoproteína do Sistema Kidd

Fonte: AABB

Os antígenos Jka e Jkb são produtos de alelos antitéticos, diferem apenas num aminoácido na posição 280, asparato e asparagina, sendo o Jka mais comum na população europeia. O antígeno Jk 3 ou nulo (a-/b-) é raro. Contudo, é detetado através de imunização por gravidez ou transfusão onde o recetor desenvolve anticorpo anti-JK3, que podem causar DHRN ou hemólise no caso de uma transfusão. Estes antígenos tem a particularidade de serem resistentes a enzimas proteolíticas, ou seja, característica fundamental para a sua identificação em meio laboratorial. Os anticorpos desenvolvidos pelas respostas imunes são do tipo IgG e IgM, sendo os mais comuns IgG. Podem causar DHRN bem como reações imunes causadas por reações transfusionais leves a moderadas^(11,23).

Existem variações na frequência destes antígenos, estando expressos na tabela 7 a distribuição do perfil antigénico em indivíduos de raça caucasiana⁽²³⁾.

Tabela 7: Distribuição do perfil antigénico do Sistema Kidd em indivíduos de raça caucasiana

Fenótipo	Frequência (%)
<i>Jk (a+ b+)</i>	50
<i>Jk (a+ b-)</i>	26
<i>Jk (a- b+)</i>	24

✓ Sistema Duffy

O sistema Duffy é constituído por cinco antigénios, com o gene DARC localizado no cromossoma 1, numa glicoproteína conhecida como recetora dos antigénios Duffy para quimiocinas. O gene DARC é constituído por dois exões, sendo que o primeiro codifica apenas 7 aminoácidos da glicoproteína. A glicoproteína apresenta um terminal externo, citoplasmático e sete domínios que abrangem a membrana (figura 6)^(11,23).

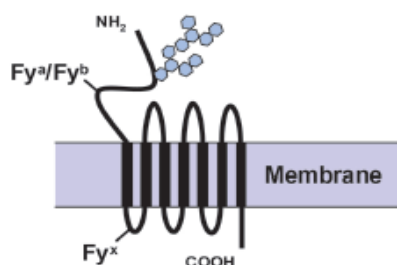


Figura 6: Esquema da glicoproteína do Sistema Duffy

Fonte: AABB

A glicoproteína Duffy codifica, principalmente dois antigénios Fya e Fyb, os quais apresentam alelos antitéticos, no exão 2 do gene DARC na posição 42 da proteína (glicina/aspartato). Nos indivíduos de raça caucasiana o fenótipo mais comum é Fy(a+ b+) com 48% , seguindo-se o Fy (a- b+) com frequência de 32%. Nos indivíduos de raça negra existe um terceiro alelo, caracterizado pela ausência da glicoproteína Duffy, cujo fenótipo é Fy (a- b-), mais conhecido por *FYnull* com uma frequência de 67%^(11,23).

Na medicina transfusional, os anticorpos desenvolvidos pelas reações imunes são do tipo IgG, muito raramente IgM, e o mais frequente é o anti-Fya. Os antigénios deste sistema são sensíveis às enzimas proteolíticas, como bromelina e papaína, mas não são destruídas pela tripsina^(11,23).

✓ Sistema MNSs

O Sistema MNSs é composto por 46 antigénios, sendo M, N, S, s os com maior significado clínico. Estão localizados em glicoforinas, proteínas portadoras de açúcar, que se fixam nas extremidades dos eritrócitos. Uma extremidade da glicoforina fixa-se ao eritrócito e a distinta uma base de açúcar, que irá determinar o fenótipo de cada indivíduo. Os antigénios M e N encontram-se na glicoforina A (GYPA) e os antigénios S e s na glicoforina B (GYPB) (figura 7). Pode-se observar que a glicoforina B é mais pequena que a A, e além de associar o S e s também associa em parte o N. Esta interação estrutural e bioquímica

implica que um indivíduo que não expresse a glicoforina B é N-/S-/s-, o que a nível transfusional acarreta uma dificuldade acrescida para transfundir unidade de sangue sem a presença destes três antígenios de modo a não imunizar com nenhum deles^(3,11).

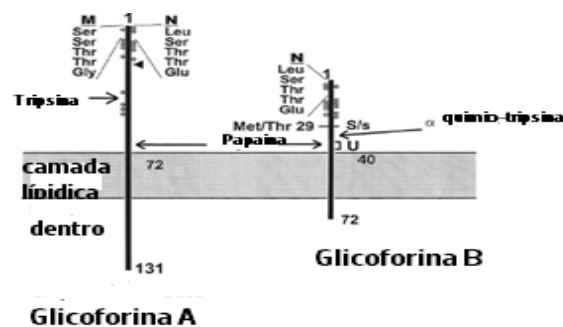


Figura 7: Esquema da glicoproteína do Sistema MNSs

Imagem adaptada, Fonte:AABB

Os anticorpos deste sistema desenvolvidos por reações imunes são do tipo IgG e IgM. Os anti-M são recorrentes em indivíduos que nunca foram expostos a eritrócitos de outro indivíduo, e nestas situações são IgM. Já quando são do tipo IgG podem causar DHRN e reações transfusionais. Os anti-N são raros e surgem normalmente sob a forma de aglutininas frias. Os anti-S e anti-s surgem após imunização transfusional, e são capazes de desencadear DHRN. Os antígenios do sistema MNSs são sensíveis às enzimas proteolíticas^(3,11).

Existem variações na frequência destes antígenios, estando expressos na tabela 8 a distribuição do perfil antígeno em indivíduos de raça caucasiana⁽²³⁾.

Tabela 8: Distribuição do perfil antígeno do Sistema MNSs em indivíduos de raça caucasiana

Fenótipo	Frequência (%)
M+ N+	49
M+ N-	30
M- N+	21
S- s+	48
S+ s+	42
S+ s-	10
S- s-	0

1.3 Aloimunização

✓ Imunidade Inata e Adquirida

A resposta imunológica é um sistema evoluído do corpo humano composto por duas grandes áreas: a imunidade inata e adquirida, essenciais para a sobrevivência do Homem. O organismo é então capaz de reconhecer o próprio do que é estranho e assim ativar uma resposta imune com a maior brevidade possível. A imunidade inata, está presente desde o nascimento, não necessita de estímulos exteriores para ser ativada oferecendo uma resposta imediata a estímulos externos, caracteriza-se por não ser específica. A imunidade adquirida, é auferida através do contacto com invasores que são reconhecidos pelo organismo como não próprios, levando assim à criação de uma memória imunológica específica contra o antigénio, bem como uma melhor estratégia de o eliminar. Após o primeiro contacto existe um reconhecimento do antígeno como sendo um corpo não próprio, criando assim a memória imunológica. Na posterior exposição a memória imunológica sinaliza o antígeno e ativa a estratégia de o eliminar. Este mecanismo de ação decorre após uma exposição por vacinação, transfusão, transplantação teste da tuberculina. Estes dois sistemas não funcionam isolados, mas sim em modo cooperativo com o auxílio das células apresentadoras de antigénio (CAA), como as células dendríticas e os macrófagos, reconhecidas como sentinelas do sistema Imunológico. As CAA reconhecem estímulos estranhos, amadurecem e migram para os tecidos linfoides periféricos, onde o reconhecimento dos antígenos é realizado pela ação de recetores que são encontrados sob a forma solúvel ou na superfície das células linfoides. Tem características comuns, de forma a ter sido proposto se originarem de um gene ancestral, com estrutura semelhantes às imunoglobulinas os quais estão inseridos numa super família e são por exemplo: imunoglobulinas, recetores das células T (RCT), complexo major de histocompatibilidade (MHC-Classe I e II), recetores do fator de crescimento e citocinas^(3,4).

