

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS
MÉDICAS

**LESÃO DE ESTOQUE DE CONCENTRADO DE HEMÁCIAS E A
RELAÇÃO COM AS REAÇÕES TRANSFUSIONAIS FEBRIS NÃO
HEMOLÍTICAS**

MONALISA SOSNOSKI

Porto Alegre

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS
MÉDICAS

**LESÃO DE ESTOQUE DE CONCENTRADO DE HEMÁCIAS E A
RELAÇÃO COM AS REAÇÕES TRANSFUSIONAIS FEBRIS NÃO
HEMOLÍTICAS**

MONALISA SOSNOSKI

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Adolpho Moreira
Faulhaber

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas.

**Porto Alegre
2017**

BANCA EXAMINADORA

Dr^a Enf^a Cassia Maria Frediani Morsch

Dr^a Cláudia Caceres Astigarraga

Prof.^a Dr^a Elizeth Paz da Silva Heldt

Prof^a Dr^a Liane Esteves Daudt

Prof^a Dr^a Luciana Paula Cadore Stefani

Prof^o Dr. Rafael da Silva Chaker

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos doadores de sangue e plaquetas que, por meio do seu gesto de amor, solidariedade e altruísmo nos auxiliam diariamente a melhorar e salvar vidas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Gustavo Faulhauber. Mil vezes obrigada por aceitar uma aluna inexperiente em fazer ciência, as vezes atrapalhada, mas com sede do saber. És um excelente mestre, soubeste me conduzir de maneira tranquila e firme. És um lord! .

Ao Drº Leo Sekine por estar sempre disposto a me ajudar com as minhas intermináveis dúvidas, me auxiliando e exigindo o meu melhor, sempre com a sua calma e serenidade.

À equipe de profissionais do Banco de Sangue, em especial à equipe de enfermagem, que diariamente trabalham com amor e dedicação em prol dos doadores de sangue e dos pacientes que tanto precisam de nós e, que auxiliam no crescimento da hemoterapia.

Ao Prof. Tor Onsten pela oportunidade em trabalhar com o grupo de Reações Transfusoriais e pela confiança em mim depositada.

Aos meus pais, irmão e irmã, que sempre me apoiaram e incentivaram para que eu desse o melhor de mim. E à minha irmã, meu agradecimento também pelo auxílio para que esta pesquisa pudesse ser apresentada.

Ao Enrico, meu sobrinho e afilhado por me fazer exercitar a paciência e renovar diariamente a esperança por dias melhores.

Aos meus amigos, de longo ou pouco tempo, por me apoiarem e não me deixarem desistir e, que, em cada tombo me ensinavam como levantar.

“Eu atribuo meu sucesso a isto: eu nunca desisto ou dou alguma desculpa.”

(Florence Nightingale)

RESUMO

Introdução: As transfusões de sangue e as Reações transfusionais (RT) têm tido grande destaque nas discussões e estudos da hemoterapia atual, devido a necessidade e relevância para a prática transfusional e na busca em qualificar as transfusões e refinar a classificação das RT. As reações transfusionais febris não hemolíticas (RTFNH) apresentam um crescente no número de notificações e despertam a necessidade de mais estudos. Durante a estocagem dos hemocomponentes, ocorrem uma série de alterações morfológicas, aumento de potássio (K⁺) extracelular, hemólise e aumento de hemoglobina (Hb) sobrenadante. Analisar a qualidade e viabilidade do hemocomponente pode nos levar a verificar os fatores preditores de uma RT, procurando minimizar os riscos e selecionar um hemocomponente de melhor qualidade ao paciente.

Objetivos: Avaliar potenciais fatores etiológicos na precipitação das RTFNH por meio da mensuração na concentração de sódio (Na⁺) e K⁺ no sobrenadante, a contagem leucocitária por mL, o cultural e o Hematócrito (Ht) e Hb da bolsa de concentrado de hemácias (CH) envolvidas, comparando estes parâmetros em relação a um grupo controle de bolsas de CH. Analisar e comparar o perfil dos pacientes envolvidos com a RTFNH e do grupo controle e, estimar a frequência de culturais coletados positivos e os germes envolvidos.

Metodologia: Estudo de caso-controle com seleção de amostras a partir de notificações de suspeita de RTFNH ao Serviço de Hemoterapia de um Hospital Universitário de Porto Alegre - RS, no período de setembro de 2015 a setembro de 2016. O grupo controle foi selecionado a partir da mesma população de bolsas, sendo pareadas por tipagem sanguínea e data de vencimento do hemocomponente, numa proporção de 1:2,1.

Resultados: o total incluído foi de 124 bolsas, sendo 39(30,5%) do grupo RT e 85(69,5%) do grupo controle, onde uma série de variáveis foram avaliadas. A média de dias de estocagem das bolsas foi de 10,7(DP=6,7) dias, sendo que no grupo RT 12,1(DP=8,1), foi significativamente maior que no grupo controle 10(DP=5,8) com (P=0,037). Também quando avaliamos as dosagens de Ht as médias verificadas foram de 68,3(DP=7,27), sendo no grupo RT 71(DP=81) e 67(DP=6,5) no grupo controle e, na comparação dos grupos, observamos um P<0,001. Dessa forma, a

cada dia a mais de estocagem e, a cada ponto a mais no HT da bolsa, há um aumento na chance de aparecimento de RTFNH.

Conclusões: a lesão de estocagem é uma temática importante no momento da oferta de hemocomponentes ao paciente, principalmente aos pacientes em tratamento oncológico de tumores sólidos. A avaliação do HT e do tempo de estocagem da bolsa demonstraram ter relevância estatística e clínica na predição de aparecimento de RTFNH. O manejo de estoque adequado para poder haver essa oferta se faz necessário. Novos estudos serão necessários para verificarmos os mecanismos desencadeantes da RTFNH comparado com o Ht da bolsa e, também estudos relacionados à utilização de pré medicação nas transfusões.

Palavras-Chaves: transfusão de sangue, reações transfusionais, reação transfusional febril não hemolítica, lesão de estoque, concentrado de hemácias.

ABSTRACT

Introduction: Blood transfusions and the transfusion reactions (TR) have had great emphasis in current hemotherapy discussions and studies, due to its importance in transfusion practice and with the aim of qualifying the transfusions and refining TR classifications. The non-hemolytic febrile transfusion reaction (NHFTTR) show an increasing number of notifications and arouse the necessity for further studies. During the storage of blood products a series of morphologic alterations occur, such as extracellular potassium (K⁺) increase, hemolysis and supernatant Hemoglobin (Hb) increase. Analyzing the blood product quality and availability may lead us to verifying predictive factors of a TR, seeking to minimize the risks and select a blood product of a superior quality for the patient.

Objective: Evaluate potential etiological factors in the NHFTTR precipitation through sodium (Na⁺) concentration measurement and K⁺ in the supernatant, the leukocyte count by mL, the cultural and the Hematocrit (Ht), and Hb of erythrocyte concentrate bag (EC) involved, comparing those parameters in relation to a control group of EC blood bags. Analyze and compare the profile of the patients involved with a NHFTTR to the control group and estimate the frequency of positive cultures collected and the germs involved.

Methodology: Case-control study with sampling selections from a notification of NHFTTR suspicion at a Hemotherapy Service in a College Hospital in Porto Alegre, RS, during the period from September 2015 to September 2016, where the control-group was selected from the same blood bag population, being grouped by blood type and blood product expiry date, in proportion 1:2:1.

Results: Were studied 124 blood bags, being 39(39,5%) from the TR group and 85(69,5%) from the control group, where a series of invariables were evaluated. The mean of blood bag storage was 8.5 days, 10,7(PD=6,7) in the TR group and 10(DP=5,8) in the control group, and when compared they showed a P=0.037. Moreover, when we analyzed the Ht dosage, it was verified an mean of 68,3(DP=7,27), in the TR group and 71(DP=81), 67(DP=6,5) in the control group and, comparing both groups, we observed a P=<0.001. Therefore, with each additional storage day and, with each additional point in the Ht bool bag, the chance of NHFTTR appearance increases.

Conclusions: Storage injury is an important topic at the moment of the offer of blood components to the patient, especially to the ones with ongoing oncological treatments for solid tumors. The HT evaluation and the storage time of the blood bag demonstrate clinical and statistical relevance in the prediction of NHFTR appearance. The management of adequate storage is fundamental for the offer's availability. Further studies are needed to verify the triggering mechanisms of NHFTR compared to the Ht of the bag, as well as studies associated with the use of premedication in transfusions.

Key words: blood transfusion, transfusion reaction, non-hemolytic febrile transfusion reaction, storage lesion, red blood cell.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	19
----------------	----

LISTA DE TABELAS

Quadro 1.....	26
Quadro 2.....	27
Marco teórico	34
Tabela 1.	47
Tabela 2.....	48
Tabela 3.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADSOL	Solução anticoagulante de manitol, soro fisiológico, adenina e dextrose
ATP	Adenosina trifosfato
CH	Concentrado de Hemácias
CMV	Citomegalovírus
CNH	Comissão Nacional de Hemoterapia
CP	Concentrado de Plaquetas
CPD	Solução anticoagulante de citrato e dextrose
CPDA1	Solução anticoagulante de citrato, dextrose e adenina
CRIO	Crioprecipitado
DPC2,3	2-3 Difofoglicerato
Hb	Hemoglobina
Ht	Hematócrito
K+	Potássio
Na+	Sódio
PF	Plasma Fresco
RA	Reação Alérgica
RT	Reação Transfusional
RTFNH	Reação Transfusional Febril não Hemolítica
ST	Sangue total
TRALI	Lesão Pulmonar Aguda Relacionada à Transfusão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1. Estratégias para Localização e Selecionar as Informações	18
2.2 Ciclo do Sangue	19
2.3. Lesão de Estoque de Hemocomponentes	21
2.4. Leucorredução de Hemocomponentes	23
2.5. Reações Transfusionais	25
2.6. O Uso de pré medicação	29
2.7. Hemovigilância	32
3. MARCO TEÓRICO	34
4. JUSTIFICATIVAS	35
5. OBJETIVOS	36
5.1. Objetivo Primário	36
5.2. Objetivos Secundários.....	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO.....	37
7. ARTIGO	40
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
9. PERSPECTIVAS FUTURAS	55

