

RELATO DE CASO DE MALÁRIA PÓS-TRANSFUSIONAL, COM IDENTIFICAÇÃO DO DOADOR INFETADO APENAS POR REAÇÃO SÉRICA DE IMUNOFLUORESCÊNCIA

Vicente AMATO Neto ⁽¹⁾, Mário E. CAMARGO ⁽²⁾, Cacilda REBONATO ⁽³⁾
e Keyla Belizia FELDMAN ⁽⁴⁾

RESUMO

Relataram os Autores caso de malária causada pelo *Plasmodium vivax* e decorrente de contaminação transfusional. Os dois únicos doadores implicados negaram acometimento palúdico anterior, mas em relação a um deles, em investigação efetuada depois da ocorrência citada, a reação sérica de imunofluorescência resultou significativamente positiva, tendo revelado infecção pela mesma espécie motivadora da doença parasitária na doente que recebeu os sangues transfundidos.

Diante dessa verificação e levando em conta a falibilidade dos processos preconizados para a adequada seleção dos doadores eventualmente infetados por plasmódios, julgaram os Autores que, provavelmente, o exame laboratorial citado poderá constituir recurso valioso no que diz respeito à eficaz prevenção, em Bancos de Sangue, da malária pós-transfusional.

INTRODUÇÃO

A malária pós-transfusional é problema que merece, sem dúvida, cuidadosa atenção. Trata-se de desagradável acidente imputável à hemoterapia, causador de agravamento da situação clínica de indivíduo já vítima de uma ou mais agressões orgânicas e, muitas vezes, motivador de dificuldades diagnósticas, sobretudo quando a possibilidade de nexos entre transfusão de sangue e infecção é esquecida e o período de incubação corresponde a fase de duração razoavelmente longa.

Prevenir essa complicação transfusional não é tarefa fácil. As diferentes medidas habitualmente aconselhadas e relativas à seleção dos

doadores com frequência demonstram suas falibilidades, especialmente porque acometimento palúdico prévio nem sempre é referido, em virtude de múltiplos motivos, entre os quais é lícito lembrar o esquecimento, o desconhecimento, a falta de correto reconhecimento etiológico e o eventual acometimento desprovido das características costumeiras. As pesquisas de hematozoários no sangue, obviamente, não encerram a praticidade e a eficiência desejáveis.

Recentemente, tivemos a oportunidade de reconhecer um caso de infecção malárica decorrente de transfusão sanguínea e, a propó-

Hospital do Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira". Serviço de Doenças Transmissíveis, São Paulo, Brasil
Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, Brasil

- (1) Médico-chefe do Serviço de Doenças Transmissíveis
- (2) Assistente-doutor, chefe do Laboratório de Imunologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
- (3) Técnica do Laboratório de Imunologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
- (4) Médico-residente (1969) do Serviço de Doenças Transmissíveis

sito, chegamos a identificar o doador responsável exclusivamente mediante realização de reação sorológica de imunofluorescência. Como essa verificação é digna de ênfase sob o ponto de vista prático e pode conduzir a aplicações congêneres em âmbito mais amplo, consideramos judicioso registrá-la, a fim de proporcionar informação certamente útil no que concerne à profilaxia da transmissão da malária por intermédio da hemoterapia.

RELATO DO CASO

No dia 22 de outubro de 1969 foi internada, na Enfermaria do Serviço de Doenças Transmissíveis, do Hospital do Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira", de São Paulo, a paciente A.A.S. (número de registro: 47.090), com 37 anos de idade, branca e brasileira. A doente, transferida de outro Serviço do mesmo nosocômio, relatou que, desde há 25 dias antes, vinha sendo acometida de febre, acompanhada de calafrios, dores corpóreas e articulares, discreta cefaléia e sensação de mal-estar geral. Após ter feito uso de medicamento antitérmico e analgésico, melhorou nitidamente durante quatro dias; decorrido êsse período de tempo, novamente surgiram as manifestações citadas, além de dor lombar e disúria. A febre tornou-se de ocorrência regular e periódica, sendo que o aparecimento da mesma chegava a ser presentido.

Referiu ainda a paciente que, em 1966, sofreu de pielonefrite e de anemia de natureza não esclarecida. Disse também que, nessa época, exame para o diagnóstico da doença de Chagas resultou positivo.