A resposta imune adquirida consiste na ativação de linfócitos T e B, os quais serão dirigidos e específicos para o antigénio estranho, permitindo uma vigilância imune precisa. Os linfócitos T subdividem-se em T citotóxicos, CD8, os quais através dos RCT reconhecem fatores de peptídeos virais e bacterianos sendo diretamente responsáveis pela sua morte, e T auxiliares, CD4, os quais irão auxiliar a atividade das várias células imunológicas através da sua diferenciação, que varia consoante as citocinas expressas no microambiente, ambas respostas dependentes das células T. Os linfócitos B desenvolvem uma resposta humoral, através da produção de anticorpos contra substâncias extracelulares estranhas. Os linfócitos B reconhecem o antigénio através do recetor de células B (RCB), os quais amadurecem e migram para os tecidos linfoides levando à exposição de peptídeos antigénios ao MHC classe II. Após reconhecimento por parte do MHC classe II os linfócitos B proliferam e formam anticorpos, inicialmente pertencentes à classe IgM, os quais tem uma semivida e apenas estão presentes logo após a imunização. Posteriormente, alguns proliferam e sofrem hipermutação somática que levará a formação de blastos, os quais segregam anticorpos de alta afinidade de classe IgG. Assim, uma resposta imune engloba a reticulação antigénica de

eritrócitos das células B induzindo diretamente essas células B a se tornarem ativadas obtendo uma resposta independente das células T. Esta via de produção de anticorpos aplica-se aos antígenos pertencentes aos sistemas sanguíneos ABO e Lewis e M. Contudo, aloanticorpos contra esses antígenos podem ocorrer "naturalmente", ou seja, sem exposição ao antígeno devido à reticulação antigênica dos polissacarídeos bacterianos. Nesse sentido, as isoaglutininas dos antígenos A e B desenvolvem-se precocemente durante a infância, dependendo do grupo sanguíneo da pessoa e também devido à exposição comum a epítomos bacterianos semelhantes a esses antígenos. Como as isoaglutininas anti-A e anti-B, pertencem à classe IgM, são anticorpos ligados ao complemento, pode ocorrer hemólise intravascular durante uma transfusão de eritrócitos ABO incompatível. Por outro lado, a via dependente das células T tem por base uma resposta imune contra os antígenos proteicos, os eritrócitos são fagocitados por macrófagos, monócitos ou células dendríticas, e as proteínas que transportam o aloantígeno são processados na MHC Classe II e apresentadas ao RCT, CD4+. As células T ativam os linfócitos B, que também são capazes de reconhecer os antígenos, os quais subsequentemente produzem anticorpos contra os epítomos correspondentes. Em contraste com os peptídeos apresentados por moléculas de MHC classe I que abrangem 8-10 aminoácidos, os peptídeos das moléculas de MHC classe II são mais longos. Para peptídeos MHC classe I, toda a molécula é envolvida na interação de ligação com o MHC, enquanto no MHC de classe II, a região que interage com o MHC está no centro do peptídeo e contém também 8 a 10 aminoácidos^(4,19,24).

✓ Aloimunização na prática transfusional

A aloimunização decorre como consequência da exposição a antígenos desconhecidos, os quais podem ser antígenos raros, mas essenciais para a identificação do anticorpo. Outros mais frequentes e com maior expressão clínica pertencem aos sistemas RH, Kell, Kidd, Duffy e MNSs⁽⁶⁾.

A natureza da resposta imune a antígenos de grupos sanguíneos depende de vários fatores, incluindo a dose e via de administração, fatores genéticos do hospedeiro e a imunogenicidade do antígeno. A imunogenicidade é a capacidade de estimular uma resposta imune específica, estimada como células efectoras ou produtoras de anticorpos. Após exposição por transfusão, apenas 1-3% dos recetores respondem com anticorpos contra um antígeno transfundidos. Assim, existem fatores químicos e físicos, epítomos do antígeno, e resposta das células T, que influenciam a resposta imune. Os aloanticorpos produzidos permanecem no organismo humano durante algum tempo (média de 3 meses), posteriormente a sua detecção vai desaparecendo ao longo do tempo. Contudo, uma reexposição ao antígeno causará uma resposta anamnésica podendo resultar numa reação transfusional imediata^(7,14,24). Os anticorpos desenvolvidos na sequência de uma transfusão podem se ligar ao complemento e desencadear a hemólise intravascular ou então são eliminados pelos macrófagos através do fígado, podemos estar perante dois tipos de reações transfusionais hemolíticas agudas ou tardias. A reação

transfusional hemolítica aguda, decorre até 24 horas, sendo que a fase aguda normalmente ocorre na primeira hora. Apresenta elevada taxa de mortalidade e morbidade, e pode ser identificada inicialmente sob quadro de dispneia, febre, calafrios, rubor facial e dor intensa, em especial na área lombar. A incompatibilidade de antígenos ABO é a causa mais comum, contudo anticorpos contra os antígenos de grupos sanguíneos não ABO também podem ocasionar. O principal erro é a ausência de identificação na amostra pré-transfusional de um anticorpo presente em circulação, e posterior falha no cruzamento entre doente e componente a transfundir. A hemólise é intravascular, provocando hemoglobinúria com graus variáveis de insuficiência lesão renal aguda e, possivelmente coagulação intravascular disseminada (CID). A gravidade da reação transfusional hemolítica aguda depende do grau de incompatibilidade, da quantidade e da velocidade de componente administrado, bem como das funções renal, hepática e cardiovascular do doente. Ao existir suspeita de reação aguda a transfusão tem que ser imediatamente interrompida. A reação transfusional hemolítica tardia, decorre até 72h, tem frequentemente apresentação subclínica, com sintomas frustres-e, por vezes, não é identificada. Um dos indicadores é a queda de hemoglobina que ocorre uma a duas semanas após a transfusão, bem como o aumento de bilirrubinas e do lactato desidrogenase (LDH), e a positividade de teste de antiglobulina direto e indireto. Decorre como consequência de um doente sensibilizado a um antígeno, o qual foi indetetável nos testes pré- transfusionais. Entre uma a quatro semanas pós-transfusão desenvolve uma resposta elevando o título de anticorpo e tornando-o detetável. Raramente os doentes apresentam sintomas graves, sendo que se os tiverem devem de ser tratados como uma reação aguda ^(4,25).

1.4 Laboratório de Imunohematologia

O Laboratório de Imunohematologia é responsável pela receção de todos os pedidos de componentes sanguíneos, prescritos de uma forma escrita, eletrónica ou oral (situações emergentes). Na prescrição deve de constar o local de administração do componente, o diagnóstico clínico do doente, dados hematológicos, a quantidade e o tipo de componente solicitado, a identificação do doente através de dois indicadores (nome do doente e número único de identificação ou data de nascimento) e a identificação legível do prescritor. Adicionalmente, deverá também constar a história prévia transfusional bem como a história de existência ou não de gravidez. A prescrição é acompanhada por uma amostra, a qual deverá de estar em conformidade.

Posteriormente, segue-se a validação da prescrição por parte do Serviço de Sangue e o início dos testes imunohematológicos e pré transfusionais, de forma a garantir a segurança da administração de componentes sanguíneos ao doente. Os testes que estão identificados para a garantia deste procedimento, testes pré-transfusionais, são a determinação do grupo sanguíneo dos sistemas ABO e RH do doente, de forma a obter um componente ABO e RH compatível, o Teste de Antiglobulina Indireto (TAI) do doente, de forma a avaliar a presença ou ausência de anticorpos em circulação, e a prova de

compatibilidade entre o doente e o concentrado de eritrócitos a transfundir de forma a detetar a presença ou ausência de uma reação antígeno/anticorpo *in vitro*. Qualquer erro em alguma destas etapas pode culminar em efeitos fatais para o doente, por isso atualmente todas estas etapas estão cada vez mais automatizadas desde a utilização de sistemas de hemovigilância com códigos de barras para identificação da amostra do doente e a sua concordância com a pulseira que o doente apresenta, bem como posterior concordância entre o componente sanguíneo enviado para o doente e a identificação do mesmo. Todos os testes laboratoriais devem de ser realizados por técnica automática de forma a ficar registado todos os procedimentos e minorizar o erro humano ^(9,14,23).