1 INTRODUÇÃO

A transfusão de sangue e seus componentes é considerada uma das terapias mais utilizadas no mundo, sendo que a transfusão de hemácias é a forma mais antiga de terapia celular.¹ A transfusão de concentrado de hemácias (CH) representa um dos possíveis tratamentos utilizados para restauração da oxigenação tecidual nas situações em que a demanda de oxigênio ultrapassa a oferta. Apesar de os mecanismos compensatórios da síndrome anêmica terem sido intensivamente estudados, valores de hemoglobina a partir dos quais a transfusão de hemácias estaria indicada ainda são controversos e observa-se, na prática médica, que o limiar para prescrição de unidades de CH é heterogêneo, o que leva a um aumento da incidência de reações adversas e do custo para o sistema de saúde ou para o paciente.²

A hemoterapia em sua história é um exemplo importante de avanço das ciências e pesquisa nas práticas médicas, pois na antiguidade as transfusões eram realizadas a partir de sangue de animais diretamente em seres humanos.¹ Assim, a transfusão de sangue para fins terapêuticos teve origem no século XVII, após a descrição da circulação sanguínea Harvey (1628). No entanto, foi a descoberta do grupo sanguíneo ABO, por Landsteiner, em 1900, e pelos seus discípulos Descatelo e Sturli, em 1902, que houve um novo impulso à prática transfusional.³

A prática transfusional é uma ciência em constante desenvolvimento, com aprimoramentos e inovações em sua prática. Ela aponta diversas perspectivas de evolução no presente e no futuro, em âmbito nacional e internacional. No Brasil, estes desenvolvimentos iniciaram na década de 40, em que a hemoterapia apresentou destaques científicos importantes com o Curso de Hematologia, promovido por Walter Oswaldo Cruz, em Manguinhos. Já em 8 de agosto de 1949, ocorreu o I Congresso Paulista de Hemoterapia, promovido por Carlos da Silva Lacaz e Oswaldo Mellone, que contou com a participação de hemoterapeutas e hematologistas renomados da época. Naquele momento, ocorreu o lançamento das bases para a fundação da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, em 1950. Nesta década, destacaram-se vários estudos sobre a Doença Hemolítica Perinatal e Imuno-hematologia, com os trabalhos de Humberto Costa Ferreira,

Oswaldo Mellone e Oscar Yahn, P.C. Junqueira, Carlos Lacaz, F. Ottensooser e Ruy Faria.^{4,5}

No ano de 1964, o então Presidente da República Marechal Humberto de Alencar Castelo Branco instituiu no Ministério da Saúde a Comissão Nacional de Hemoterapia (CNH), que estabelecia a Política Nacional do Sangue⁴. Essa comissão, que foi extinta em 1976, era responsável por organizar a doação voluntária e distribuição do sangue, bem como a proteção do doador ao receptor e o estímulo à formação de recursos humanos e incentivo à pesquisa. Já na década de 80, com o aumento do HIV/AIDS, foi criado o Programa Nacional de Sangue e Hemocomponentes, que tinha a finalidade de regularização da situação hemoterápica no Brasil, acabando, dessa forma, com as doações remuneradas. Desde então, diversos avanços nessa área foram sendo descobertos e estudados por diversos pesquisadores das áreas médicas e não médicas.^{4,5}

A transfusão sanguínea é uma terapêutica benéfica e consagrada, que contribui para a preservação da saúde, e que salva milhares de vida a cada ano. No entanto, também é um processo que, mesmo realizado dentro das normas preconizadas, bem indicado e corretamente administrado, envolve risco sanitário. Dentre os riscos relacionados à transfusão sanguínea, a reação transfusional se reveste de grande importância, tanto pela frequência com que ocorre, como pelo seu potencial para produzir agravos à saúde dos pacientes, que podem elevar o risco de sequelas ou mesmo mortes.⁸

As RTFNH têm apresentado um crescente no número de notificações e, apesar de não acarretarem grande impacto em números de morbimortalidade, despertam a necessidade de mais estudos, pois os sintomas são extremamente desagradáveis para quem os sentem, geram a interrupção da transfusão e a necessidade de exames adicionais (nova prova de compatibilidade transfusional, hemocultura) acarretando a necessidade de preparação de outro hemocomponente.^{3,4}

Durante a estocagem dos hemocomponentes, os glóbulos vermelhos apresentam alterações morfológicas com diminuição do metabolismo comum, perda de K⁺ intracelular e a acumulação de Na⁺ dentro do citoplasma. Também já se

demonstrou que o armazenamento resulta em hemólise e formação de micropartículas. A hemólise dos eritrócitos aumenta os níveis de Hb sobrenadante influenciados pelos fatores específicos do doador durante a coleta e processamento dos produtos sanguíneos.¹¹

Da mesma forma, os estudos envolvendo esta temática têm demonstrado cada dia mais a sua importância e relevância, pois analisar a qualidade e viabilidade do hemocomponente pode nos levar a verificar os fatores preditores de uma RT e, assim, procurar minimizar os riscos e selecionar um hemocomponente de maior qualidade para aquela transfusão do paciente.

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Estratégias para Localização e Selecionar as Informações

Esta revisão da literatura está focada nos aspectos relacionados à identificação de reações transfusionais, principalmente as reações transfusionais febris não hemolíticas. Buscamos também os principais efeitos da lesão de estoque relacionados aos hemocomponentes e o controle de qualidade destes. Procuramos relacionar estas informações também com a utilização de pré medicação às transfusões e os possíveis benefícios ou não desta prática. A estratégia de busca envolveu as seguintes bases de dados: LILACS, SciELO e PubMed , no período de 1995 a 2017. Foram realizadas buscas através dos termos “Blood transfusion ”, “Transfusion reaction”, “Non-hemolytic febrile transfusion reaction”, “Injury of stock of blood component”, “Quality control of blood components”, “Pre-medication for blood components” , e suas combinações apresentadas na Figura 1.

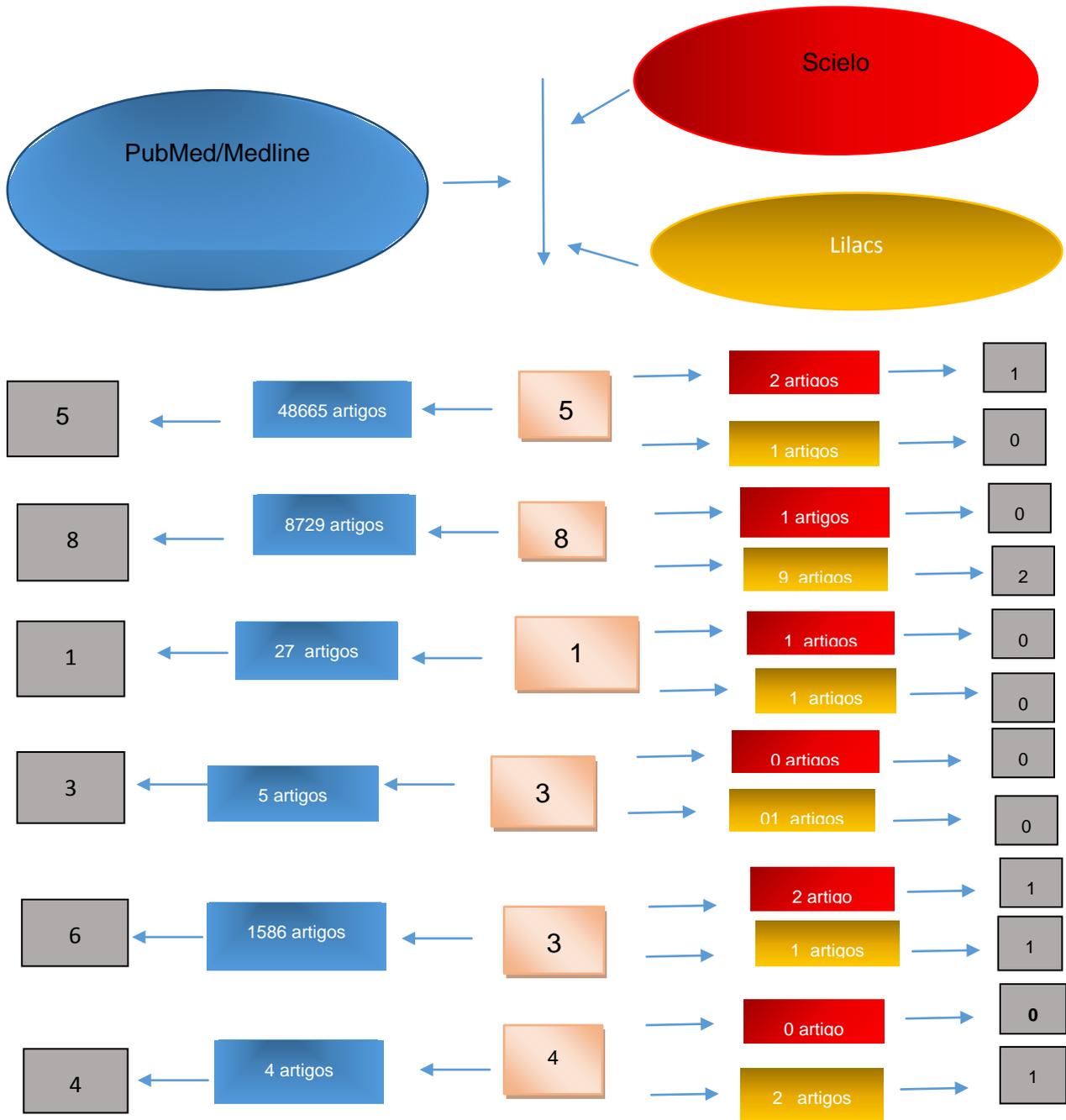


Figura 1 . Estratégia de busca de referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo. Caixas em laranja(centrais) indicam os artigos que foram incluídos no estudo obedecendo os critérios de inclusão , utilizando-se as palavras-chave estabelecidas no estudo . Fonte : elaborado pela autora (2017).