Residiu em região rural do Estado de Minas Gerais, há vários anos mora na Capital do Estado de São Paulo, alimenta-se precariamente, faz uso de água de poço e afirmou nunca ter estado em localidades onde ocorria a infecção palúdica.

No dia 12 de agosto de 1969, no mesmo hospital referido, em virtude de hemorragia genital, foi submetida a uma curetagem e, na ocasião, houve transfusão de um litro de sangue, proveniente de dois doadores. Nos seis meses anteriores à internação não recebeu injeções.

Ao exame físico notamos regular estado geral, intensa palidez da pele e das mucosas visíveis, elevação da temperatura corporal, frequência normal do pulso, pressão arterial de 95x70 mm/Hg, sopro sistólico rude e de pequena intensidade audível nos diferentes focos e mais intensamente nos aórtico e aórtico acessório, hepatomegalia e esplenomegalia. O fígado foi palpado a seis centímetros do rebordo costal direito e percebemos consistência medianamente aumentada e superfície lisa; a paciente acusou dor à manobra semiológica. A extremidade inferior do baço estava a seis centímetros do rebordo costal esquerdo e a consistên-

cia desse órgão era anormal, ou seja, mais firme que a habitual.

Vários exames laboratoriais subsidiários foram realizados para esclarecimento da natureza do processo febril. Como constatações dignas de registro destacamos a existência de anemia, com diminuição do número de eritrócitos e da quantidade de hemoglobina ao hemograma (3.200.000/mm³ e 8,0 g/100 ml), a positividade de reações sorológicas para o diagnóstico da sífilis (VDRL: positiva; reação de Wassermann: 1/2; reação de fixação do complemento com antígeno de treponema de Reiter: 1/2) e a evidênciação do *Plasmodium vivax* em esfregaços do sangue periférico, corados pelo método de Leishman e efetuados em duas oportunidades diferentes.

Uma vez reconhecida a infecção malárica, administramos cloroquina. A doente recebeu 1.500 mg da droga em três dias, de acordo com um dos esquemas posológicos classicamente recomendados. A seguir, não se tornaram mais presentes as elevações da temperatura corporal e foi concedida alta hospitalar. Um mês após, teve lugar revisão clínica; a doente referiu, então, que a febre mantivera-se ausente e, ao exame, foi notada a existência de anemia, além da persistência da hepatoesplenomegalia.

Quando foram revistas as fichas elaboradas no Banco de Sangue e correspondentes aos dois únicos doadores que forneceram os sangues transfundidos, resultou patente a circunstância de que eles não eram suspeitos, uma vez que negaram acometimento malárico anterior. Na cidade de São Paulo, onde a doença não é endêmica, a seleção dos que se apresentam à doação depende exclusivamente da resposta à pergunta pertinente a prévio comprometimento malárico.

Diante desses fatos, os dois doadores foram localizados, convocados, interrogados e examinados. Na verdade, afirmaram categoricamente que nunca sofreram de malária e, ao exame clínico, apenas notamos em ambos discretas hepatomegalias, de causas não apuradas ou investigadas. Um deles jamais residira em área malarígena, mas o outro morara em Jacarèzinho, no Estado do Paraná, região não indene; há 14 anos está residindo em São Paulo e s' teme na citada localidade, durante curto período de três dias, pouco tempo depois que delá saiu. Soubemos também que ele foi a Curitiba, no Estado do Paraná, algumas vezes, mas nessa Capital a parasitose não ocorre; desde há dois anos não se ausenta de São Paulo.

As pesquisas de plasmódios, executadas no sangue dos dois doadores resultaram negativas, se bem que não tenham sido exaustivas. A reação sorológica referente a um dos dois evidenciou positividade quanto ao *Plasmodium vivax* (1/100) e, justamente, a espécie contaminante, na ocorrência já detalhada.

Para a execução das reações sorológicas de imunofluorescência usamos antígenos de *Plasmodium falciparum* e de *Plasmodium vivax* e adota-

mos a técnica da gota espessa descrita por SULZER & col.¹⁰, modificada no sentido de permitir a realização de 20 testes por lâmina de microscopia. Para tanto, em número correspondente de pequenas áreas quadradas com cerca de 5 mm de lado, desenhadas com esmalte para unhas, depositamos a suspensão antigênica, representada por hemácias lavadas, ricas em plasmódios e suspensas em solução salina, havendo concentração suficiente para estar presente nas preparações número apropriado de parasitos por campo microscópico e, mais precisamente, de cinco a dez (400 X). Para a retirada da hemoglobina emergimos as lâminas em água destilada, estando as gotas devidamente secas e efetuamos ligeira rotação, durante dez minutos; depois de nova secagem, procedemos à efetivação das reações.