✓ Teste de Antiglobulina

Descrito em 1945 por Robin Coombs para evidenciar a aglutinação entre antígeno eritrócitos e anticorpos incompletos, pelo uso de um anticorpo secundário a antiglobulina humana (AGH). A aglutinação é uma reação química reversível na qual os anticorpos ligam-se a múltiplos antígenos criando um agregado visível. Vários fatores podem influenciar a aglutinação como a temperatura, classe de imunoglobulinas e as diferentes interações antígeno e anticorpo dependentes do meio e da temperatura de incubação, assim uma aglutinação visível caracteriza um resultado positivo. A antiglobulina humana é utilizada como uma ponte entre os anticorpos incompletos e os eritrócitos revestidos por anticorpos, através de ligações entre locais Fab e a porção Fc dos mesmos, de forma a obtermos uma aglutinação visível e não eritrócitos revestidos com anticorpos isolados (figura 8) ^(3,25).

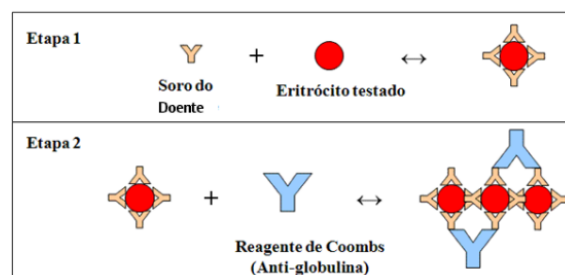


Figura 8: Teste de Antiglobulina Humana

Imagem adaptada, Fonte: https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/multimedia/figure/hem_indirect_coombs_test_pt

Na prática laboratorial utilizamos este reagente em dois tipos de teste, o Teste de Antiglobulina Direto (TAD) e Teste Antiglobulina Indireto (TAI). O TAD permite a deteção da sensibilização *in vivo* dos eritrócitos revestidos com anticorpos ou sistemas do complemento. Aplicabilidade na avaliação de anemias hemolíticas autoimunes, DHRN e reações transfusionais. Já o TAI permite a deteção dos anticorpos circulantes no plasma/soro do doente através da incubação com células que apresentam um perfil antigénico conhecido. A sua determinação específica pode variar consoante o tipo de meio onde estamos a pesquisar devido às diferentes especificidades dos anticorpos (tabela 9). Têm aplicabilidade nos testes

pré-transfusionais e pesquisa de anticorpos irregulares em grávidas, doentes com anemias hemolíticas autoimunes e em reações transfusionais^(3,25).

Tabela 9: Características dos diferentes meios laboratoriais de identificação

Meios de identificação	Características
Aditivos Albumina	<ul style="list-style-type: none"> • Meio primordial • Baixa afinidade para captar antígeno • Permite a redução do espaço AC AG devido à diminuição da força iónica
Enzimas proteolíticas	<ul style="list-style-type: none"> • Bromelina, Papaína, Ficína e Tripsina; • Reduzem a carga dos eritrócitos por clivagem de polipeptídeos com carga negativa, contendo ácido siálico aumentando a aglutinação potencializadas pelas enzimas. • Potencializam anticorpos pertencentes aos Sistemas ABO, RH, Kell, Kidd e Lewis • Destroem anticorpos pertencentes aos Sistemas Duffy e MNSs.
Poliétilenoglicol (PEG)	<ul style="list-style-type: none"> • Polímero linear solúvel em água utilizado para potencializar reação Antígeno/Anticorpo; • Altera a osmolaridade do diluente aumentando a proximidade Antígeno/Anticorpos • Potencia deteção de anticorpos significativos e diminui a dos anticorpos menos significativos. • Realizada em card Anti-IgG para evitar os falsos positivos. • A 37°C melhora a reatividade de autoanticorpos (card anti-IgG). • Desvantajoso para detetar aloanticorpos na presença de autoanticorpos em Anti-IgG, por isso deverá ser testado com card de Liss para os detetar e diferenciar. • Depois de incubação com o PEG as células testes devem de ser lavadas com solução salina para retirar e suspender corretamente as mesmas.
LISS	<ul style="list-style-type: none"> • Aumenta a sensibilização dos anticorpos em relação à técnica salina. • Evita a lise dos eritrócitos devido á baixa força iónica, por isso é comumente utilizada.
Salino	<ul style="list-style-type: none"> • Meio com ph neutro; • Ideal para deteção de anticorpos frios.

A deteção de uma aloimunização tardia é identificada através do resultado de um TAI positivo, após uma transfusão em que inicialmente o resultado do TAI tenha sido negativo. Inicialmente, avalia-se uma pesquisa de anticorpo positiva num painel de três células, onde o perfil de antigénios das mesmas é conhecido, seguindo-se para uma identificação de anticorpos irregulares através do uso de um painel de onze ou mais células também com um perfil antigénico conhecido. O painel de células pode ser testado em diferentes meios e temperaturas, de modo a detetar e identificar os anticorpos irregulares com significado clinico, já que é variável o comportamento dos anticorpos dos vários sistemas sanguíneos (tabela 10)^(3,11,14).

Tabela 10: Atividade serológicas dos principais anticorpos em estudo

Principais anticorpos dos Sistemas Sanguíneos		Salino		Albumina		Enzimático	
		4°C	22°C	37°C	AGH	37°C	AGH
Sistema RH	Anti-D	-	Reduzida	Alguma	Frequente	Alguma	Frequente
	Anti-C	-	Reduzida	Alguma	Frequente	Alguma	Frequente
	Anti-c	-	Pouca	Alguma	Frequente	Alguma	Frequente
	Anti-E	-	Pouca	Alguma	Frequente	Alguma	Frequente
	Anti-e	-	Pouca	Alguma	Frequente	Alguma	Frequente
	Anti-Cw	-	Pouca	Alguma	Frequente	Alguma	Frequente
Sistema Kell	Anti-K	-	Pouca	Alguma	Frequente	Alguma	Frequente
	Anti-k	-	Pouca	Raro	Frequente	Alguma	Frequente
	Anti-Kpa	-	Alguma	Alguma	Frequente	Alguma	Frequente
	Anti-Kpb	-	Pouca	Pouca	Frequente	Alguma	Frequente
Sistema Kidd	Anti-Jka	-	Pouca	Pouca	Frequente	Alguma	Frequente
	Anti-Jkb	-	Pouca	Pouca	Frequente	Alguma	Frequente
Sistema Duffy	Anti-Fya	-	Rara	Rara	Frequente	Nula	Nula
	Anti-Fyb	-	Rara	Rara	Frequente	Nula	Nula
Sistema MNS	Anti-M	Frequente	Alguma	Pouca	Pouca	Nula	Nula
	Anti-N	Frequente	Pouca	Muito Pouca	Muito Pouca	Nula	Nula
	Anti-S	Pouca	Alguma	Alguma	Frequente	Nula	Nula
	Anti-s	Nula	Pouca	Pouca	Frequente	Nula	Nula

A atividade serológica dos aloanticorpos desenvolvidos por aloimunizações tardias, é conhecida e é indicadora de possíveis reações transfusionais hemolíticas (tabela 11). Assim, a detecção de aloanticorpos com uma maior atividade a 37°C e em meio com AGH refletem uma maior probabilidade de desencadearem reações transfusionais^(3,7,26).