1.2. Ciclo do Sangue

A medicina transfusional, ou hemoterapia, pode ser dividida em duas grandes áreas de atividades: 1) a coleta, o processamento, a qualificação e o armazenamento dos produtos sanguíneos; 2) a transfusão dos componentes e derivados do sangue, que constitui a chamada “clínica transfusional”.¹

Após a realização da coleta de ST (sangue total) nos serviços de hemoterapia, ele é armazenado, atendendo os requisitos exigidos pelo processo produtivo. Posteriormente, o processamento é realizado em bolsas com sistema fechado. A produção de hemocomponentes pode ser seguida de modificações (leucorredução, irradiação, lavagem), atendendo, desta maneira, aos mais variados pacientes. Após este processo, o hemocomponente fica em estoque, aguardando uma solicitação de transfusão.¹⁰

A segurança transfusional se inicia no atendimento aos doadores e vai até a correta instalação dos hemocomponentes e avaliação dos resultados da transfusão. Todos os passos, desde a coleta de amostras pré-transfusionais até o monitoramento após o término da transfusão, devem ser seguidos criteriosamente. Os erros mais recorrentes no processo transfusional acontecem devido à falha na identificação do paciente em dois momentos: na coleta de amostras e na instalação do hemocomponente.¹

Atualmente, a terapia transfusional se tornou muito mais segura e efetiva, com legislação específica e importantes mecanismos de evitar maiores danos ao receptor. Porém os riscos de efeitos adversos ainda estão presentes em todas as transfusões realizadas. Descrições de um estudo multicêntrico envolvendo 35 hospitais-escola pediátricos nos Estados Unidos mostram que cerca de 0,95% dos pacientes transfundidos apresentaram reação adversa, sendo que as crianças acima de dois anos foram as mais susceptíveis e a maioria dos eventos foram não-graves.⁹

Para auxiliar nesta prevenção de eventos adversos, diversas medidas devem ser tomadas previamente para a instalação do hemocomponente: é obrigatória a confirmação da identificação do receptor, do rótulo da bolsa, dos dados da etiqueta de liberação, validade do hemocomponente, realização de inspeção visual da bolsa e a verificação dos sinais vitais.⁴ Durante o ato transfusional, o paciente deve ser periodicamente observado para possibilitar a detecção precoce das eventuais reações adversas, pois muitas vezes, elas podem ser subdiagnosticadas.⁷

Durante a transfusão, é necessária atenção especial à população oncológica, que realiza muitas transfusões e, por consequência, está mais exposta a reações que podem ser graves, pois muitos desses pacientes apresentam estado geral comprometido e, ainda, as complicações relacionadas à transfusão podem ocorrer e trazer sérios prejuízos aos pacientes, em alguns casos, podendo ser fatais.^{9,10}

1.3. Lesão de Estoque de Hemocomponentes

Após a coleta do sangue total, ele é fracionado em três componentes principais: concentrado de hemácias (CH), concentrado de plaquetas (CP) e plasma fresco (PF). Cada um desses componentes tem uma temperatura diferente de conservação e também de validade. Após a liberação dos exames de sorologia, ficam à disposição nos estoques a fim de serem utilizados para a transfusão em pacientes.¹

Os componentes sanguíneos compreendem os produtos finais produzidos a partir do sangue total. O ST (400 a 500ml) é coletado em bolsas plásticas, em presença de solução (cerca de 63ml) contendo anticoagulante e aditivos para preservar a função das hemácias. A solução mais simples (CPD) contém ácido cítrico, para quelar o cálcio e evitar a coagulação; glicose, para manter o metabolismo das hemácias durante o armazenamento e fosfatos, como tampão. Algumas soluções mais modernas incluem adenina (CPDA-1), o manitol e o cloreto de sódio (ADSOL). Estas variações de soluções preservantes fazem com que o tempo de armazenamento também tenha variações, CPD são 21 dias, CPDA-1 35 dias e ADSOL 42 dias.¹

Os elementos da lesão de armazenamento de glóbulos vermelhos demonstram alterações morfológicas, diminuição do metabolismo comum, decréscimo na

concentração de adenosina trifosfato (ATP), acidose com uma diminuição da concentração de 2-3-difosfoglicerato (2,3-DPG), perda da função, geralmente transitória, de bombas de cátions e, conseqüente, perda de potássio intracelular e a acumulação de sódio dentro do citoplasma. O dano oxidativo com alterações à estrutura da banda 314 e peroxidação lipídica, com mudanças apoptóticas com racemização de fosfolipídios de membrana e perda de partes da membrana por meio da vesiculação.¹¹

Também já se demonstrou que a perda da integridade dos glóbulos vermelhos durante o armazenamento resulta em hemólise e formação de micropartículas. Existem vários estudos que documentaram a hemólise como uma função do tempo durante o armazenamento. Os níveis de hemoglobina extracelular relatados na literatura variam de 28 μM (em heme) após 35 dias de armazenamento em fosfato citrato dextrose adenina (CPDA) a 80 μM após 50 dias de armazenamento.¹¹

A hemólise de eritrócitos ocorre durante o armazenamento ex vivo e os níveis de Hb sobrenadante podem ser influenciados pelos fatores específicos do doador durante a coleta e processamento dos produtos sanguíneos.¹²

Alguns estudos descrevem o aumento gradativo de K^+ , indicando falha no funcionamento da $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ da membrana e, à medida em que a glicose é consumida para produção de ATP e conseqüente manutenção da integralidade da célula, acumula-se lactato, produto final da glicólise. Isso provoca uma acidificação do meio, um dos grandes problemas na preservação do eritrócito em condições usuais e importante fator limitante para sua viabilidade. Assim, a medida de K^+ no meio extracelular é um marcador válido para o controle de qualidade durante a preservação.¹⁵

A avaliação do consumo de glicose associada ao aumento gradativo da concentração de K^+ extracelular e à redução dos níveis de ATP mostrou correlação direta com a diminuição da porcentagem de discócitos, forma normal do eritrócito. Nas análises laboratoriais, foram verificados que a dosagem de K^+ aumentava gradativamente com o tempo de estocagem do hemocomponente: no dia 0 a dosagem K^+ de 19,1(8,4), no dia 14 33,4(7,5), no dia 28 51,4 (8,0) e no dia 42 61,1(7,0).¹³

Outro fator importante do armazenamento inicial é a determinação do pH da bolsa, pois esse dado demonstra o metabolismo e a sobrevivência dos glóbulos vermelhos armazenados, mas é apenas geralmente controlado em sistemas de armazenamento e varia de forma modesta, mas clinicamente significativa. A suspensão resultante de glóbulos vermelhos em CPD tem um pH de cerca de 7,0, mas o pH exato pode ser 0,2 unidades pH mais ou menos dependendo da concentração de hemoglobina e do volume do sangue do doador.¹⁴

Da mesma forma, os estudos parecem demonstrar uma relação entre o tempo de armazenamento e um aumento proporcional de eventos adversos nos pacientes transfundidos.¹⁵ As consequências clínicas da maioria destas alterações ainda são desconhecidas, mas a hipercalemia pode levar a arritmias cardíacas, os fosfolipídios desalquilados podem levar a lesões pulmonares agudas relacionadas com a transfusão e a contaminação bacteriana dos glóbulos vermelhos armazenados pode causar choque séptico.¹⁴

Os estudos epidemiológicos demonstrando associação entre transfusão de eritrócitos e resultados potencialmente piores foram conduzidos em pacientes com traumatismo gravemente doente ou após cirurgia cardíaca que necessite de apoio com circulação extracorpórea.¹⁴

Outro estudo comparou desfechos clínicos em pacientes transfundidos exclusivamente com glóbulos vermelhos armazenados não mais de 21 dias com aqueles em pacientes transfundidos exclusivamente com glóbulos vermelhos armazenados 35 dias ou mais. Em pacientes críticos, os glóbulos vermelhos armazenados por 35-42 dias foram associados com aumento da morbidade ($P = 0,002$) e mortalidade ($P = 0,009$).¹⁴

Considerando que a transfusão de CH tem como objetivo restaurar os níveis de Hb e oxigênio no receptor, a integridade celular tem sido tradicionalmente utilizada como padrão de qualidade significativo para a aprovação e otimização de estratégias de armazenamento.¹²

1.4. Leucorredução de Hemocomponentes

Uma bolsa de cerca de 450 ml de sangue contém cerca de $3,0 \times 10^9$ leucócitos e, um concentrado de hemácias pobre em leucócitos são hemácias preparadas por um método que assegure a remoção de, pelo menos, 85% dos leucócitos originalmente presentes na bolsa de sangue coletada. Conforme a Portaria 158, os concentrados de hemácias desleucocitados são concentrados de hemácias contendo menos que $5,0 \times 10^6$ leucócitos por unidade e, este procedimento deve ser realizado em até 48h após a coleta. Este tipo de hemocomponente é indicado para a transfusão em pacientes poli transfundidos, em que podemos observar a presença de anticorpos antileucocitários, que produzem reações febris não hemolíticas (RFNH) em transfusões que contenham esses leucócitos.^{5,6,15}

Esses efeitos foram descritos em diversos estudos de diferentes autores, desde Brittingham na década de 50, passando por Chaplin, que descreveu em 1959 o método de centrifugação invertida do ST, utilizando a bolsa tripla convencional, que demonstrou vantagem sobre a lavagem porque o sistema fechado era mantido e, dessa maneira, prevenia a contaminação bacteriana. Já em meados de 1962, Grenwalt descreveu um outro tipo de filtro, constituído de fibras de nylon e lã, entrelaçadas fortemente, que eram esterilizadas a gás e permitiam uma boa redução de leucócitos. Em 1972, Diepenhorst descreveu a quase completa remoção de todos os leucócitos (98%) de plaquetas (90%) e uma boa recuperação de volume de hemácias com a utilização de colunas preenchidas com fibras de nylon e lã fortemente empacotadas e, também com fibras de acetato de celulose.¹⁶

Na atualidade da hemoterapia, a utilização dos filtros é considerada como um método muito eficiente de remoção de leucócitos, sendo possível diminuir e, até mesmo evitar as RTFNH, alo imunização, refratariedade plaquetária e transmissão de CMV (citomegalovírus).

Alguns estudos afirmam que os leucócitos podem ser vetores de transmissão de diversos agentes infecciosos e sua lise celular durante o período de estocagem, podendo, assim, haver comprometimento da qualidade dos hemocomponentes.

