

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA  
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE  
LISBOA

**FATORES SUSCETÍVEIS DE INFLUENCIAR A  
CONTAGEM DE PLAQUETAS NOS CONCENTRADOS  
PLAQUETÁRIOS OBTIDOS PELO MÉTODO DE  
PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP)**

MARIA ARMANDA ALVES SERRÃO MENEZES

ORIENTADOR: MESTRE CÉU LEITÃO – ESCOLA SUPERIOR DE  
TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA / INSTITUTO POLITÉCNICO DE  
LISBOA

CO-ORIENTADOR: DOUTOR ANTÓNIO ROBALO NUNES – ESCOLA  
SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA / INSTITUTO  
POLITÉCNICO DE LISBOA

Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais

*Lisboa, 2022*

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA  
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE  
LISBOA

**FATORES SUSCETÍVEIS DE INFLUENCIAR A  
CONTAGEM DE PLAQUETAS NOS CONCENTRADOS  
PLAQUETÁRIOS OBTIDOS PELO MÉTODO DE  
PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP)**

MARIA ARMANDA ALVES SERRÃO MENEZES

ORIENTADOR: MESTRE CÉU LEITÃO – ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA  
SAÚDE DE LISBOA / INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA

CO-ORIENTADOR DOUTOR ANTÓNIO ROBALO NUNES – ESCOLA SUPERIOR DE  
TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA / INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA

MEMBROS DO JURÍ:

PRESIDENTE: DOUTORA EDNA RIBEIRO, ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA  
SAÚDE DE LISBOA / INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA

ARGUENTE: MESTRE/ESPECIALISTA PEDRO VENTURINI – INSTITUTO PORTUGUÊS  
DO SANGUE E DA TRANSPLANTAÇÃO, IP

(Esta versão inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri)

Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais

*Lisboa, 2022*

## Direitos de cópia

---

Autorizo a Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa e o Instituto Politécnico de Lisboa o direito de arquivar e publicar a presente dissertação e de a divulgar em repositórios científicos para fins educacionais ou de pesquisa não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao autor e ao editor.

Copyright©2022– Maria Armanda Alves Serrão Menezes

*“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós.*

*Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós”.*

*Antoine de Saint-Exupéry*

# Agradecimentos

---

Desejo exprimir os meus agradecimentos a todos aqueles que, de alguma forma, permitiram que esta tese se concretizasse.

A todos os profissionais do Serviço de Sangue e Medicina Transfusional do Hospital Dr. Nélio Mendonça, nomeadamente ao diretor de serviço, Dr. Bruno Freitas, médicos, enfermeiros, técnicos superiores de diagnóstico e terapêutica, assistentes operacionais e técnicos administrativos, por toda a colaboração prestada nas diversas etapas deste estudo, sem a qual não poderia ser concretizado, bem como aos doadores de sangue que gentilmente aceitaram participar no estudo.

Aos meus Orientadores, à Prof. Céu Leitão e ao Prof. Doutor. António Robalo Nunes, um muito obrigado, por toda a colaboração, pelo esclarecimento de dúvidas e por acreditarem neste projeto.

À Dr<sup>a</sup>. Sónia Freitas do Gabinete de Estatística do Centro de Investigação do SESARAM e ao Prof. Ricardo João pela ajuda na parte estatística do estudo.

À minha irmã do coração, a parceira do crime, como nós nos apelidamos, que conheci há 20 anos atrás no auditório da ESTEsL, pela boa disposição, companheirismo, amizade e motivação nos momentos em que a névoa da desistência pairava sobre nós e por me acompanhar nos meus sonhos. (PS: levo doces sempre na mala).

Aos meus pais pelo apoio incondicional na minha vida, por serem os meus pilares, pelos seus valores e perseverança em alcançar os seus objetivos apesar das dificuldades.

Às pessoas mais importantes da minha vida, meu marido Ademar e à minha borboleta Madalena, por cederem o tempo de qualidade em família, pela motivação, apoio, palavras de carinho e silêncio em alguns momentos, para que eu pudesse concretizar um objetivo pessoal e profissional. À minha filha pelos abraços, beijinhos e pela maior prova de carinho todas as noites..." Mãe eu amo-te!"

Gratidão é a palavra do momento, a todos um MUITO OBRIGADO!