Tabela 11: Atividade serológica dos anticorpos em estudo

	Anticorpos dos principais Sistemas sanguíneos	Reação transfusional hemolítica
Sistema RH	Anti-D	Frequentemente
	Anti-E	Frequentemente
	Anti-e	Frequentemente
	Anti-C	Frequentemente
	Anti-c	Frequentemente
	Anti-Cw	Raramente
Sistema Kell	Anti-Kell	Frequentemente
	Anti-k	Frequentemente
	Anti-Kpa	Frequentemente
	Anti-Kpb	Frequentemente
Sistema Kidd	Anti-Jka	Frequentemente
	Anti-Jkb	Frequentemente
Sistema Duffy	Anti-Fya	Frequentemente
	Anti-Fyb	Frequentemente
Sistema MNS	Anti-M	Raramente
	Anti-N	Nunca
	Anti-S	Frequentemente
	Anti-s	Frequentemente

1.5 Perspetiva futura para a aloimunização tardia

De forma a minimizar todos os estados de morbilidade e mortalidade associados às complicações inerentes ao processo transfusional, vários estudos estão a ser desenvolvidos com o objetivo de identificar os doentes "Respondedores", ou seja, doentes com uma maior probabilidade de aloimunizar. O objetivo com esta nova terminologia é conhecer as características que tornam os doentes mais suscetíveis de desenvolver aloanticorpos e delinear quadros de suporte transfusional personalizado, consoante o perfil do recetor antes de uma exposição antigénica prévia. Esta estratégia visa reduzir a taxa de aloimunização e melhorar a segurança transfusional. Após várias conciliações da terminologia

"Respondedores", segue-se um modelo hipotético em que esta subdivide-se em três categorias: "Não respondedores", "Respondedores", e "Hiper-respondedores". São denominados de "Não respondedores" os recetores que não desenvolvem aloanticorpos apesar das inúmeras exposições a antígenos não ABO. Os "Respondedores" são os recetores que desenvolvem um aloanticorpo com uma ou duas exposições a antígenos de grupos não ABO. Já os "Hiper-respondedores" são os recetores que desenvolvem mais que um aloanticorpo com uma ou duas exposições a antígenos de grupos não ABO^(7,26).

O modelo hipotético, ganhou conhecimento na comunidade científica, foi testado e levou à criação de um resumo que evidencia as taxas de aloimunização com características da população, elaborado em concordância com estudos do AABB e FAB (tabela 12)⁽⁷⁾:

Tabela 12: Taxas de aloimunização e características da população⁽⁷⁾

População	Aloanticorpo mais comum	Taxa aloimunização	Exposição ao Antígeno
População em geral	anti-K, anti-E	< 1-4%	Transfusão
Voluntários saudáveis RH negativos	anti-D	83 – 93%	Transfusão
Crianças	anti-K, anti-E	< 1% (raro)	Transfusão
Doentes hospitalizados (não oncológicos)	anti-C, anti-E, anti-K	20 – 30%	Transfusão
Doentes Falciformes	anti-C, anti-E, anti-K	>47%	Transfusão
Doentes com SMD	Sistema RH e Kell	>58,6%	Transfusão
Doentes talassémicos	Sistema Rh e Kell	>37%	Transfusão
Grávidas	anti-D	7,2%	Gravidez

Fatores clínicos e biológicos, como o estadió da doença, a inflamação, a idade, o género, doenças hematológicas e características genéticas vão influenciar a categorização nas diferentes terminologias de respondedores. Assim, a avaliação prévia de um doente, ou seja, antes de uma exposição antigénica por transfusão é fundamental para reduzir as taxas de aloimunização⁽⁷⁾.

2. Objetivos

O presente estudo tem como principal objetivo detetar a incidência acumulada de doentes aloimunizados por transfusão na Região Autónoma da Madeira. Compreende ainda descrever a frequência dos anticorpos responsáveis pela aloimunização bem como caracterizar a população alvo em relação a idade, sexo, grupo sanguíneo, patologias associadas e história transfusional prévia.

3. Metodologia

Realizou-se um estudo descritivo transversal, com base nos registos clínico laboratoriais dos resultados das análises de doentes que realizaram transfusão de Concentrados de Eritrócitos, com TAI positivo pós transfusão realizado no Serviço de Sangue e Medicina Transfusional do Hospital Dr. Nélio Mendonça, na Região Autónoma da Madeira (RAM), entre janeiro de 2016 e dezembro de 2019. Foram excluídos resultados de análises de doentes que apresentaram pesquisa de anticorpos irregulares positiva, no primeiro pedido de transfusão realizado na RAM, doentes com anemias hemolíticas autoimunes e imunizações por gravidez.

✓ Procedimento

Para a execução desta tese de mestrado inicialmente foram selecionados todos os doentes com TAI positiva e posteriormente foram avaliados os que correspondiam a uma TAI por aloimunização tardia, ou seja, aqueles doentes que obtiveram TAI positiva após uma transfusão na RAM.

A recolha dos dados foi realizada com o auxílio dos registos recolhidos no laboratório de Imunohematologia e através do sistema informático utilizado no serviço, SIGI.

Durante o período de realização do estudo não foram alterados os procedimentos implementados para as corretas realizações de todas as análises necessárias. Assim, os resultados obtidos pela metodologia automática, recorreram à casa comercial Bio-rad®, com o aparelho automático IH-500, de acordo com as bulas fornecidas pelos mesmos.

O estudo realizado não pressupõe conflito de intervenção e não lida com dados sensíveis, e está de acordo com a lei em vigor da proteção de dados (Lei n.º 58/2019).

✓ Tratamento de dados

Os dados recolhidos foram tratados recorrendo à análise estatística descritiva, com recurso ao software Office Excel 365 e *Statistical Package for Social Sciences* versão 26.0 (SPSS®). No tratamento dos dados foram utilizadas as médias e as frequências a fim de obter os resultados pretendidos. Assim, o tratamento estatístico considera significativo resultados com valor de significância $\alpha < 0,05$ ou seja, resultados com 95% de intervalo de confiança (IC).

4. Resultados

Entre janeiro de 2016 e dezembro de 2019, obtiveram-se registos dos 6617 doentes transfundidos na RAM com Concentrado de Eritrócitos. Verificou-se 195 doentes com TAI positivo, dos quais 126 foram eliminados pelos critérios de exclusão: 7 doentes por anemia hemolítica autoimune (AHA), 12 doentes imunizadas na gravidez e 106 doentes com TAI positiva na primeira tipagem. Assim, a amostra em estudo ficou limitada aos registos de 69 doentes.

✓ Caracterização da população alvo

Analisando as características epidemiológicas da amostra, esta tem média de idades os 69 anos ($\pm 13,63$), com uma idade máxima de 93 anos e mínima de 37 anos (tabela 13).

Tabela 13: Média de idades da população em estudo

Idade do Doente (anos)	Média	Desvio Padrão	95% IC
	69	13,63	66,19-72,74

Na distribuição por género, a amostra em estudo evidencia um predomínio de doentes do sexo feminino (gráfico 1).

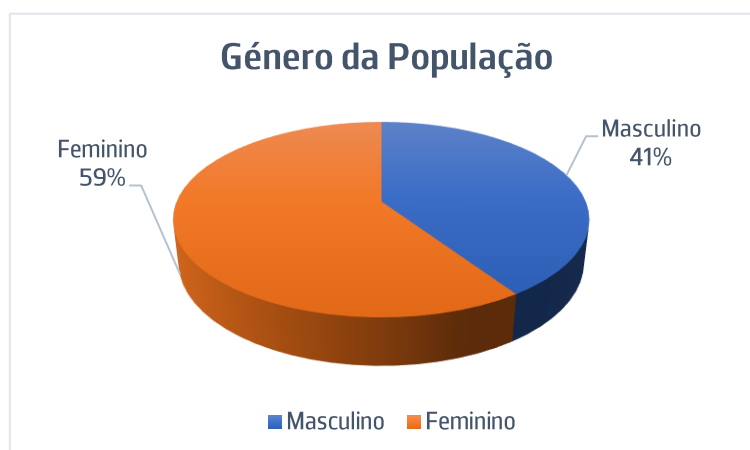


Gráfico 1: Distribuição por género da população em estudo

No perfil Imunohematológico, a amostra em estudo caracteriza-se por ser maioritariamente do grupo ARhD positivo, seguido pelo O RhD positivo (gráfico 2).