Também demonstram que a leucorredução é um recurso viável e eficaz na redução de ocorrências dos incidentes transfusionais.¹⁷

Um estudo avaliou um total de 365 reações transfusionais em 91 unidades de células vermelhas de sangue transfundido. Foram notificados e destes, 266 foram classificadas como RTFNH (72,9%), seguidos por reações alérgicas (7,1%) e reações diversas (3,8%). Comparando as taxas de hemocomponentes leucorreduzidos com os não leucorreduzidos, a redução universal reduziu significativamente as taxas de RTFNH (0,35% X 0,24% $p= 0,002$).¹⁸

O estudo, de Wang¹⁹, revelou que algumas citocinas se acumularam no sangue total dentro de horas após o sangue doado, e demonstrou uma taxa quase duplicada de RTFNH entre pré estocagem e pós estocagem em pool de CP. Também houve a realização de comparação com a leucorredução de aférese e pool de CP em pré estocagem, com a leucorredução pós estocagem e a remoção de plasma, demonstrando que a pré estocagem foi mais eficiente na diminuição da frequência de RTFNH. Este estudo revelou uma correlação temporal entre as datas de leucorredução e as taxas de RTFNH, que foram submetidos à leucorredução no momento da coleta e tiveram menores taxas de RTFNH. A pré estocagem que sofreu leucorredução 36 a 48 horas após a coleta tinha mais do que o dobro da taxa de RTFNH. Comparando pré e pós estocagem submetidos no momento da emissão do produto, elas apresentaram as maiores taxas de RTFNH.¹⁹

1.5. Reações Transfusionais

A reação transfusional é definida como qualquer intercorrência que ocorra como consequência da transfusão de sangue, durante ou após a sua administração.¹ A classificação das RT é definida de acordo com o tempo de aparecimento do quadro clínico ou laboratorial, a gravidade, o mecanismo fisiopatológico e a correlação com a transfusão. (Quadro 1 e 2)

Quadro 1. Reações Transfusionais Imediatas

IMUNES	NÃO IMUNES
Reação hemolítica aguda imune	Sobrecarga circulatória relacionada à transfusão
Reação febril não hemolítica	Reação por contaminação bacteriana
Reação alérgica	Reação hipotensiva
Lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão (TRALI)	Hemólise não imune
	Distúrbios metabólicos
	Dor aguda relacionada à transfusão
	Hipotermia
	Embolia gasosa

Fonte: Covas DT, Ubiali EMA, De S, GC. *Manual de Medicina Transfusional*. São Paulo. Atheneu, 2014.

Quadro 2. Reações transfusionais tardias

IMUNES	NÃO IMUNES
Reação hemolítica imune tardia	Sobrecarga de ferro
Síndrome de hiperemólise	Transmissão de doenças infecciosas

Purpura pós transfusional	Refratariedade à transfusão de plaquetas
Refratariedade à transfusão de plaquetas	
Doença do enxerto contra o hospedeiro Pós transfusional	
Imunomodulação	

Fonte: Covas DT, Ubiali EMA, De S, GC. *Manual de Medicina Transfusional*. São Paulo. Atheneu, 2014.

Conforme a Portaria 158⁵, devem ser observados alguns passos durante o ato transfusional:

1º - O paciente deve ter os seus sinais vitais (temperatura, pressão arterial e pulso) verificados e registrados, no mínimo, imediatamente antes do início e após o término da transfusão.

2º - Os primeiros dez minutos de transfusão serão acompanhados pelo médico ou profissional de saúde qualificado para tal, que permanecerá ao lado do paciente durante este intervalo de tempo.

3º - Durante o transcurso do ato transfusional, o paciente será periodicamente monitorado para possibilitar a detecção precoce de eventuais reações adversas.

4º - Caso haja alguma reação adversa, o médico será comunicado imediatamente.^{5,6}

2.5.1 Reações Transfusionais Febris não Hemolíticas

Os estudos envolvendo as reações transfusionais imediatas destacam a reação febril não hemolítica (RFNH) que estão entre os incidentes transfusionais imediatos com maiores taxas de notificação e também afirmam que o CH é o tipo de hemocomponente envolvido na maioria das reações transfusionais, considerando que é distribuído em maior quantidade, quando comparado aos demais hemocomponentes.²⁰

As RTFNH não acarretam em grande morbi-mortalidade. No entanto, a avaliação clínica imediata é importante, pois se faz necessário afastar outras causas da febre. O diagnóstico diferencial das RTFNH inclui contaminação bacteriana, TRALI relacionadas à transfusão, à doença ou ao tratamento. Em alguns pacientes, é quase impossível realizar essa distinção, pois em geral, quando a febre acompanha a transfusão, a reação transfusional deve ser investigada. É de suma importância a rápida e adequada investigação de reação febril associada à transfusão de um componente de sangue, uma vez que a febre pode ser o primeiro sintoma de uma RTFNH ou pode estar associado com a infusão de uma unidade contaminada.²¹

As RTFNH são caracterizadas por um aumento da temperatura, normalmente associada a calafrios, acreditando-se que as causas sejam as citocinas pirogênicas e o conteúdo intracelular, que são liberados a partir de leucócitos de doadores após a transfusão para um paciente com anticorpos de leucócitos reativos ou infundidos com o componente do sangue.²²

As reações podem ser impedidas, na maioria dos casos, ao realizar-se a redução do nível de contaminação de leucócitos no componente do sangue, preferencialmente no momento da coleta ou no início do período de armazenagem, de modo que ambas células leucocitárias e os conteúdos celulares sejam removidos e a produção e acumulação de citocinas seja impedida. A maioria dos estudos demonstra uma diminuição substancial da taxa de RTFNH relatados como resultado

da conversão para uso exclusivo de componentes celulares com redução de leucócitos.²²

As RTFNH relacionadas à transfusão de CP são causadas por citocinas que se acumulam no produto durante o armazenamento. Diversos estudos demonstraram altas concentrações de citocinas leucocitárias e derivados em plaquetas armazenadas. Contudo, alguns estudos recentes sugerem que a apoptose de leucócitos e/ou ativação de monócitos durante o processo de fabricação pode desempenhar esse papel. O suporte adicional de citocinas como uma causa de RTFNH foi demonstrado em um estudo clínico randomizado controlado, que verificou que a remoção do sobrenadante do plasma, a partir das plaquetas, antes da transfusão, reduz significativamente a frequência de reações e elimina a maioria das reações adversas graves associadas às transfusões de plaquetas.²³

Quando relacionamos as RTFNH à transfusão de CH, é provavelmente o resultado de uma incompatibilidade entre leucócitos no produto eritrocitário e anticorpos no plasma do destinatário. Alguns estudos, descritos por diversos autores confirmaram que as concentrações de citocinas pró-inflamatórias em uma ampla variedade de produtos eritrocitários armazenados são baixos. Além disso, não há nenhuma evidência para sugerir que as pequenas quantidades de citocinas presentes nos produtos eritrocitários armazenados contribuem para as reações agudas a estes produtos, quando transfundidos.²³

Outros autores demonstraram que a transfusão de CH aumentou as respostas inflamatórias sistêmicas e pulmonares em ratos endotoxêmicos para promover acumulação de neutrófilos mediado por quimiocina e lesão pulmonar que estavam armazenadas. Também demonstraram que a transfusão de CH armazenadas induz resposta de citocinas inflamatórias sistêmicas relacionadas com um consumo de hemoglobina envolvida por uma membrana do sistema fagocitário celular.²⁴

Em seres humanos, houve a demonstração que, enquanto as unidades de glóbulos vermelhos mostram aumento da hemólise e formação de micropartículas com o tempo de armazenamento, pouco se sabe sobre os efeitos da Hb livre e

membrana Hb encapsulado na forma de micropartículas em alterar a inflamação em seres humanos, após transfusão.²⁴

1.6. O Uso de Pré medicação

O uso da medicação pré-transfusão tem sido uma prática adotada em diversos serviços de hemoterapia e unidades que realizam transfusão de sangue e seus derivados pois essa abordagem terapêutica tem sido tipicamente utilizada para prevenir RA (reação alérgica) e RTFNH.

Um estudo realizado através da análise retrospectiva observacional de uma amostra aleatória e estratificada de 324 transfusões ocorridas ao longo de um período de 6 meses, onde a extração de dados foi a partir de registros médicos e os cálculos realizados de forma inter e intraobservador, demonstrou que menos de 2% dos pacientes receberam pré medicação e os achados estão em contraste com as estimativas anteriores da frequência de pré medicação, que foi relatada para ocorrer em 50% a 80% das transfusões de pacientes. A explicação mais provável para este achado é que uma mudança na prática tem ocorrido ao longo do tempo nos hospitais incluídos neste estudo.²⁵

O uso de pré-medicação antes da transfusão é generalizado, isto é relatado por Ezidiegwu em seus estudos que demonstram uma taxa de pré-medicação de 80% em um grande hospital americano. Em outras instituições, onde a maioria das transfusões são administradas a pacientes oncológicos pediátricos, observamos uma taxa de 68%. A abordagem mais comum para a prevenção de reações febris não hemolíticas e urticárias é a pré-medicação com um antipirético e um anti-histamínico, mais comumente acetaminofeno e difenidramina.²⁶

Enquanto alguns estudos clínicos descrevem o uso rotineiro de medicação pré-transfusão com antipiréticos para evitar a RTFNH, outros demonstram que não o fazem por medo de que a medicação irá mascarar as manifestações mais precoces de reações mais graves. Além disso, a maneira de lidar com um episódio de RTFNH também não é clara.²⁶

Também existe um outro foco dos estudos, que são os custos agregados ao uso ou não da pré medicação. Para o prestador de saúde, medicamentos antipiréticos também trazem alguns benefícios. A menor taxa de reação torna viável uma política de retorno das unidades implicadas ao banco de sangue para avaliação laboratorial. Em segundo lugar, o uso de medicamentos antipiréticos reduz a chance de sintomas de um RTFNH que pode obscurecer os achados clínicos de uma doença subjacente do paciente e colocar carga adicional sobre os recursos do hospital, bem como os recursos de médicos, enfermagem e pessoal de laboratório. Finalmente, também será evitada a interrupção de uma transfusão necessária prescrita, com o desperdício resultante dos produtos.²⁷