# Resumo

---

A contagem de plaquetas numa unidade de concentrado plaquetário obtido através de uma unidade de sangue total deverá conter  $60 \times 10^9$  plaquetas, sendo que existem vários fatores suscetíveis de influenciar este parâmetro (desde o dador até ao armazenamento).

Com este estudo pretendeu-se verificar quais os fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas nos Concentrados Plaquetários obtidos pelo Método Plasma Rico em Plaquetas, tendo como referência os parâmetros recomendados exigidos para este componente sanguíneo.

Realizou-se um estudo observacional descritivo, com 142 dadores de sangue, aos quais foram colhidos  $450\text{mL} \pm 10\%$  de sangue total, processado pelo método de PRP. Colheram-se amostras para realizar hemograma ao dador, ao concentrado eritrocitário, ao plasma pobre em plaquetas e ao concentrado plaquetário para determinar a contagem de plaquetas. Os tempos de colheita, tempo de repouso do sangue total e tempo de repouso do plasma rico em plaquetas também foram avaliados através do SPSS.

Os dadores com contagem de PLT inferior ou igual a  $200 \times 10^9/\text{L}$  têm uma maior probabilidade de terem as plaquetas  $\leq 60 \times 10^9$ , no qual existe uma correlação forte (coeficiente de Spearman =1, valor  $p < 0.001$ ).

Existe diferença estatisticamente significativa entre os sexos, sendo que as mulheres têm valores médios de contagem plaquetária superiores aos dos homens ( $p=0.023$ ).

Relativamente a associações entre variáveis, verificou-se que existe uma correlação fraca entre a idade, tempo de colheita do sangue total e a contagem de plaquetas no concentrado plaquetário, e uma correlação moderada entre o repouso do sangue total.

**Palavras-chave: Concentrado Plaquetário, Método PRP, contagem de plaquetas, controlo de qualidade, dador de sangue.**



# Abstract

---

The platelet count in a unit of platelet concentrate obtained from a unit of whole blood should contain  $60 \times 10^9$  platelets, and there are several factors that can influence this Parameters (from the donor to the storage).

The aim of this study was to verify which factors are likely to influence the platelet count in Platelet Concentrates obtained by the Platelet Rich Plasma Method, using the recommended parameters required for this blood component as a reference.

A descriptive observational study was carried out with 142 blood donors, from whom  $450\text{mL} \pm 10\%$  of whole blood were collected, processed by the PRP method. Blood samples were takes from the donor, erythrocyte concentrate, platelet-poor plasma and platelet concentrate to determine the platelet count. Collection times, resting time for whole blood and resting time for platelet-rich plasma were also evaluated using SPSS.

Donors with a PLT count less than or equal to  $200 \times 10^9/\text{L}$  are more likely to have platelets  $\leq 60 \times 10^9$ , for which there is a strong correlation (Spearman's coefficient =1, p-value <0.001).

There is a statistically significant difference between the sexes, with women having mean platelet counts higher than men (p=0.023).

Regarding associations between variables, it was found that there is a weak correlation between age, time of collection of whole blood and the platelet count in the platelet concentrate, and a moderate correlation between resting whole blood