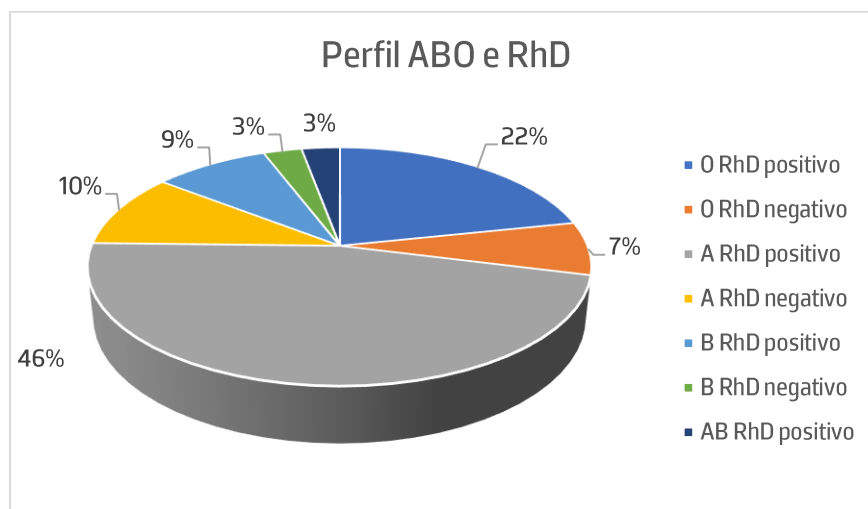


Gráfico 2: Distribuição por perfil ABO Rh da população em estudo

✓ Caracterização do estudo

Com um total de 6617 doentes transfundidos na RAM foi possível inferir uma incidência acumulada de aloimunização nos quatro anos de 1,05%. Através da análise do gráfico 3, é possível observar por ano o número de doentes transfundidos não aloimunizados e os aloimunizados, tendo-se verificado que em 2017 existiu um aumento de doentes transfundidos com uma diminuição de aloimunizações, 0,47%. No ano de 2019, a percentagem de aloimunizados foi de 1,40%, superior à incidência dos 4 anos em estudo (gráfico 3).

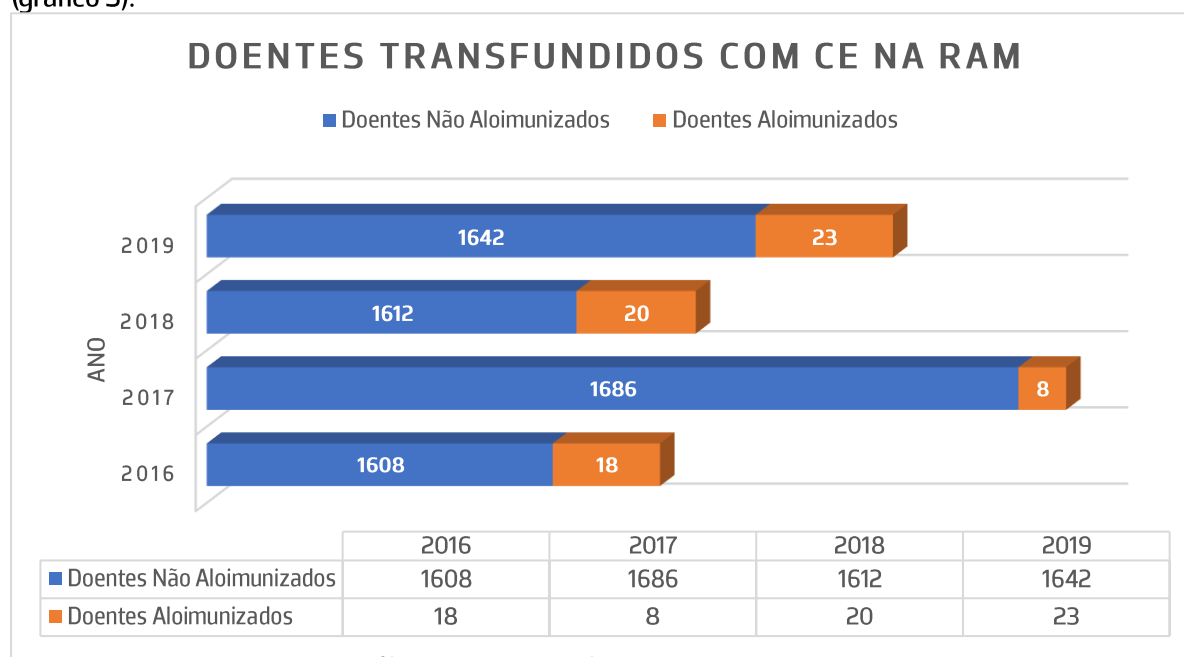


Gráfico 3: Doentes Transfundidos com CE na RAM

✓ **Anticorpos Identificados**

Com as metodologias laboratoriais instaladas no período temporal em estudo, foi possível diferenciar os anticorpos produzidos pelos doentes após sensibilização. Foram determinados recorrendo à identificação com um painel de 11 células a 37°C, com auxílio de uma enzima proteolítica (Papaína) e em alguns casos foi necessário recorrer a técnicas de amplitude térmica (4°C e 22°C).

Verificou-se que o anticorpo mais frequentemente identificado foi o anti-K com 15,9% (n=11) dos casos, seguido do anti-E com 13,0% (n=9) dos casos e do anti-c com 8,7% (n=6) dos casos. Verifica-se maior frequência de imunização por antígenos do sistema RH e Kell. No entanto, observou-se que em 15,9% (n=11) os aloanticorpos não foram identificados (tabela 14).

Tabela 14: Frequência de Aloanticorpos detetados no estudo

Aloanticorpo	Doentes	
	N	Percentagem (%)
Anti – K	11	15,9
Anti – E	9	13,0
Anti – c	6	8,7
Anti – D	5	7,2
Anti – Jka	4	5,8
Anti – e	3	4,3
Anti c + Anti – E	3	4,3
Anti – C	2	2,9
Anti – Cw	2	2,9
Anti – E + Anti – K	2	2,9
Anti – S	1	1,4
Anti – Lua	1	1,4
Anti – E + Anti – Kpa	1	1,4
Anti – D + Anti – C	1	1,4
Anti – D + Anti – E	1	1,4
Anti – c + Anti – Lea	1	1,4
Anti – c + Anti – K	1	1,4
Anti – Kpa + Anti – M + Anti – S	1	1,4
Anti – C + Anti – E + Anti – Kpa	1	1,4
Anti – K + Anti – Kpa + Anti – Jka	1	1,4
Anti – C + Anti – K + Anti – Jka	1	1,4
Não Identificado	11	15,9

✓ **TAD e Notificação de Reação Transfusional Tardia**

No contexto de aloimunização é essencial avaliar se existiu sensibilização *in vivo* através da avaliação dos resultados do TAD. Observou-se que 51,0% (n=36) dos doentes obtiveram resultado positivo, após aloimunização e 41,0% (n=28) dos doentes obtiveram resultado negativo, refletindo a ausência de sensibilização *in vivo* (gráfico 4).

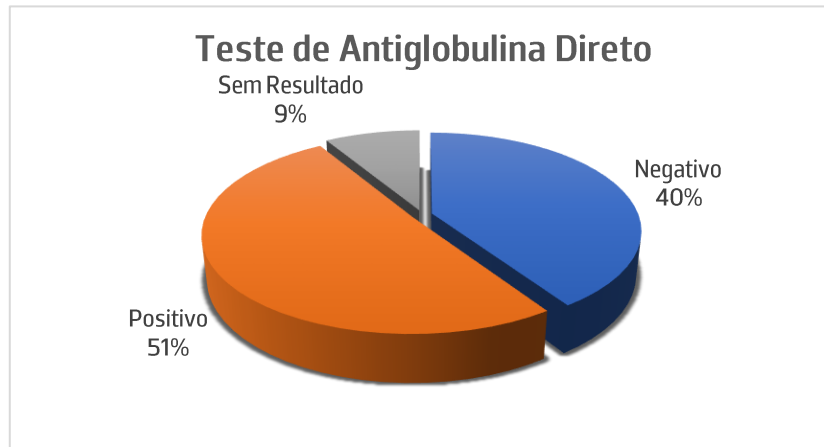


Gráfico 4: Resultados de TAD

A reação transfusional hemolítica, neste estudo, abrangeu apenas 1,4% (n=1) dos registos de doentes, sendo que os restantes 98,6% (n=68) foram aloimunizações tardias que não foram reportadas ao Sistema Português de Hemovigilância (SPHV) (gráfico 5).