Em conclusão a esse estudo, é demonstrado que o uso de medicação antipirética pré-transfusão otimiza o atendimento aos pacientes e aos profissionais de saúde, reduzindo a morbidade associada a RTFNH, diminuindo a sua incidência e evitando a exposição desnecessária de pacientes a múltiplas unidades doadoras e diminuindo o desperdício do produto. No entanto, as implicações custo-benefício para o prestador de cuidados de saúde são mínimas neste momento. Além disso, não há evidências de que reações transfusionais perigosas, como hemólise aguda, choque séptico ou TRALI (Lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão), sejam mascaradas por antipiréticos.²⁷

Em um estudo randomizado, duplamente cego, controlado por placebo de 315 pacientes, foi avaliada a necessidade de medicação pré-transfusão de hemocomponentes. Pacientes com idade entre 18 e 65 anos admitidos nos serviços de leucemia ou transplante de medula óssea foram considerados para o estudo. Todos os componentes eram administrados utilizando filtro de leucorredução, irradiados e plaquetas de aférese.²⁸

Os medicamentos de estudo foram administrados 30 minutos antes da primeira transfusão, paracetamol ou difenidramina, e não foram administradas novas doses 4 horas antes da administração dos medicamentos do estudo ou 4 horas após a transfusão. Se a transfusão sequencial de CH ou CP foi administrada após a medicação pré-transfusional, então todas as transfusões ocorridas 4 horas após a medicação pré-transfusão foram incluídas no estudo.²⁸

Sete pacientes medicados com as drogas ativas (0.35/100 transfusões) desenvolveram RTFNH em comparação a 14 que receberam placebo (0.64/100 transfusões). Unilateralmente um $P=0.084$. Foram analisadas todas as RT. O risco de reação não diferiu significativamente entre os grupos de tratamento após o ajuste para covariáveis. Este estudo examina se a medicação pré-transfusional empírica pode reduzir qualquer reação transfusional. Os resultados sugerem que a prática padrão de administração de medicação pré-transfusional profilática em até 80% dos pacientes em serviços de hematologia / oncologia podem reduzir as reações febris, mas não diminuirá significativamente o risco geral de qualquer tipo de reação transfusional.²⁸

Esses resultados sugerem que dezenas de pacientes recebem acetaminofeno e difenidramina desnecessários para evitar RTFNH. Uma alternativa pode ser tratar RTFNH e RA quando elas ocorrem. Também pode-se concluir que a medicação pré-transfusão padrão com acetaminofeno e difenidramina é uma insuficiente profilaxia contra o desenvolvimento de reações transfusionais e que a administração de acetaminofeno com difenidramina não diminui a taxa global de reações transfusionais em pacientes com doenças hematologias/oncologia.²⁸

1.7. Hemovigilância

É de suma relevância que a equipe de saúde que acompanha o paciente saiba como proceder de forma adequada em cada reação transfusional. É necessário, também, que a equipe conheça a política da instituição para terapia transfusional. Como o enfermeiro está diretamente envolvido na preparação do paciente e na infusão do hemocomponente, ele precisa ter conhecimento técnico-científico para realizar o procedimento, sabendo o tempo mínimo e o máximo de infusão, sendo capaz de identificar cada tipo de reação que o paciente possa apresentar, além de dominar formas de intervenção, reduzindo, assim, os agravos à saúde.^{29,30}

O gerenciamento do ciclo do sangue é realizado através de um sistema de hemovigilância integrado, articulado e realimentado com as informações necessárias para a tomada de decisões.³¹ O sistema francês é um exemplo de programa

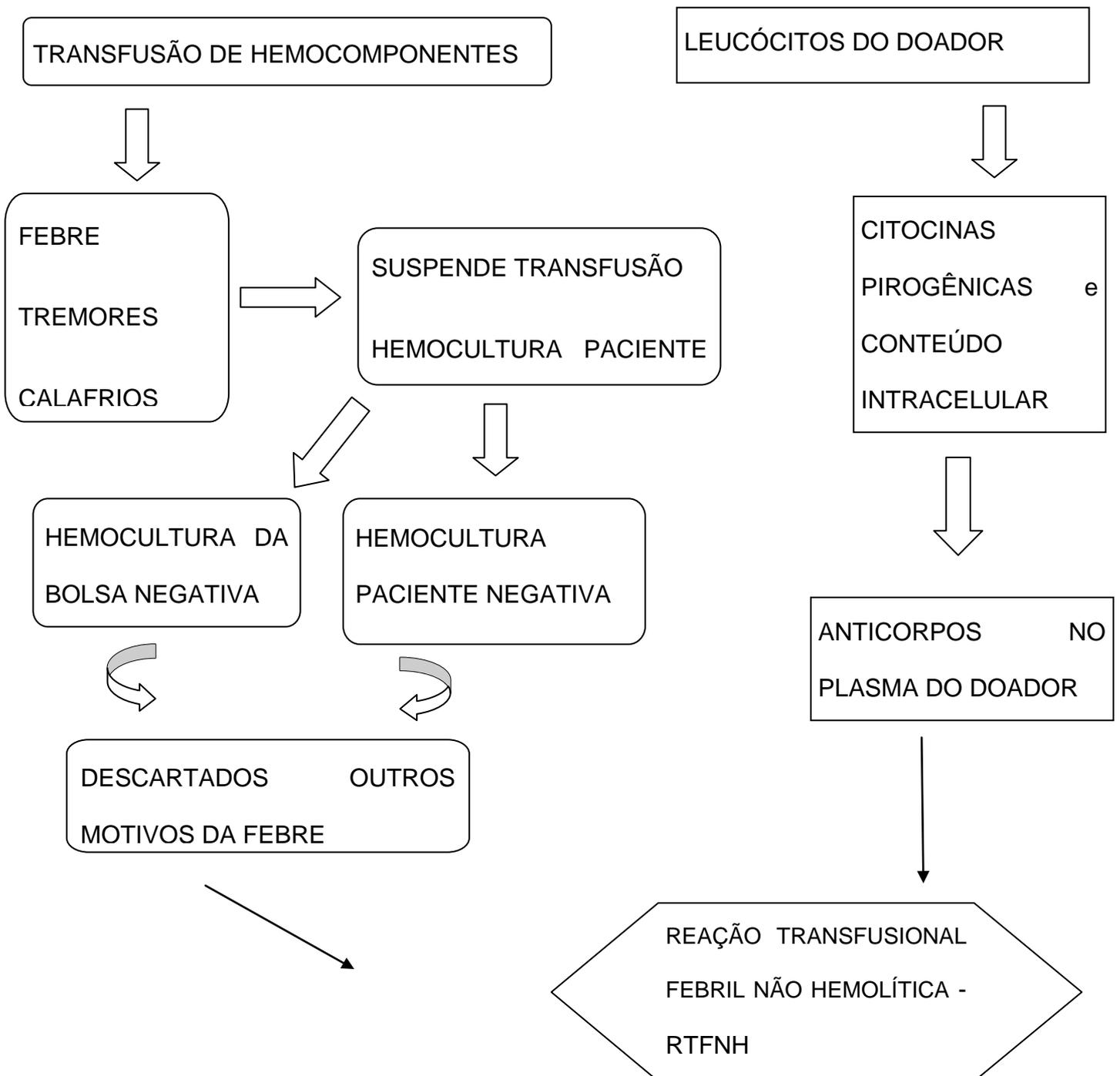
nacional, amplo, que contém uma rede complexa de pessoal, encarregada de coletar relatos de RT e retransmiti-los à agência central de sangue. Há uma obrigação legal de toda a equipe de saúde em relatar qualquer efeito inesperado ou não desejado relacionado à transfusão. Pelas suas características, o sistema permitiu a criação de um amplo banco de dados, o qual contém o relato de eventos adversos graves, mas também de incidentes menores, incluindo aqueles não necessariamente associados à transfusão.³²

Conforme o Guia para Hemovigilância no Brasil, a Legislação Brasileira atribui ao serviço onde ocorreu a reação transfusional a responsabilidade de investigação, os devidos registros em prontuários, a comunicação e a notificação, conforme descrito. O serviço de hemoterapia produtor do hemocomponente tem responsabilidade solidária, principalmente no que diz respeito às doenças infecciosas transmissíveis por transfusão.³³

A hemovigilância é uma parte importante dos sistemas de qualidade para a transfusão de sangue. Isso implica métodos de identificação de erros, reações adversas e incidentes, incluindo os sistemas de alerta, investigação de queixas, sistema de rastreabilidade, sistemas de notificação e auditoria da prática.³³

2. MARCO TEÓRICO

Apresentamos, em forma de fluxograma, o marco conceitual da RTFNH e seus mecanismos de ação.



- Esquema de uma RTFNH. Fonte: própria autora, 2017.

3. JUSTIFICATIVAS

As RTFNH têm apresentado taxas de notificação cada vez mais crescentes. Identificar as suas causas é uma forma importante para definir os melhores hemocomponentes e sua forma de administração.

Este trabalho visou quantificar os valores de Na⁺, K⁺, Ht, Hb, bem como os leucócitos em bolsas envolvidas com suspeitas de RTFNH e em comparação com bolsas transfundidas em que não houve RTFNH, além de avaliar se estas diferenças são significativas. Com isso, pretendemos analisar a forma de oferta e manejo de estoque de hemocomponentes, verificando se aqueles com datas de validade mais avançadas podem ser encaminhados a todos os tipos de pacientes, causando menores risco ou prejuízo aos pacientes .

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Primário

Avaliar potenciais fatores etiológicos na precipitação das RTFNH por meio da mensuração da concentração iônica de Na⁺ e K⁺ no sobrenadante, a contagem leucocitária por mL, a cultura das bolsas e o Ht e Hb das bolsas de CH envolvidas e comparar estes parâmetros em relação a um grupo controle de pacientes.

4.2. Objetivos Secundários

Descrever o perfil de pacientes envolvidos nas RTFNH.

Comparar o perfil clínico dos pacientes envolvidos em RTFNH e do grupo controle.

Estimar a frequência de culturais, das bolsas, coletados positivos e os germes envolvidos.