Diluímos os soros a 1/20 e a 1/100, em solução salina tamponada (NaCl 0,15 M; fosfatos 0,01 M; pH 7,2) contendo Tween 80 a 1% (Mann Research Laboratories, USA), empregamos conjugado resultante da marcação por diálise com isotriocianato de fluoresceína (cristalino, cromatograficamente puro, isômero I, BBL, USA), da fração globulínica de soro de coelho anti-IgM humana (CAMARGO⁹). Tal conjugado apresentava relação ponderal F/P igual a 15 e cerca de 16 unidades precipitantes na concentração de 1g% de proteínas BEUTNER & col.¹¹; para uso, êle foi diluído em concentrações não menores do que 1/4 de unidade precipitante, mediante utilização de solução salina tamponada contendo Tween 80 a 1% e azul de Evans a 0,001%.

Examinamos as preparações em microscópio binocular provido de campo escuro (objetiva: 10X; oculares: 12,5X; iluminação por meio de lâmpada HBO 200 W, com filtros excitador UG5 e barreira 41, Zeiss).

Nas reações negativas notamos campo microscópico de coloração azulada, irregularmente homogêneo; nas positivas, destacam-se sobre tal aspecto numerosas pequenas estruturas fluorescentes, de tonalidade verde-maçã e geralmente bastante brilhantes, correspondentes aos plasmódios. Consideramos positivas as provas quando essas imagens apresentavam intensidades médias e comumente indicadas com os graus de uma ou duas cruzes.

DISCUSSÃO

Os fatos anteriormente relatados permitem, sem dúvida, que sejam efetuados os comentários a seguir especificados.

1) O acometimento palúdico da paciente referida decorreu, indubitavelmente, de contaminação transfusional, uma vez que, segundo os dados registrados, ela não poderia ter sido infetada de outra maneira.

2) Ao serem levadas em consideração as medidas rotineiras, os dois doadores implicados haviam sido considerados aptos, tradu-

zindo, mais uma vez, a dificuldade quanto à seleção dos realmente infetados por hematozoários, conforme múltiplas informações já salientaram e como bem destacou VERDRAGER¹¹, em publicação recente e quando fez menção a graves comprometimentos devidos ao *Plasmodium falciparum* e pós-transfusional. Mesmo depois, em entrevistas e exames relativos a essas pessoas, processo palúdico anterior não foi evidenciado, confirmando as dificuldades pertinentes a corretas triagens.

3) A reação sorológica de imunofluorescência revelou positividade significativa no que concerne a um dos doadores e, precisamente, evidenciou infecção pelo *Plasmodium vivax*, ou seja, pela espécie que causou a complicação hemoterápica na receptora.

4) Essa constatação afigura-se, sem dúvida, muito importante sob o ponto de vista prático, pois deixa claro que a prova laboratorial em aprêço pode contribuir para a solução de problema realmente expressivo, indicando com mais segurança os indivíduos que não representam adequados doadores, quando a conveniente prevenção da transmissão da malária é desejável.

5) A relativa facilidade de execução, assim como a possibilidade de realização de muitos testes concomitantemente e de utilização de plasmas ou de amostras de sangues obtidas de pontas de dedos (SOUZA & CAMARGO⁹), falam a favor do emprêgo da reação sérica de imunofluorescência em Bancos de Sangue com o intuito de detectar doadores com malária.

Julgamos conveniente lembrar que a presença de anticorpos não implica em indubitável risco transfusional, pois êles podem persistir durante longos períodos de tempo e mesmo depois de instituição de terapêutica eficaz (COLLINS & col.⁵). Frisamos também a necessidade de recorrer, como antígenos, aos diferentes tipos de plasmódios vigentes na região; reações cruzadas entre as espécies são relativamente freqüentes, tendo BARUZZI & col.¹ e DICCS & SADUN⁶, por exemplo, feito menção a elas, mas queremos não esquecer de mencionar a não rara ocorrência das exclusivamente espécie-específicas, verificadas inclusive em nossas observações pessoais e até no acontecimento alvo das presentes considerações.