**Keywords: Platelet Concentrate, PRP Method, Platelet Count, Quality Control, Blood Donor**



# Índice geral

---

<b>Agradecimentos</b> .....	V
<b>Resumo</b> .....	VII
<b>Abstract</b> .....	IX
<b>Índice de tabelas</b> .....	XV
<b>Índice de figuras</b> .....	XVII
<b>Abreviaturas</b> .....	XIX
<b>Glossário</b> .....	XXI
<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>2. Estado da arte</b> .....	2
<b>2.1 Serviços de Sangue e Serviços de Medicina Transfusional</b> .....	2
<b>2.2 Dadores de sangue e critérios de seleção de dadores</b> .....	3
<b>2.3 Concentrados plaquetários – Plaquetas, Estrutura e Função Plaquetária</b>	6
<b>2.4 Indicação para transfusão de plaquetas</b> .....	8
<b>2.5 Métodos de Preparação de Concentrados Plaquetários</b> .....	9
<b>2.5.1 Método de Plasma Rico em Plaquetas (PRP)</b> .....	10
<b>2.5.2 Método do “Buffy-coat”</b> .....	11
<b>2.5.3 Método de Aférese</b> .....	12
<b>2.5.4 Comparação entre os métodos PRP, BC e Aférese</b> .....	12
<b>2.6 Variáveis que influenciam a qualidade dos concentrados plaquetários..</b>	14
<b>2.6.1 Número de plaquetas dos dadores de sangue</b> .....	14
<b>2.6.2 Condições da colheita da unidade de sangue total</b> .....	15
<b>2.6.3 Armazenamento pré processamento</b> .....	16
<b>2.6.4 Centrifugação</b> .....	17
<b>2.6.5 Método de separação/processamento, filtração e desleucocitação</b>	17
<b>2.6.6 Ressuspensão e condições de armazenamento dos Concentrados         Plaquetários</b> .....	18
<b>3. Requisitos de qualidade e segurança dos Concentrados Plaquetários</b> .....	19
<b>4. Objetivos e hipótese do estudo</b> .....	20
<b>4.1 Questão de Investigação</b> .....	20
<b>4.2 Objetivo geral</b> .....	20
<b>4.3 Objetivos específicos</b> .....	20
<b>4.4 Hipótese do estudo</b> .....	20

<b>5. Metodologia .....</b>	<b>21</b>
<b>5.1 Desenho, método e local do estudo .....</b>	<b>21</b>
<b>5.2 População/Amostragem e critérios de seleção .....</b>	<b>21</b>
<b>5.3 Recolha de amostras .....</b>	<b>22</b>
<b>5.4 Etapas do estudo .....</b>	<b>23</b>
<b>5.5 Variáveis do estudo .....</b>	<b>28</b>
<b>Tabela 5.1 Variáveis consideradas no estudo .....</b>	<b>28</b>
<b>5.6 Análise estatística.....</b>	<b>29</b>
<b>5.7 Ética .....</b>	<b>30</b>
<b>6. Resultados .....</b>	<b>31</b>
<b>6.1 Caraterização dos dadores do estudo.....</b>	<b>31</b>
<b>6.2 Caracterização dos volumes dos componentes sanguíneos .....</b>	<b>33</b>
<b>6.3 Caraterização do tempo de colheita do ST, tempo de repouso do ST e tempo de repouso do PRP .....</b>	<b>34</b>
<b>6.4 Contagem do número de plaquetas no dador e nos componentes sanguíneos.....</b>	<b>35</b>
<b>6.5 Dadores e contagem de plaquetas iniciais .....</b>	<b>35</b>
<b>6.6 Contagem de plaquetas por unidade de CP.....</b>	<b>36</b>
<b>6.7 Tempo de repouso do Sangue total e contagem de plaquetas por unidade de CP .....</b>	<b>37</b>
<b>6.8 Eficácia do método .....</b>	<b>37</b>
<b>6.9 Análise dicotómica das variáveis .....</b>	<b>38</b>
<b>6.9.1Sexo dos dadores com n.º de plaquetas .....</b>	<b>38</b>
<b>6.9.2 Sexo dos dadores com n.º de plaquetas por unidade de CP .....</b>	<b>39</b>
<b>6.9.3 Correlação entre variáveis .....</b>	<b>39</b>
<b>6.10 Verificação da hipótese do estudo .....</b>	<b>41</b>
<b>7. Discussão/Conclusão.....</b>	<b>43</b>
<b>7.1 Discussão.....</b>	<b>43</b>
<b>7.2 Conclusão .....</b>	<b>50</b>
<b>8. Perspetivas futuras .....</b>	<b>51</b>
<b>9. Referências bibliográficas .....</b>	<b>52</b>
<b>Apêndice I.....</b>	<b>58</b>
<b>Apêndice II .....</b>	<b>62</b>
<b>Apêndice III .....</b>	<b>65</b>
<b>Tabela de registo de resultados.....</b>	<b>65</b>
<b>Apêndice IV .....</b>	<b>67</b>