REFERÊNCIAS

1. Covas DT, Ubiali EMA, De S, GC. *Manual de Medicina Transfusional*. São Paulo. Atheneu, 2014.
2. Goodnough LT, Brecker ME, Kanter MH, et al. Transfusion medicine : blood transfusion . *N engl J Med*. 1999;340:438-47.
3. Belém LF, Nogueira RG, Leite TRC, Larissa C, Alves LFP, Carneiro IS. Descrição das Reações Transfusionais Imediatas na Fundação Assitencial da Paraíba, Brasil. *Revista Baiana de Saúde Pública*. 2010;34(4):2660-2010.
4. Silva AA, Sabiá CF, Brasileiro ME. Conduta do enfermeiro nas Emergências Transfusionais. *Revista Eletrônica de Enfermagem do Centro de Estudos de Enfermagem e Nutrição*. 2011;1(1) :1-10.
5. Ministério da Saúde (BR). *Portaria nº 158, de 04 de Fevereiro de 2016*. Vol . Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Brasília - DF; 2016. Publicado no Diário Oficial da União em 05 de fevereiro de 2016 (nº 25, Seção 1, pág. 37)
6. Petramale CA. *O Projeto Hospitais Sentinela*. In: 1ª Oficina de Hemovigilância . 2001. São Paulo: Anvisa, p. 6-14.
7. Ministério da Saúde (BR) Resolução da Diretoria Colegiada - *RDC nº 34*. Brasília - DF: Publicada no Diário Oficial da União, dia 16 de junho de 2014.
8. Chamone DAF, Novaretti MCZ, Dorlhiac-Lacer PE. *Manual de Transfusão Sanguinea*. 2001. Editora Roca Ltda.
9. Pedrosa AKKV, Pinto FJM, Lins LDB, Deus GM. Reações transfusionais em crianças: fatores associados. *Jornal de Pediatria* . 2013;89(4):400-6.
10. Gonçalves, ACS, Said FA. No processo de educação continuada, a construção de um protocolo assistencial de enfermagem à terapia transfusional: relato de experiência. *Rev Eletr da Faculdade Evangélica do Paraná*. 2011.
11. D'Alessandro A, Liembruno G, Grazzini GZ. Red blood cell storage: the story so far. *Blood Trans*. 2010;8(2):82-88.
12. Kim-Shapiro DB, Lee J, Gladwin MT. Storage Lesion. Role for Red Cell Breakdown. *Transfusion*. 2011; 51(4):844-851.
13. Rapido F, Brittenham GM, Bandyopadhyay S, et al. Prolonged red cell storage before transfusion increases extravascular hemolysis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2017;127(1):375-382.
14. Hess JR. Red cell changes during storage. *Transfusion and Apheresis Science*. 2010;43(1): 51-59.

15. Verrastro T, Lorenzi Tf, Wendel NS. *Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica*. São Paulo: Ed. Atheneu, 1996p 237-293.
16. Serinolli MI, Novaretti MCZ, Dorlhiac-Lacer PE, Chamone DAF. Estudo do método da extração da camada leucoplaquetária na produção de hemocomponentes:avaliação laboratorial. *Rev Bras Hematol Hemot*. 2004;26(3):167-176.
17. Ribeiro M, Alcantara KC. Avaliação da qualidade de concentrado de hemácias em um Banco de Sangue privado de Goiânia, goiás. *Health Science Institute*, 2014;32(2):134-8.
18. Mukagarate I, Monfort M, De Marchin J, Gerard C. The effect of leukocyte reduction on the transfusion reactions to red cells concentrates. *Transf Clin Biol*. 2010;17(1):14-9.
19. Wang RR, Triulzi DJ, Qu L. Effects of Prestorage Leukoreduction on the Febrile Nonhemolytic Reactions to Platelets. *American Journal of Clinical Pathology*.2012;138(8):255-259.
20. Neto ALS, Barbosa MH. Incidentes Transfusionais imediatos: revisão integrativa da literatura. *Revista ACTA Paulista de Enfermagem*. 2010;25(1):146-150.
21. Peris CC, Rosário V. Immediate Transfusion Reactions. *Puerto Rico Health Sciences Journal*. 2013;20(2):229-235.
22. Eder AF, Chambers LA. Noninfectious Complications of Blood Transfusion. *Archives of Pathology & Archives Medicine*. 2007;131(5):708-718.
23. Heddle NM. Pathophysiology of Febrile Nonhemolytic Transfusion Reactions. *Current Opinion in Hematology*.1999;6(6):420-6.
24. Ferreira O, et al. Avaliação do conhecimento sobre hemoterapia e segurança transfusional de profissionais de enfermagem. *Rev Bras Hematol e Hemoter*. 2007;29(2):160-167.
25. Fry JL, et al. Transfusion premedication to prevent acute transfusion reactions: a retrospective observational study to assess current practices. *Transfusion*. 2010: 50(8):1722-1730.
26. Geiger TL, Scottt CH. Acetaminophen and diphenhydramine premedication for allergic and febrile nonhemolytic transfusion reactions: good prophylaxis or bad practice. *Transfusion medicine reviews*. 2007;21(1):1-12.
27. Ezidiegwu CN, et al. Febrile nonhemolytic transfusion reactions: management by premedication and cost implications in adult patients. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2004;128(9):991-995.
28. Kennedy LD, et al. A prospective, randomized, double-blind controlled trial of acetaminophen and diphenhydramine pretransfusion medications

- versus placebo for the prevention of trnsfusion reactions.
Transfusion.2008: 48(11):2285-2291.
29. Oliveira LCO, Cozac APCNC. Reações Transfusionais: diagnóstico e tratamento. *Medicina*, Ribeirão Preto. 2003; 36(1):431-8.
 30. Barbosa SM, et al. Enfermagem e a prática hemoterápica no Brasil: revisão integrativa. *Rev Acta Paul Enferm*. 2011;24(1):132-6.
 31. Engelfriet CP, Reesink HW,Brand B, Lévy G, Williamson LM,Miiitove JE, et al.Haemovigilance Systems. International Fórum. *Vox Sang*. 1999;77(2):110-20.
 32. Deiber J, Noel L, aullen J, Frette C, Sari F, Mai MP, et al. The French haemovigilance System. *Vox sang*. 1999;77(2):77-81.
 33. Ministério da Saúde (BR). *Marco Conceitual e Operacional de Hemovigilância: Guia para a Hemovigilância no Brasil*.ANVISA; 2015.Disponível em:
<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33868/404938/Marco+Conceitual+e+Operacional+de+Hemovigil%C3%A2ncia+-+Guia+para+a+Hemovigil%C3%A2ncia+no+Brasil/495fd617-5156-447d-ad22-7211cdbab8a7>

5. ARTIGO

Storage Injury Red Blood Cell and Relation With the Non-hemolytic febrile reaction

Abstract

Introduction: Blood transfusions and the transfusion reactions (TR) have had great emphasis in current hemotherapy discussions and studies, due to its importance in transfusion practice and with the aim of qualifying the transfusions and refining TR classifications. The non-hemolytic febrile transfusion reaction (NHFTTR) show an increasing number of notifications and arouse the necessity for further studies. During the storage of blood products a series of morphologic alterations occur, such as extracellular potassium (K⁺) increase, hemolysis and supernatant Hemoglobin (Hb) increase. Analyzing the blood product quality and availability may lead us to verifying predictive factors of a TR, seeking to minimize the risks and select a blood product of a superior quality for the patient.

Objective: Evaluate potential etiological factors in the NHFTTR precipitation through sodium (Na⁺) concentration measurement and K⁺ in the supernatant, the leukocyte count by mL, the cultural and the Hematocrit (Ht), and Hb of erythrocyte concentrate bag (EC) involved, comparing those parameters in relation to a control group of EC blood bags. Analyze and compare the profile of the patients involved with a NHFTTR to the control group and estimate the frequency of positive cultures collected and the germs involved.

Methodology: Case-control study with sampling selections from a notification of NHFTTR suspicion at a Hemotherapy Service in a College Hospital in Porto Alegre, RS, during the period from September 2015 to September 2016, where the control-group was selected from the same blood bag population, being grouped by blood type and blood product expiry date, in proportion 1:2.1.

Results: Were studied 124 blood bags, being 39(39,5%) from the TR group and 85(69,5%) from the control group, where a series of invariables were evaluated. The mean of blood bag storage was 8.5 days, 10,7(PD=6,7) in the TR group and 10(DP=5,8) in the control group, and when compared they showed a $P=0.037$. Moreover, when we analyzed the Ht dosage, it was verified an mean of 68,3(DP=7,27), in the TR group and 71(DP=81), 67(DP=6,5) in the control group and, comparing both groups, we observed a $P=<0.001$. Therefore, with each additional storage day and, with each additional point in the Ht bool bag, the chance of NHFTR appearance increases.

Conclusions: Storage injury is an important topic at the moment of the offer of blood components to the patient, especially to the ones with ongoing oncological treatments for solid tumors. The HT evaluation and the storage time of the blood bag demonstrate clinical and statistical relevance in the prediction of NHFTR appearance. The management of adequate storage is fundamental for the offer's availability. Further studies are needed to verify the triggering mechanisms of NHFTR compared to the Ht of the bag, as well as studies associated with the use of premedication in transfusions.

Key words: blood transfusion, transfusion reaction, non-hemolytic febrile transfusion reaction, storage lesion, red blood cell.