6) Para evitar a malária pós-transfusional, muitas providências já foram preconizadas. O interrogatório dos doadores nem sempre é decisivo; VERDRAGER¹¹ deteve-se sobre a questão e passou a apoiar tal ponto de vista, sendo que o sucedido relativamente ao caso relatado constitui mais uma demonstração dessa eventual ineficácia. Os processos laboratoriais classicamente indicados seguramente não resultaram muito úteis e a conservação dos sangues a 4°C é, por seu turno, conduta insegura; CARRESCIA⁴, GRANT & col.⁷ e LUPASCU & col.⁸ registraram suas opiniões acerca da falta de validade absoluta dessa medida. Até atitudes que encerram dificuldades de aplicação bem maiores foram recomendadas, como a administração de cloroquina ou sulformetoxina, em associação à pirimetamina, aos receptores, em determinadas circunstâncias que envolvem mais nítidos riscos de contaminação; no entanto, é fácil compreender que a profilaxia não deve depender de adoção de providências excepcionais, podendo a seleção por prova sorológica apropriada assumir posição de destaque, conduzindo aos objetivos desejados.

7) Lógicamente, investigações específicas precisarão ser desenvolvidas, para que os aspectos relativos à especificidade e à sensibilidade da prova fiquem judiciosamente apreciados quando correlacionados com as aplicações seletivas em Bancos de Sangue. Somente estudos destinados a analisar detalhadamente essas questões, é evidente, deixarão esses assuntos melhor esclarecidos.

SUMMARY

Report of a case of post-transfusional malaria, with identification of the infected blood donor by means of fluorescent antibody test

A case of *Plasmodium vivax* malaria is referred, induced by transfusion of infected blood. The only two blood donors denied previous malaria infections. However, when tested for malarial antibodies by the immunofluorescence technique, one of them showed a positive result for *Plasmodium vivax*.

The immunofluorescence test when applied to blood donors could be a valuable tool for the prevention of transfusional malaria, especially considering the failures observed for other selective measures.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARUZZI, R. G.; CAMARGO, M. E.; KAMEYAMA, I.; HOSHINO, S.; REBONATO, C. & D'ANDRETTA Jr., C. — Splenomegalia in Brazilian Indians from the "Alto Xingu" (Central Brazil). A ser publicado.
2. BEUTNER, E. H.; HOLBOROW, E. J. & JOHNSON, G. D. — Quantitative studies of immunofluorescent staining. I. Analyses of mixed immunofluorescence. *Immunology* 12: 327-337, 1967.
3. CAMARGO, M. E. — Estudo comparativo das reações de Sabin-Feldman e de imunofluorescência indireta, para a toxoplasmose, em 1.000 soros humanos. Comportamento anômalo de alguns soros. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* (São Paulo) 24:1-26, 1964.
4. CARRESCIA, P. M. — Malaria da trasfusione: possibilità di profilassi. *Riv. Malar.* 39: 209-220, 1960.
5. COLLINS, W. E.; SKINNER, J. C. & JEFFERY, G. M. — Studies on the persistence of malarial antibody response. *Amer. J. Epidem.* 87:592-598, 1968.
6. DIGGS, C. L. & SADUN, E. H. — Serological cross reactivity between *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* as determined by a modified fluorescent antibody test. *Exp. Parasit.* 16:217-223, 1965.
7. GRANT, D. B.; PERINPANAYAGAM, M. S.; SHUTE, P. G. & ZEITLIN, R. S. — A case of malignant tertian (*Plasmodium falciparum*) malaria after blood-transfusion. *Lancet* 2:249-470, 1960.
8. LUPASCU, G.; BOSSIE-AGAVRILOAIE, A.; BONA, C.; IOANID, L. & SMOLINSKI, M. — Valeur de la réaction d'immunofluorescence dans le dépistage des parasitémies asymptomatiques à *Plasmodium malariae*. *Bull. WHO* 36:361-518, 1967.
9. SOUZA, S. L. & CAMARGO, M. E. — The use of filter paper blood smears in a practical fluorescent test for American trypanosomiasis serodiagnosis. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 8:255-258, 1966.
10. SULZER, A. J.; WILSON, M. & HALL, E. C. — Indirect fluorescent-antibody tests for parasitic diseases. V — An evaluation of a thick-smear antigen in the IFA test for malaria antibodies. *Amer. J. Trop. Med.* 18: 199-205, 1966.
11. VERDRAGER, J. — Cerebral malaria following blood transfusion. *J. Trop. Med. Hyg.* 72:131-133, 1969.