<b>Apêndice V</b> .....	69
<b>Anexo I</b> .....	71
<b>Anexo II</b> .....	73



# Índice de tabelas

---

Tabela 2.1 Critérios de elegibilidade de doadores de sangue.....	5
Tabela 2.2 Número de plaquetas produzidas e validadas no ano de 2020.....	8
Tabela 3.1 Parâmetros a avaliar no controle de qualidade do CP.....	19
Tabela 5.1 Variáveis consideradas no estudo.....	28
Tabela 6.1 Volume dos componentes sanguíneos obtidos após fracionamento do ST.....	33
Tabela 6.2 Caracterização dos tempos em análise do estudo.....	34
Tabela 6.3 Contagem de plaquetas no doador e nos componentes sanguíneos obtidos.....	35
Tabela 6.4 Contagem de plaquetas por unidade de CP de acordo com o tempo de repouso do ST.....	37
Tabela 6.5 Avaliação da contagem inicial de plaquetas do doador e o sexo.....	38
Tabela 6.6 Avaliação da contagem de plaquetas do CP e o sexo.....	39
Tabela 6.7 Correlação entre variáveis.....	40
Tabela 6.8 Tabela de contingência.....	41
Tabela 6.9 Relação entre variáveis (hipótese do estudo) tabela de contingência.....	42



# Índice de figuras

---

Figura 2.1 Funções das plaquetas.....	6
Figura 2.2 Separação do sangue de acordo a densidade.....	9
Figura 2.3 Método PRP.....	11
Figura 2.4 Métodos de preparação de plaquetas .....	13
Figura 2.5 Colheita de sangue total e agitação em balança agitadora Compoguard Fresenius Kabi ®, .....	15
Figura 5.1 Sistema Composampling, balança agitadora e sacos .....	23
de colheira utilizados na dádiva sanguínea	
Figura 5.2 Malas térmicas Compocool.....	24
Figura 5.3 Fases do processo de extração semiautomática do ST em CE e PRP.....	25
Figura 5.4 Concentrados plaquetários obtidos após a separação do PRP.....	25
Figura 5.5 Material utilizado na recolha de amostras para controlo de qualidade.....	26
Figura 5.6 Etapas do estudo relativamente à recolha das amostras.....	27
Figura 5.7 Interpretação das medidas de associação V de Cramer.....	29
Figura 5.8 Interpretação, do coeficiente de Pearson's e Spearman's .....	30
Figura 5.9 Distribuição dos dados consoante o sexo.....	31
Figura 5.10 Distribuição dos dados de acordo a faixa etária.....	31
Figura 5.11 Distribuição dos dados consoante o sexo e a faixa etária.....	32
Figura 5.12 Distribuição dos dados consoante o grupo sanguíneo.....	32
Figura 5.13 Distribuição dos dados por grupo sanguíneo e sexo.....	33
Figura 5.14 Contagem de plaquetas no dador.....	36
Figura 5.15 Distribuição dos CP de acordo com a contagem de plaquetas.....	36