Introduction

Blood transfusion along with its components is considered one of the most common therapies in the world, being red blood cell transfusion the oldest form of cell therapy. The history of hemotherapy is an important example of the advancements of science, as in ancient times, blood transfusions were performed with animal blood straight into humans.^{1,2,3}

Transfusion practice is a science in constant development with improvements and innovations pointing to various perspectives of evolution in the present and in the future, nationally as well as internationally. Blood transfusion is a beneficial and well established therapy which contributes to health preservation and saves thousands of lives each year. Nonetheless, it's also a procedure that, even when done within the standards proposed, with an accurate indication and performed correctly, it involves sanitary risks^{3,4,5}

Among the risks related to blood transfusion, the transfusion reaction is of great importance because of both the frequency in which this occurs and by its potential to worsen the patient's health, which might lead to sequelae or even death.^{5,6}

Blood transfusions and, therefore, the TR have been getting great prominence in the discussions and studies of present day hemotherapy due to the relevance and the necessity for the transfusion practice. Increasingly, they've been aiming to qualify the transfusions as well as refining the TR classification. As to NHFTR, the differential diagnosis is key since fever, being the main associated symptom, might indicate causes other than transfusion (sepsis and bacterial contamination).^{3,4}

The NHFTR have been presenting an increasing number of notifications and, despite not entailing great impact in numbers of morbimortality, they require more studies since the symptoms, which are extremely unpleasant to those afflicted by them, cause transfusion interruption and create the need for additional tests (another proof of blood culture's transfusion compatibility), bringing forth the need for preparation of yet another blood component. After

two TR episodes the deleukocytation is indicated and, in some cases, so is the use of premedication, thus raising the cost of transfusions^{3,4}

During storage of blood components the red cells present morphological alterations with common metabolism decrease, intracellular potassium (K⁺) loss and sodium (Na⁺) accumulation inside the cytoplasm. It has already been demonstrated that storage results in hemolysis and microparticles formation. Hemolysis of erythrocytes increases supernatant Hb levels which are influenced by some particularities of the donor during collection and processing of blood products.⁷

During storage there is also a K⁺ gradual increase as glucose is consumed for ATP production and subsequent maintenance of cell integrity. Lactate accumulates, thereby inducing acidification of the medium, a major issue in erythrocyte preservation in normal conditions and also an important limiting factor for its viability. Therefore, K⁺ measurement in extracellular medium is an important marker for the quality control during preservation.⁸

Likewise, studies on this topic show their relevance more and more each day, since analyzing the quality and viability of the blood component could lead us to verifying the predictive factors of a TR and, therefore, seek to minimize the risks and to select a higher quality blood component to the patient.^{9,7}

Materials and Methods

The study was carried out in the Hemotherapy Service of a University Hospital in the city of Porto Alegre, RS. It was performed a case-control study. The samplings were selected from a notification of NHFTR suspicion at the Hemotherapy Service during the period from September 2015 to September 2016. The blood bags involved with NHFTR were included in the studied group with a total of 39 samples for the group classified as Group TR. The control group was selected from the same sac population, being grouped by blood type

and blood product expiry date, in proportion 1:2.1 in a total of 89 blood bags for the control group.

After the interruption of the transfusion or the notification of NHFTR suspicion, the sac was manipulated in order to obtain samples for the following tests: Sodium Concentration (/mEq/L); Potassium Concentration (/mEq/L); Leukocytes Count with Cultural Differential (/mL); Aerobic Cultures (Hemoculture); Hematocrit and Hemoglobin Count. After the collection of the blood in the sacs, the samples were forwarded to the laboratory so the K⁺, Na, leukocytes, Ht and Hb dosage would be prepared. The Na⁺ and K⁺ dosage was prepared in the Roche Cobas C702 ® equipment. The Ht, Hb and leukocytes analysis were performed using the Sysmex XE 5000 analyzer.

The variables were described in accordance with their distribution. For continuous variables, the normally parameters attributed were described as mean standard deviation(SD), while the parameters asymmetrically distributed were describes as median (interquartile 25 and 75). The categorical variables were described as absolute and relative frequencies (%). The difference between proportions for the categorical variables was tested with the Pearson chi-squared test or the Fisher exact test, depending on the observed frequency of events. For continuous variables the test Student T or Mann-Whitney U non-parametric test were used. A model of logistic regression was built to analyze the potential predictive factors association with the outcome (incidence of transfusion adverse reaction). A backward strategy was performed to eliminate insignificant predictors in a significance level of 0.2. The final model was verified for aptitude with the Hosmer and Lemeshow test and continuous variables collinearity was evaluated through VIF and tolerance parameters. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp. was used to perform all analysis.

The study abided the ethical aspects in accordance with Resolution number 466/2012 within the National Health Council (*Conselho Nacional de Saúde* - CNS), and it was approved by the Ethics comity (CAAE no 53339316.5.000.5327). There was no TCLE application, once the studied

material is discarded routinely and there is no biological material collection of the patients themselves besides the routine.

Results

The total amount of samples included in this study was of 124 bags, being 39 for the reaction group (30.5%) and 89 for the control group (69.5%). Table 1 shows characteristics of the transfused patients with the EC bags included in this study, in which the distribution of the frequency of underlying diseases is constituted of 50% of patients receiving treatment for solid tumors, followed by patients with hematologic diseases and with MDS, consisting of total of 19 patients (15.3%) for each.

The frequency of premedication use was one of the evaluated characteristics, which showed that 77.4% of patients do not receive premedication for transfusions, $P=0.02$. It was also verified that 17 patients had already had TR episodes before this particular transfusion, highlighting that 3 (8.5%) of the TR group had already presented NHFTR, and in the control group 5 (5.8%).

Table 1.Characteristic comparison of the transfused patients in the included sample

Variable	Average/SD*	Total %	Transfusion Reaction	Reaction Control	P#
Sex			35(30,5%)	89(69,5%)	0,15
Female			23(58,9%)	47(55,3%)	
Male			16(41,2%)	38(44,7%)	
Age	59,2(SD)		55,5(SD=22)	60,9(SD=19,5)	0,196

20,4)

**Base
desease**

0,01

Hematologic disease	19(15,3%)	9(25,7%)	10(11,7%)
Solid tumours	62(50%)	16(45,7%)	46(54,1%)
MDS	19(15,3%)	3(8,5%)	16(18,8%)
Solid organs transplant	2(1,6%)	1(2,8%)	1(1,17%)
Puerperium	2(1,6%)	2(5,7%)	
Dialytic ARF	4(3,1%)	3(8,5%)	1(1,17%)
Other	16(12,9%)	5(14,2%)	11(12,9%)

**Previous
transfusion
reaction**

0,884

Allergic	9(7,3%)	2(5,71%)	7(8,2%)
Febrile non-Hemolytic	8(6,5%)	3(8,5%)	5(5,8%)

**Pre
medication**

0,02

No	96(77,4%)
Dexchlorpheniramine +paracetamol	20(16,1%)
Dexchlorpheniramine +paracetamol+hydroc ortisone	5(4%)
Dexchlorpheniramine +paracetamol+hydroc ortisone+ diphenhydramine	3(2,4%)

*Average(DP), # tested with the Pearson chi-squared, test or the Fisher exact test, depending on the observed frequency of events. For continuous variables the test Student T or Mann-Whitney U non-parametric test were used. Source: author, 2017.

When assessing the EC bags included in the study, it was noticed a prevalence of blood typing O+, 54 (43.55%), followed by typing A+, 42 (33.9%). B- as well as AB- typing had no bags included (Table 2). It was also noticed that in the control group there was a higher percentage of irradiated bags, 43 (51.1%), and deleukocytated, 37 (44%), with P=0.04 and 0.02, respectively.

The bags evaluated in the study, as shown in Table 3, present an average of 8.5 days (DP=5-17) of storage time, given that, when assessed by groups they presented an average of 10 days (DP=5-7) in the TR group and 8 days (DP=5-14) in the control group, with results of statistical significance P=0.037

Table 2.Characteristic comparison of the bag samples included

Variable	Total %	Transfusion Reaction	Reaction Control	P*
Blood tipe		35(30,5%)	89(69,5%)	0,4
O+	54(43,55%)	19(54,20%)	35(41,6%)	
O-	8(6,5%)	5(14,28%)	3(3,5%)	
A+	42(33,9%)	12(34,2%)	30(35,7%)	
A-	9(7,3%)	1(2,8%)	8(9,5%)	
B+	8(6,5%)	3(8,5%)	5(5,9%)	

	B-	0	0	0	
	AB+	3(2,4%)	0	3(3,5%)	
	AB-	0	0	0	
Irradiated		57(46%)	14(40%)	43(51,1%)	0,04
Leukocytes free		47(37,9%)	10(28,5%)	37(44%)	0,02

* tested with the Pearson chi-squared, test or the Fisher exact test, depending on the observed frequency of events. For continuous variables the test Student T or Mann-Whitney U non-parametric test were used. Source: author, 2017.

Table 3. Comparison between Reaction x Control groups.

	RT	CONTROL	P*
Na1(/mEq/L)	128 (112-147)	128 (108-148)	0,844
K+(/mEq/L)	55 (32-76)	53,7 (33-74)	0,925
Leukocytes(mc/L)	0 (0-8,2)	0,1 (0-7)	0,966
Ht(g/dl)	72 (69- 76)	68 (62-72)	<0,001
Hb(g/dl)	24 (22-24)	22 (21-24)	0,002
Storage time(days)	10(5-17)	8 (5-14)	0,037
Patient age	64 (42-71)	66 (56-74)	0,196
Number of	5(2-11)	6 (3-9)	0,884

**previous
transfusions**

* tested with the Pearson chi-squared, test or the Fisher exact test, depending on the observed frequency of events. For continuous variables the test Student T or Mann-Whitney U non-parametric test were used. Source: author, 2017.

Table 3 shows the results of the comparisons of the analyzed variables between groups TR and control group. The variables Ht and Hb present $P < 0.001$ and $P = 0.002$, respectively, which are results with statistical significance, as they are parallel variables, thus it was decided to include only the Ht results in the logistic regression model. This demonstrates that the Ht dosage is a predictive factor of NHFTR appearance and should be evaluated when choosing the EC to be referred to the patient.

The patient's age (Table 3) showed a $P = 0.196$, with statistical relevance, however in this moment this figure has not demonstrated apparent causal link in the clinically significant incidence of NHFTR, and for this reason, it was not included in the logistic regression model. In this model the variables included were: storage time and Ht, which are presented in Table 4 along with odds ratio and confidence intervals.

Table 4. Multivariable logistic regression model results

Variable	OR	IC95%	P
Storage time	1,067	(1,004-1,134)	0,037
Hematocrit	1,491	(1,175-1,893)	<0,001

Model of logistic regression. Source: author.