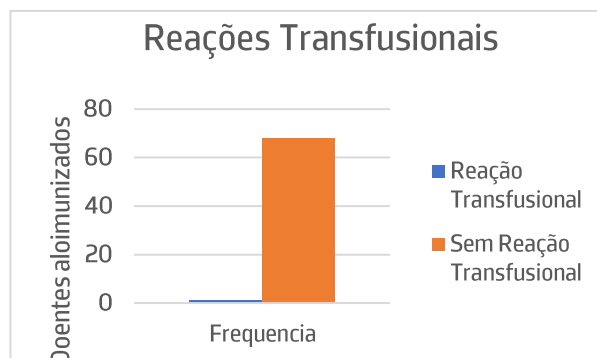


Gráfico 5: Frequência de Reação Transfusional notificadas

✓ Resposta Imune

Avaliando a capacidade de resposta do doente aloimunizados (TAI positiva), com este estudo foi possível determinar que 33,0% voltaram a ter uma TAI negativa após os 3 meses e 20,0% mantiveram a TAI positiva (gráfico 6).

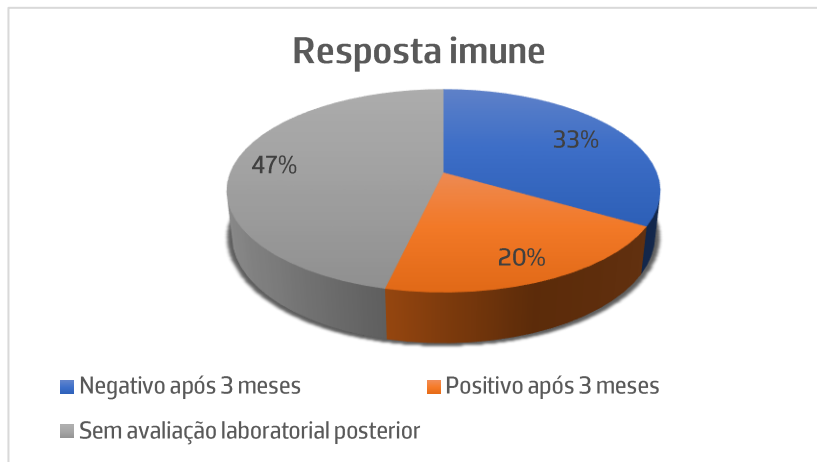


Gráfico 6: Resultados da Resposta Imune dos doentes aloimunizados ao fim de 3 meses

✓ Quadro clínico e História transfusional prévia

A amostra deste estudo apresenta um perfil de quadro clínico heterogéneo, sendo as patologias oncológicas o perfil mais predominante com 42,0% (n=29) dos casos, seguido da Insuficiência cardíaca com 9,0% (n= 6) dos casos. As fraturas ortopédicas e próteses cardíacas, são os quadros onde existe uma menor incidência de aloimunizações tardias (gráfico 7).

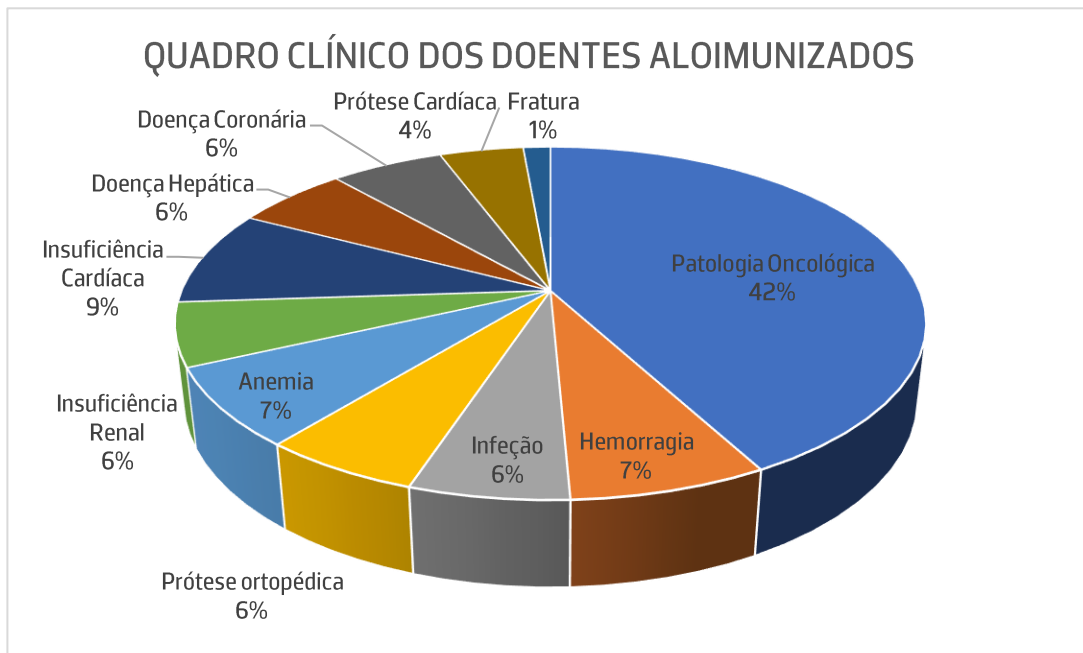


Gráfico 7: Distribuição dos diferentes quadros clínicos

A história transfusional prévia, reflete uma média total de 6,91 ($\pm 7,55$) transfusões, com um mínimo de 1 transfusão e máximo de 32 transfusões. A quantidade de transfusões mais frequente até à aloimunização foi de 2 transfusões em 17,4% (n=12) de doentes. O número de transfusões foi analisado considerando os diferentes quadros clínicos dos doentes. Assim, a patologia onde existe um maior número de transfusões com uma média de 13 ($\pm 16,52$) é a prótese cardíaca, seguida da doença hepática com uma média de 11,5 ($\pm 7,94$) transfusões e da insuficiência cardíaca com uma média de 10,43 ($\pm 12,86$) transfusões (tabela 15).

Tabela 15: Média de Transfusões das diferentes Patologias

Quadro Clínico	Média de Transfusões	N	Desvio Padrão
Prótese Cardíaca	13	3	16,52
Doença Hepática	11,5	4	7,94
Insuficiência Cardíaca	10,43	7	12,86
Infeção	9,25	4	4,27
Patologia Hemato-Oncológica	6,66	29	6,79
Doença Coronária	6,5	4	6,03
Hemorragia	5	5	5,24
Anemia	3,6	5	2,70
Fratura	3	1	.
Insuficiência Renal	2,5	4	2,38
Prótese ortopédica	2,33	3	1,53
Total	6,91	69	7,55

5. Discussão

São limitações deste estudo a ausência de resultados de TAD, como também a impossibilidade de realizar a avaliação da resposta imune após 3 meses da aloimunização em certos doentes, devido ao falecimento dos mesmos ou porque não voltaram a realizar TAI posterior à transfusão.

A aloimunização tardia é um efeito adverso das transfusões de concentrado de eritrócitos condicionando toda a terapêutica de suporte transfusional. A incidência detetada nos doentes transfundidos neste estudo foi de 1,05% (n=69), relato semelhante ao descrito na literatura. Um estudo na população Chilena, demonstrou uma incidência de 1,02% em 4716 doentes transfundidos⁽²⁷⁾. Na Malásia, dos 5718 doentes transfundidos observou-se uma incidência de 1,13%⁽²⁸⁾. Na Áustria, estudos evidenciaram uma taxa de aloimunização entre 1% a 2% a qual aumenta significativamente para doentes com transfusões crônicas onde a prevalência pode atingir os 30%⁽¹⁹⁾. Em Portugal, em 2017, existiram 12 notificações o que representa uma incidência 0,01%⁽⁸⁾.

Assim, na globalidade as taxas de aloimunização situam-se entre 0,009% e 0,6% em doentes saudáveis, 61,4% e 74,24% em indivíduos previamente transfundidos, 74,4% em doentes com neoplasias hematológicas, como síndrome Mielodisplásico, 82,0% em doentes com talassemias e 18,7% em doentes falciformes⁽²⁹⁾. Como era espectável, neste estudo, a grande incidência de doenças oncológicas incrementa o aumento da prevalência de aloimunizações para os 42,0%.