# Abreviaturas

---

**IPST** - Instituto Português do Sangue e da Transplantação

**IGAS** - Inspeção das atividades económicas

**SS** - Serviço de Sangue

**SMT** - Serviço de Medicina Transfusional

**ST** - Sangue total

**CE** - Concentrado eritrocitário

**CP** - Concentrado plaquetário

**PFC** - Plasma fresco congelado

**CRIO** - Crioprecipitado

**PGI2** - Prostaglandina

**NO** - Oxido nítrico

**ADP** - Adenosina difosfato

**ATP** - Adenosina trifosfato

**PRP** - Plasma rico em plaquetas

**PPP** - Plasma pobre em plaquetas

**BC** - *Buffy-coat*

**CUP** – Concentrado unitário de plaquetas

**RPM** – Rotações por minuto

**SSMT** – Serviço de Sangue e Medicina Transfusional

**RAM** - Região Autónoma da Madeira

**MO** – Medula óssea



# Glossário

---

- Aférese - método para a obtenção de um ou mais componentes sanguíneos através de processamento do sangue total num equipamento, no qual os componentes residuais do sangue são devolvidos ao dador durante ou após a conclusão do processo.
- Colheita de sangue – o processo através da qual uma única dádiva é colhida com uma solução anticoagulante e/ou conservante, sob as condições necessárias para minimizar a contaminação bacteriana, os danos celulares e/ou a ativação da coagulação na dádiva de sangue resultante.
- Componente sanguíneo- componente terapêutico, obtido de uma ou mais unidades de sangue total, que mediante o método utilizado na sua produção, permite a obtenção de vários produtos: concentrado de eritrócitos (CE), concentrado de plaquetas (CP), plasma fresco congelado (PFC) e crioprecipitado.
- Concentrado de eritrócitos, desleucocitado com solução aditiva – componente sanguíneo resultante de uma unidade de sangue total, a qual foi retirada a maior parte do plasma, sendo subsequentemente, retirados os leucócitos através de um filtro, ao qual posteriormente é adicionado uma solução aditiva/conservante.
- Concentrado de plaquetas – componente sanguíneo que através de um processo de separação contém um elevado número de plaquetas suspensas em plasma por unidade de volume, podendo ser ou não desleucocitado.
- Crioprecipitado - o componente do plasma, obtido a partir de plasma fresco congelado, através de precipitação por congelação e descongelação das proteínas e subsequente concentração e ressuspensão das proteínas precipitadas num volume reduzido de plasma.
- Dádiva – resultado da colheita de sangue total ou componentes sanguíneos por punção venosa para um sistema fechado e estéril de sacos de colheita, mediante procedimentos adequados e validados, em particular uma correta desinfecção da pele e no volume adequado.
- Dador – individuo saudável (boas condições de saúde) que voluntariamente doa sangue ou componentes sanguíneos, incluindo plasma para fracionamento.
- Desleucocitação – processo em que são retirados os leucócitos aos concentrados de eritrócitos e concentrados e pools de plaquetas. Os leucócitos podem ser retirados durante o processo de produção ou podem ser retirados só

no momento da administração de componentes através de um filtro adequado.

- Eritrócitos – constituinte celular de sangue total, considerado como componente obtido a partir de uma unidade de sangue total a que foi retirada a maior parte do plasma.
- Hemovigilância - conjunto de processos organizados de vigilância de incidentes ou reações registadas em dadores ou recetores, bem como o seu acompanhamento epidemiológico de dadores.
- Plaquetas - constituinte celular do sangue total, considerado como componente sanguíneo, sendo uma suspensão concentrada de plaquetas podendo ser obtida por separação do sangue total ou aférese. Este componente no caso de ser obtido por separação do sangue total pode ser ou não desleucocitado.
- Plasma - fração líquida do sangue na qual se encontram as células em suspensão. O plasma obtém-se a partir da separação da fração celular, isto é, a partir de um processo de centrifugação no qual são removidas ao sangue total as frações celulares. Este produto derivado do sangue pode ser diretamente utilizado como plasma fresco, para processamento de crioprecipitado e em plasma desprovido de crioprecipitado para transfusão, ou ser utilizado ainda, na preparação de pool de plaquetas ou de pool de plaquetas desleucocitadas e na ressuspensão de eritrócitos para efeitos de exsanguíneo-transfusão ou transfusão perinatal. Este produto é ainda utilizado no fabrico industrial de outros subprodutos terapêuticos, como as albuminas, imunoglobulinas e fatores de coagulação.
- Plasma fresco congelado - fração líquida do sangue obtida de uma unidade de sangue total, em que após um processo de separação celular são lhe retirados os constituintes celulares, sendo congelado e armazenado a uma temperatura inferior a -30°C.
- Pool de plaquetas - componente sanguíneo que contém uma mistura de plaquetas, provenientes de 4 a 6 unidades de sangue total, suspensas em plasma ou solução aditiva, sendo a sua obtenção dependente do método utilizado.
- Processamento – qualquer fase da produção e preparação de um componente sanguíneo que decorra entre a colheita de sangue e a disponibilização do componente sanguíneo.
- Produtos sanguíneo – qualquer produto terapêutico derivado do sangue ou do plasma humano.
- Sangue total - o sangue total é colhido ao dador e processado quer para transfusão quer para processamento subsequente.

- Separação e fracionamento de componentes sanguíneos – conjunto de procedimentos realizado à colheita de sangue total, em que a partir de um processo de uma ou várias centrifugações a através de um processo de extração é possível fracionar a unidade em várias frações.
- Solução aditiva – solução que permite manter as condições terapêuticas do produto durante o armazenamento.
- Solução anticoagulante – solução que impede a coagulação do produto durante a colheita e armazenamento.

# 1.Introdução

---

A utilização do sangue humano como terapêutica de substituição tem colocado exigências crescentes de garantia de qualidade e de segurança por forma a prevenir a transmissão de doenças e garantir a segurança e eficácia transfusional.