Discussion

The present study aimed to identify potential factors related to NHFTR by evaluating the dosages of Na⁺, K⁺, leukocytes, Ht and Hb in bags involved in NHFTR and a control group. When analyzing the odds ratio results of this study, important information has been extracted about the potential predictive factors of a NHFTR. When the Ht dosages were assessed, it was verified that each point increase was associated with a 0.41% greater chance of this TR disappearance^{1,2,10}

The studies already published evaluate the morbimortality of TR, however they do not assess the dosage impact of Ht in the prediction of NHFTR, for this reason it was not possible to establish to this moment a causal link for the occurrence of this phenomenon. Therefore, further studies in this subject area are needed so that one could determine what is the nature of the relation between these two parameters. What can be verified is that this result is clinically relevant for the patient at the time of the transfusion, and that it should be taken into consideration when choosing the EC to be referred to the patient^{6,7,9,11}

Blood component transfusion is, to this day, a fundamental therapy and is used in health institutions around the world. This practice, which is constantly improving, points out constant evolution and different perspectives. As a consequence of transfusion, TR are expected events, and for such, the professionals need to be prepared to identify and treat these interurrences the most appropriate way.^{2,3,4,5}

Storage injury, also evaluated in this study for the days the blood component was stored, demonstrated association between the storing time and the NHFTR appearance. Hence showing that the effects suffered by EC during storage are predictors for the TR appearance, and that with each additional day in storing there is a potential risk of 6.7% of NHFTR occurrence.⁸

Transfusion Reactions has been a constant topic of various studies which aim to verify the triggering mechanisms as well as ways of prevention, given its importance in the impact it can cause in treatment and in patient's clinic. Although not normally severe and resulting in morbimortality, it entails unpleasant symptoms to the patients and implies additional hospital costs^{4,5,6,8}

In assessing this study, as to leukoreduction, it was verified that the NHFTR, related to the leukoreduced bags and to those without leukoreduction, presented no statistical differences for the appearance of this TR, which presently differs from what the literature has been pointing out.^{12,13,14}

Some limitations presented in this study concern the patients who are polytransfused, because they have a greater chance of TR occurrences, considering the increased exposition to transfusions, and this fact has neither been evaluated nor discussed in this article. The patients who have already presented any TR also have a higher possibility of yet another TR occurrence, and there are still those who use premedication for transfusions, since the medication could potentially mask the appearance of a new TR episode^{1,3,15,16,17,18}

Considering the potential demand generated in case the parameters (Ht and storage time) were to be included in the transfusional practice at the time of the EC offer, there would be a need for appropriate storage management so that this very offer could be made possible. Hence, aiming for adequate storage and supply management for the EC transfusion, this becomes yet another challenging task to be analyzed and accomplished.^{5,7,9}

References

1. Covas DT, Ubiali EMA, De S, GC. *Manual de Medicina Transfusional*. São Paulo. Atheneu, 2014.
2. Goodnough LT, Brecker ME, Kanter MH, et al. Transfusion medicine : blood transfusion. *N engl J Med*. 1999;340:438-47.
3. Belém LF, Nogueira RG, Leite TRC, Larissa C, Alves LFP, Carneiro IS. Descrição das Reações Transfusionais Imediatas na Fundação Assitencial da Paraíba, Brasil. *Revista Baiana de Saúde Pública*. 2010;34(4):2660-2010.
4. Silva AA, Sabiá CF, Brasileiro ME. Conduta do enfermeiro nas Emergências Transfusionais. *Revista Eletrônica de Enfermagem do Centro de Estudos de Enfermagem e Nutrição*. 2011;1(1) :1-10.
5. Ministério da Saúde (BR). *Portaria nº 158, de 04 de Fevereiro de 2016*. Vol . Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Brasília - DF; 2016. Publicado no Diário Oficial da União em 05 de fevereiro de 2016 (nº 25, Seção 1, pág. 37)
6. Chamone DAF, Novaretti MCZ, Dorlhiac-Lacer PE. *Manual de Transfusão Sanguinea*. 2001. Editora Roca Ltda
7. D'Alessandro A, Liembruno G, Grazzini GZ. Red blood cell storage: the story so far. *Blood Trans*. 2010;8(2):82-88.
8. Verrastro T, Lorenzi Tf, Wendel NS. *Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica*. São Paulo: Ed. Atheneu, 1996p 237-293.
9. Kim-Shapiro DB, Lee J, Gladwin MT. Storage Lesion. Role for Red Cell Breakdown. *Transfusion*. 2011; 51(4):844-851.
10. Pedrosa AKKV, Pinto FJM, Lins LDB, Deus GM. Reações transfusionais em crianças: fatores associados. *Jornal de Pediatria* . 2013;89(4):400-6.
11. Rapido F, Brittenham GM, Bandyopadhyay S, et al. Prolonged red cell storage before transfusion increases extravascular hemolysis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2017;127(1):375-382.
12. Ribeiro M, Alcantara KC. Avaliação da qualidade de concentrado de hemácias em um Banco de Sangue privado de Goiânia, goiás. *Health Science Institute*, 2014;32(2):134-8.
13. Mukagarate I, Monfort M, De Marchin J, Gerard C. The effect of leukocyte reduction on the transfusion reactions to red cells concentrates. *Transf Clin Biol*. 2010;17(1):14-9.

14. Wang RR, Triulzi DJ, Qu L. Effects of Prestorage Leukoreduction on the Febrile Nonhemolytic Reactions to Platelets. *American Journal of Clinical Pathology*.2012;138(8):255-259.
15. Fry JL, et al. Transfusion premedication to prevent acute transfusion reactions: a retrospective observational study to assess current practices. *Transfusion*. 2010; 50(8):1722-1730.
16. Geiger TL, Scottt CH. Acetaminophen and diphenhydramine premedication for allergic and febrile nonhemolytic transfusion reactions: good prophylaxis or bad practice. *Transfusion medicine reviews*. 2007;21(1):1-12.
17. Ezidiegwu CN, et al. Febrile nonhemolytic transfusion reactions: management by premedication and cost implications in adult patients. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2004;128(9):991-995.
18. Kennedy LD, et al. A prospective, randomized, double-blind controlled trial of acetaminophen and diphenhydramine pretransfusion medications versus placebo for the prevention of transfusion reactions. *Transfusion*.2008; 48(11):2285-2291.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme os achados nesse estudo, podemos verificar que a lesão de estocagem é uma temática que precisa ser levada em consideração pelos os bancos de sangue no momento de ofertar um hemocomponente ao paciente, principalmente para aqueles pacientes como os transplantados de células tronco hematopoiéticas e órgãos sólidos, os alo imunizados, os pacientes submetidos à tratamento oncológico e os neonatos.

Portanto, ao menos para essa população específica, poderíamos levar em consideração, no momento de escolha da bolsa, a validade e tempo de estocagem da mesma, pois ao selecionar o “melhor” hemocomponente possível para cada paciente, tornaríamos as transfusões, além de cada vez mais seguras, também personalizadas e focadas nas necessidades do paciente.

Pensando nessa demanda, haveria necessidade de um manejo de estoque adequado para que esta oferta também fosse possível. Então esse torna-se mais um desafio a ser analisado e a ser alcançado visando um manejo adequado do estoque e do fornecimento do hemocomponente para a transfusão.

Quando avaliamos as questões da dosagem de Ht, ainda não podemos ter uma conclusão definitiva de possíveis mecanismos desencadeantes para uma RTFNH. Há necessidade de novos estudos avaliando características dos doadores como a dosagem de eletrólitos, perfil fenotípico e alo imunização, bem como dosagens de interleucinas e eletrólitos na bolsa em estoque.

Podemos também avaliar os resultados sobre a utilização ou não de pré medicação, pois sendo essa prática ainda controversa e com estudos ainda

não conclusivos sobre o benefício clínico e a (s) medicação mais adequada (s) são necessários desenvolvimentos de mais estudos com essa importante temática

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Verificar através de novos estudos de coorte o impacto do HT e Hb no aparecimento de RTFNH e de outras RT, verificando se o resultado demonstrado nesse estudo se repete. Também pretende-se verificar através de estudo clínico a questão sobre a utilização de pré medicação ou não de pré medicações, bem como, quais medicações seriam mais adequadas, ou não, para prevenção de cada RT especificamente.

STROBE

Item	Recomendação	Pág.
	Nº	
Título e Resumo	1 Indique o desenho do estudo no título ou no resumo, com termo comumente utilizado	Capa
	Disponibilize no resumo um sumário informativo e equilibrado do que foi feito e do que foi encontrado	7
Introdução		
Contexto/Justificativa	2 Detalhe o referencial teórico e as razões para executar a pesquisa.	18;36
Objetivos	3 Descreva os objetivos específicos, incluindo quaisquer hipóteses pré-existentes.	36
Métodos		
Desenho do estudo	4 Apresente, no início do artigo, os elementos-chave relativos ao desenho do estudo.	40
Contexto	5 Descreva o contexto, locais e datas	43

relevantes, incluindo os períodos de recrutamento, exposição, acompanhamento (follow-up) e coleta de dados.

Participantes	6	Estudos de Caso-controle: apresente os critérios-diagnóstico para identificação dos casos e os métodos de seleção dos critérios de elegibilidade, as fontes e os controle. Descreva a justificativa para a eleição dos casos e controles.	43
Variáveis	7	Defina claramente todos os desfechos, exposições, preditores, confundidores em potencial e modificadores de efeito. Quando necessário, apresente os critérios diagnósticos.	43
Fontes de dados/Mensuração	8	Para cada variável de interesse, forneça a fonte de dados e os detalhes dos métodos utilizados na avaliação (mensuração). Quando existir mais de um grupo, descreva a comparabilidade dos métodos de	43;44

		avaliação.	
Viés	9	Especifique todas as medidas adotadas para evitar potenciais fontes de viés.	43
Tamanho do estudo	10	Explique como se determinou o tamanho amostral.	43
Variáveis quantitativas	11	Explique como foram tratadas as variáveis quantitativas na análise. Se aplicável, descreva as categorizações que foram adotadas e por que.	44
Métodos estatísticos	12	Descreva todos os métodos estatísticos, incluindo aqueles usados para controle de confundimento. Descreva todos os métodos utilizados para examinar subgrupos e interações. Explique como foram tratados os dados faltantes (“missing data”). Estudos de Caso-Controle: Se aplicável explique como o pareamento dos casos controle foi tratado.	43;44