Relativamente aos aloanticorpos desenvolvidos, neste estudo existiu uma predominância dos Sistema Rh e Kell, sendo o anti- K o anticorpo predominante (15,9%), seguido pelo anti- E (13%) e o anti- c (8,7%). Todas as unidades de concentrados de eritrócitos transfundidas aos doentes deste estudo apresentaram provas de compatibilidade negativa. Comparando os resultados do presente estudo com os de outros estudos, é possível inferir a concordância de resultados com os da literatura, pois ambos os sistemas Rh e Kell, contêm antigénios fortemente imunogénicos os quais são reativos a 37°C em fase de antiglobulina humana, podendo ocasionar reações hemolíticas tardias e, por vezes, severas⁽⁷⁾. Um estudo desenvolvido na Áustria, demonstrou que o anti-K é produzido em cerca de 10% das transfusões, o anti-E em 7%, anti-c em 3%, enquanto a imunogenicidade dos outros sistemas sanguíneos é tão baixa, que os anticorpos são produzidos em menos de 3% das transfusões⁽¹⁹⁾. Igualmente, um estudo desenvolvido nos EUA apresenta a frequência de anti-K e anti- E como sendo a mais predominante na população em geral. Subdividindo os doentes, observa-se que os doentes com patologias oncológicas têm maior frequência de anti- K e os doentes com patologias não oncológicas têm maior frequência de anti-K, anti-C e anti-E⁽⁷⁾. Um estudo desenvolvido no Chile demonstra a maior frequência do anti-E, seguido do anti-K e do anti-D⁽²⁷⁾. Também um estudo desenvolvido no Brasil descreve como sendo os principais aloanticorpos desenvolvidos após transfusão os anti-E, anti-D e anti-K⁽³⁰⁾. Para além dos sistemas Rh e Kell, 5,8% dos casos analisados no presente estudo, foram aloimunizações originadas pelo sistema Kidd. Os antígenos deste sistema são de

imunogenicidade moderada e os anticorpos podem estar envolvidos em reações hemolíticas imediatas e tardias em doentes politransfundidos, devido à sua capacidade de ativar o sistema do complemento. Observou-se ainda que em 15,6% dos casos estudados o anticorpo não foi identificado, contudo esta situação não condicionou a terapêutica transfusional tendo sido administrado concentrado de eritrócitos compatíveis. Este facto deve-se à limitação da leitura dos resultados pela metodologia por hemoaglutinação como por exemplo quando na identificação de aloanticorpos é dificultada pela presença de autoanticorpo, no caso dos aloanticorpos que apresentam efeito de dose, assim como na presença de fármacos estes poderem sensibilizar os eritrócitos, por exemplo Daratumumab, e observarem-se falsos resultados. Assim, vários estudos evidenciam a importância da fenotipagem alargada relativamente aos principais grupos sanguíneos com significado clínico, ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, Ss, antes de se iniciar qualquer etapa do processo de transfusão com CE em doentes de maior risco, como os doentes com patologias genéticas e hemato-oncológicas. Este procedimento permite evitar a aloimunização dos doentes porque permite transfundi-los com unidades de CE de dador com fenótipo compatível^(31,32), sempre que existam nos registos disponíveis. No serviço de sangue da RAM, é uma metodologia que também estamos a impor, principalmente nos doentes com Talassemias, daí neste estudo não apresentar qualquer incidência de aloimunizados nas crianças com doenças hematolo-oncológicas e nos doentes com Mieloma Múltiplo que estejam a fazer a terapia com Daratumumab.

A população em estudo caracterizou-se por um maior número de doentes do sexo feminino (59%) com uma média de idades 69 (\pm 13,63) anos. A média de idade relaciona-se com o fato da necessidade de a transfusão de CE recorrente, por norma, ser em indivíduos de idade mais avançada e com patologias que assim o exigem. Contudo, vários estudos evidenciam que a idade avançada é um fator de risco devido à tolerância antigénica ser menor do que em doente mais jovem, ou seja, o organismo tem uma menor capacidade de tolerar o antigénio. Contudo, muitos destes podem estar sob imunossupressão o que condiciona o reconhecimento antigénico, podendo assim a aloimunização relacionar-se com a resposta anamnésica por transfusões passadas sem observar a compatibilidade no fenótipo alargado entre eritrócitos de doente e os do dador. Relativamente à incidência ser maior em doentes do sexo feminino é concordante com um estudo desenvolvido na Áustria, o qual relaciona este facto há maior exposição antigénica das mulheres devido à gravidez, pelo que uma resposta secundária é mais provável⁽¹⁹⁾.

A caracterização da população em estudo apresentou uma predominância de doentes pertencentes ao grupo sanguíneo A (56%), sendo 46% RhD positivo e 10% RhD negativo. Frequências concordantes com um estudo nacional publicado na revista ABO, que caracteriza a população da RAM onde o grupo sanguíneo A tem uma frequência de 43,7%⁽³³⁾.

Em relação ao quadro clínico, observou-se que 42% dos doentes apresentam patologia hemato-oncológica, 9% têm insuficiência cardíaca, 7% anemia e 7% hemorragia. A patologia hemato-oncológica é predominante devido à necessidade continua de realizar transfusões, o que expõe o doente e um maior

número de antigénios, resultando numa maior probabilidade de desenvolver aloanticorpos, concordante com outros estudos⁽¹⁹⁾. O mesmo quadro está associado a doentes com insuficiência cardíaca e anemias crónicas e severas. Os doentes com hemorragias (7%), onde existe necessidade de cirurgia, por vezes necessitam de um grande volume de transfusão o que resulta numa maior exposição antigénica. Segundo estudo europeu a prevalência situa-se ente 2,5 e 3,3% nestas situações ^(19,30,34). Verificou-se ainda no presente estudo uma média de 6,91 (\pm 7,55) transfusões de CE por doente. Seria de esperar que os doentes com patologias hemato-oncológicas tivessem um maior número de transfusões, o que não se verificou. Estes doentes apresentam uma média de 6,66 (\pm 6,79) transfusões, mas são o grupo com maior aloimunização (42%), o que está de acordo com serem doentes com o sistema imune comprometido, maior probabilidade de aloimunizar e originar aloanticorpos, doentes hiper-respondedores⁽⁷⁾. Por outro lado, doentes com prótese cardíaca (4%) apresentam uma média de 13 (\pm 16,52) transfusões de CE por doente. Esta situação surge porque são cirurgias major onde existe uma grande perda sanguínea com necessidade de reposição através de grandes quantidades de CE ^(7,19). Na generalidade, em mais de 50% dos doentes foram necessárias 6 transfusões de CE para desenvolverem um quadro de aloimunização tardia. Observamos assim que a população em estudo pode ser caracterizada como respondedora, segundo os novos modelos de aplicação na clínica da Imunohemoterapia.

A capacidade de resposta imune, e a capacidade de o recetor diminuir o título de aloanticorpo até este ser indetetável laboratorialmente depende de indivíduo para indivíduo, com influência da consequente exposição antigénica. Neste estudo, 47% dos doentes não apresentam registo de uma avaliação de resposta imune, o que vai contra os resultados esperados, evidenciando a inexistência de um sistema de monitorização de hemovigilância robusto. Contudo, com os dados obtidos pode-se inferir que dos 53% dos doentes com avaliação laboratorial 33% obteve um TAI negativo após os 3 meses, o que evidencia que os aloanticorpo tornam-se indetetáveis ao longo do tempo^(7,14,24).