O Decreto-Lei n.º 185/2015 de 2 de setembro que revoga o Dec. Lei 267/2007 de 24 de julho, que define os requisitos de qualidade e segurança para o sangue e componentes sanguíneos, estabelece as normas de qualidade e segurança destinadas à colheita e à análise de sangue humano e de componentes sanguíneos, qualquer que seja o fim a que se destinem, e ao seu processamento, armazenamento e distribuição quando destinados a transfusão, por forma a assegurar um elevado nível de proteção da saúde humana (1,2).

Segundo o Conselho da Europa (3), que define as orientações para a preparação, uso e garantia de qualidade dos componentes sanguíneos, a contagem de plaquetas numa unidade de concentrado plaquetário obtido a partir de uma unidade de sangue total deve conter  $60 \times 10^9$  plaquetas, sendo que no controlo de qualidade 90% das unidades de concentrados plaquetário testadas deverão ter uma contagem de plaquetas igual ou superior, a este valor de referência.

Contudo, nem sempre este parâmetro é atingido, existindo concentrados plaquetários cujos valores de plaquetas são inferiores aos valores recomendados, tornando-se pertinente identificar os fatores suscetíveis que possam estar na origem das contagens baixas (atribuídas ao dador ou a fatores intrínsecos ao processamento) (3).

Deste modo, tornou-se pertinente identificar os fatores que possam interferir nos parâmetros recomendados (3), relativamente aos concentrados plaquetários, garantindo a sua qualidade, bem como minimizar a eliminação de componentes sanguíneos, uma vez que são exclusivamente dependentes das dádivas de sangue.

Entendeu-se que a identificação desses fatores permitiria eventualmente ao Serviço de Sangue ajustar os processos de seleção de dadores, a obtenção de componentes de acordo com o método de separação, bem como o seu processamento e condições de armazenamento.

## 2.Estado da arte

---

### 2.1 Serviços de Sangue e Serviços de Medicina Transfusional

O Instituto Português do Sangue e da Transplantação (IPST), tem por missão regular, a nível nacional, a atividade da medicina transfusional e garantir a disponibilidade e acessibilidade de sangue e componentes sanguíneos de qualidade, seguros e eficazes, competindo-lhe, em especial, apoiar na definição da política nacional para o sector da medicina transfusional e coordenar, orientar e regulamentar todas as atividades relacionadas com a transfusão de sangue (1).

O Parlamento Europeu e o Conselho da Europa, em processo de codecisão, aprovaram a Diretiva n.º 2002/98/CE, de 27 de Janeiro de 2003, que estabelece as normas de qualidade e segurança destinadas à colheita e à análise de sangue humano e de componentes sanguíneos, qualquer que seja o fim a que se destinem, e ao seu processamento, armazenamento e distribuição quando destinados a transfusão, por forma a assegurar um elevado nível de proteção da saúde humana, alterando a Diretiva n.º 2001/83/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 6 de Novembro, por forma a assegurar os critérios de qualidade e segurança dos sangue e dos componentes sanguíneos (1).

Em Portugal, a autoridade competente, responsável pela verificação do cumprimento dos requisitos técnicos em matéria de qualidade e segurança constantes do presente decreto-lei, é a Direção-Geral de Saúde, em articulação com a Inspeção das Atividades em Saúde (IGAS) e com o Instituto Português do Sangue e da Transplantação (1).

A DGS também tem a responsabilidade de autorizar o funcionamento dos serviços de sangue e medicina transfusional, depois de confirmar que o serviço cumpre os requisitos técnicos em matéria de qualidade e segurança constantes do presente decreto-lei, devendo indicar quais as atividades autorizadas e em que condições (1).

“Os serviços de sangue (SS) são as estruturas ou organismos responsáveis pela colheita e análise de sangue humano ou de componentes sanguíneos, qualquer que seja a sua finalidade, bem como pelo seu processamento, armazenamento e distribuição quando se destinam à transfusão “(1).

“Os serviços de medicina transfusional (SMT) são unidades hospitalares que armazenam, distribuem e disponibilizam sangue e seus componentes, efetuam testes de compatibilidade para utilização exclusiva do hospital e podem incluir outras atividades de transfusão com suporte hospitalar. Os serviços de medicina transfusional

que incluam processos que caibam na definição de serviços de sangue devem, para o exercício desses processos, pedir autorização à DGS” (1).