6. Conclusão

Este estudo sobre a aloimunização tardia tornou possível evidenciar que na realização dos testes pré-transfusionais, a seleção do CE a compatibilizar deve de ser baseada no sistema ABO e RH mas também nos diversos sistemas grupos sanguíneos com significado clínico. Apesar de uma transfusão esporádica poder não levar a uma aloimunização tardia, várias transfusões podem culminar em quadros mais graves e complicados. Foi possível demonstrar que os antigénios dos Sistemas RH e Kell são muito imunogénicos, mostrando a importância de respeitar a sua compatibilidade na maioria das transfusões na RAM, principalmente em doentes que têm uma grande probabilidade de serem hiper respondedores, serem politransfundidos e terem patologias hemato-oncológicas. Contudo, em algumas situações, devido a fenótipos raros de determinados doentes, não foi possível se transfundir o CE do dador respeitando todos os antigénios de grupos com significado clinico presentes nos eritrócitos do doente, o que culminou

em quadros de aloimunização tardia. Assim, será necessário repensar novas estratégias, entre elas, fenotipar nos sistemas sanguíneos Duffy, Kidd e Ss os doentes de maior risco, doentes com patologias genéticas e hemato-oncológicas, antes de administrar qualquer CE. As limitações da hemaglutinação na determinação de antígenos fraca expressão, de antígenos raros, na presença de alo e/ou autoanticorpos, interferências medicamentosas(daratumumab), ou após transfusões múltiplas, podem ser esclarecidos com técnicas de biologia molecular permitindo determinar o genótipo e inferir o fenótipo nos doentes previamente transfundidos fora da RAM.

A aloimunização é um problema importante, onde uma exposição secundária em situações emergentes pode ser fatal. Visto que o ser humano está em constante mobilidade, seria uma boa estratégia registrar no processo clínico que acompanha o doente a existência de aloimunização e qual o aloanticorpo identificado. Assim, a implementação no sistema de saúde desta informação, permitirá uniformizar o processo e aumentar a segurança da transfusão no doente, evitando exposições secundárias e atrasos na disponibilização de CE, nomeadamente quando o doente está fora da sua zona de residência.

O estudo da resposta imune por parte do doente é fundamental para a avaliação clínica após transfusão e após aloimunização. Como foi possível evidenciar no estudo, apesar de um quadro de aloimunização, após três meses o título de anticorpo era indetetável em mais de 50% dos doentes com resultado registado. Contudo, este problema deverá de ser mais aprofundado em estudos futuros de forma a que todos os doentes tenham o acompanhamento desta avaliação laboratorial e clínica após a transfusão de CE.

O presente estudo demonstrou ser uma mais valia para a instituição, permitindo implementar novos procedimentos e estratégias de modo a minimizar a aloimunização tardia nos doentes transfundidos.

Referências Bibliográficas

1. Europeias DASC, Directiva P. Prestação de informações aos candidatos a dadores. 2004;(2):25–39.
2. Decreto-Lei n.º 185/2015. Decreto-Lei n.º 185/2015 de 2 de setembro. Diário da República Ministério da Saúde. 2015;5999–6000.
3. FAUST RJ. Technical Manual of the American Association of Blood Banks. Vol. 65, Anesthesiology. 2005. 242 p.
4. Evers D. Clinical Determinants of red cell alloimmunization, implications for preventative antigen matching strategies. Vol. 53, Journal of Chemical Information and Modeling. 2017. 7–136 p.
5. Baiocchi E, Nardoza LMM. Aloimunização. Rev Bras Ginecol e Obs. 2009;31(6).
6. Datta SS, Mukherjee S, Talukder B, Bhattacharya P, Mukherjee K. Frequency of Red Cell Alloimmunization and Autoimmunization in Thalassemia Patients: A Report from Eastern India. 2015;2015:1–6.
7. Gehrie EA, Tormey CA. The Influence of Clinical and Biological Factors on Transfusion-Associated Non-ABO Antigen Alloimmunization: Responders, Hyper-Responders, and Non-Responders. Transfus Med Hemotherapy. 2014;41(6):4.
8. Instituto Português do Sangue e da Transplantação. Relatório de Atividade Transfusional e Sistema Português de Hemovigilância. 2017;
9. Cardigan R. Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components (20th edn). Transfusion Medicine. 2020.
10. Instituto Português do Sangue e da Transplantação. Norma nº 009/CN-IPS/97. 1998.
11. Dean L. Blood and the cells it contains. Blood Groups Red Cell Antigens. 2005;(Md):1–6.
12. Direção-Geral da Saúde. Norma 038/2012 Utilização Clínica de Concentrado Eritrocitário no Adulto. Util Clínica Conc Eritrocitário no Adulto. 2012;6–9.
13. Barra A, Costa C, Cardoso E, Lichtner A, Clara Abadesso D, Dra Cristina Trindade da Dra Teresa Ferreira D. Transfusão De Componentes Sanguíneos E Derivados. 2015;30.
14. Williams LA, Simmons SC, Pham HP. Pretransfusion Testing. Clin Princ Transfus Med. 2018;41–51.
15. CAGLI V. The Rh system. Policlinico Prat. 1962;69(D):1617–9.
16. Direção Geral de Saúde. Gestão do sangue do doente; Patient Blood Management (PBM) em cirurgia eletiva. Norma nº 011/2018. 2018;1–11.
17. Direção-Geral da Saúde. Norma 009/2012 Utilização Clínica de Plasma no Adulto. Direção Geral da Saúde. 2015;1–14.
18. Bonifácio SL, Novaretti MCZ. Funções biológicas dos antígenos eritrocitários. Rev Bras Hematol Hemoter. 2009;31(2):104–11.

19. Körmöczi GF, Mayr WR. Responder Individuality in Red Blood Cell Alloimmunization. *Transfus Med Hemotherapy*. 2014;41(6):5.
20. Anstee DJ. Red cell genotyping and the future of pretransfusion testing. *Blood*. 2009;114(2):248–56.
21. Mohammad Hossein Ahmadi, Faezeh Maroufi, Hooria Kelki NZ, Fatemeh Moradi, Amirhosein Maali MA. The incidence of ABO, Kell and Rh system blood groups in general population of Qazvin, Iran. *J Paramed Sci*. 2018;
22. Table of blood group systems [Internet]. Disponível em: https://www.isbtweb.org/fileadmin/user_upload/Table_of_blood_group_systems_v6.0_6th_August_2019.pdf
23. Shaz BH. Other Blood Group Systems, Collections and Antigens. *Transfus Med Hemost*. 2009;145–9.
24. Schonewille H. Red Blood Cell Alloimmunization, After Blood Transfusion. Leiden Univ Press. 2008;870.
25. Parker V, Tormey CA. The Direct Antiglobulin Test: Indications, Interpretation, and Pitfalls. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141(2):305–10.
26. Ryder AB, Zimring JC, Hendrickson JE. Factors Influencing RBC Alloimmunization: Lessons Learned from Murine Models. *Transfus Med Hemotherapy*. 2014;41(6):2.
27. Caamaño J, Musante E, Contreras M, Ulloa H, Reyes C, Inaipil V, et al. Frequency and Specificity of Red Blood Cell Alloimmunization in Chilean Transfused Patients. *Transfus Med Hemotherapy*. 2015;42(1):4–7.
28. Fawwaz A-J, Ali A Bin, Ramli M Bin, Ahmed S, Ismail M. Prevalence and specificities of red cell alloantibodies among blood recipients in the Malaysian state of Kelantan. *Asian J Transfus Sci*. 2011;5:42–5.
29. Pessoni LL, Ferreira MA, Silva JCR Da, Alcântara KC De. Red blood cell alloimmunization among hospitalized patients: transfusion reactions and low alloantibody identification rate. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2018;40(4):326–31.
30. Ferreira BM, Paula Júnior MR De. Determinação da frequência de anticorpos irregulares pós-transfusionais. *Univ Ciências da Saúde*. 2015;13(2).
31. Makarovska-Bojadzjieva T, Velkova E, Blagoevska M. The Impact of Extended Typing On Red Blood Cell Alloimmunization in Transfused Patients. *Open Access Maced J Med Sci*. 2017;5(2):107–11.
32. Lasalle-Williams M, Nuss R, Le T et al. Extended red blood cell antigen matching for transfusions in sickle cell disease: a review of a 14-year experience from a single center (CME). *Transfusion*. 2011;

33. Duran JA, Chabert T, Rodrigues F, Pestana D. Distribuição Dos Grupos Sanguíneos Na População Portuguesa. *ABO – Rev Med Transfusional*. 2007;29:5–17.
34. Chhetri R, Wee LYA, Sinha R, Kutyna MM, Pham A, Stathopoulos H, et al. Red cell autoimmunization and alloimmunization in myelodysplastic syndromes: prevalence, characteristic and significance. *Haematologica*. 2019;haematol.2018.2.