Para garantir a segurança e qualidade, os serviços de sangue e de medicina transfusional devem implementar um Sistema de Qualidade, sendo que a Norma 21/2017 da DGS, de 17 de outubro refere as Especificações do Sistema de Qualidade dos Serviços de Sangue e Serviços de Medicina Transfusional (1,4).

É da responsabilidade de todos os profissionais dos serviços de sangue e serviços de medicina transfusional, garantir a qualidade dos processos envolvidos, desde à dádiva de sangue à disponibilização dos componentes sanguíneos e derivados, bem como a hemovigilância, cabendo à gestão assegurar a implementação e manutenção de um Sistema de Qualidade (4).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), a Internacional Society of Blood Transfusion (ISBT), a European Blood Alliance (EBA) e a American Association of Blood Banks (AABB) são algumas das principais organizações que têm contribuído para o desenvolvimento da uniformização da regulamentação normativa do acesso e disponibilidade a sangue seguro.

## **2.2 Dadores de sangue e critérios de seleção de dadores**

Para que a transfusão de sangue seja segura e benéfica para o recetor, é necessário que o recrutamento dos dadores de sangue obedeça a critérios de seleção (1-3,5,6)

A dádiva de sangue é um ato voluntário benévolo e anónimo, envolvendo princípios médicos e éticos, destinados a proteger a saúde quer do dador, quer do recetor. Em 1975 realizou-se a Assembleia Mundial de Saúde (AMS) na qual estabeleceu o princípio de que a dádiva sanguínea deve ser voluntária e não remunerada, através da Resolução WHA 28.72. (5)

A dádiva de sangue inicia-se a partir do momento da punção da pele para a colheita (6). As dádivas sanguíneas podem ser homólogas ou autólogas. Na dádiva autóloga, o sangue e os componentes sanguíneos colhidos de um indivíduo destinam-se exclusivamente a uma transfusão autóloga ulterior ou a outra aplicação humana administrada ao próprio indivíduo. Na dádiva homóloga, o sangue e os componentes sanguíneos colhidos a um indivíduo destinam-se a transfusão outro indivíduo, a serem utilizados em dispositivos médicos ou a servirem de matéria-prima para o fabrico de medicamento (1,3,6).

A primeira das etapas para garantir a qualidade e a segurança máximas do sangue homólogo a transfundir é a seleção dos dadores. A observação dos dadores de sangue

é obrigatoriamente realizada por um médico com formação e treino específico na seleção de dadores, em espaço individualizado, de forma a garantir a confidencialidade do ato médico (1,3,6).

Os critérios de seleção dos dadores de sangue têm como finalidade garantir que a dádiva sanguínea não comprometa a saúde do dador, do recetor bem como a qualidade dos componentes sanguíneos obtidos.

Os critérios de inclusão são a idade, o peso, o estado geral de saúde e os estilos de vida dos dadores.

Em Portugal a avaliação dos candidatos à dádiva de sangue, baseia-se nos critérios mínimos de elegibilidade, nos termos do Decreto-Lei n.º 185/2015 de 2 de setembro, na sua redação atual, e na avaliação individual do risco relacionado com comportamentos da pessoa candidata à dádiva de sangue, com vista a garantir a segurança dos recetores (1).

Os potenciais dadores de sangue devem receber as seguintes informações: doenças potencialmente transmissíveis pelo sangue; infeções sexualmente transmissíveis, comportamentos com risco acrescido para infeções transmissíveis pelo sangue, consumo de drogas injetáveis e inaláveis, contacto sexual comercial, contacto sexual com múltiplos parceiros/as, contacto sexual com parceiro/a de risco; novo/a parceiro/a sexual há menos de 3 meses. Para além desta informação, devem ser informados dos estudos laboratoriais associados à dádiva de sangue, significado e importância do “período de janela” das doenças infecciosas transmissíveis pela transfusão e a importância da adesão ao questionário de seleção de candidatos à dádiva (1,7,8).

A avaliação clínica e analítica pré-dádiva compreendem os seguintes passos: peso, medição da tensão arterial, determinação da hemoglobina, preenchimento do consentimento esclarecido para a dádiva de sangue, onde é fornecida informação relevante acerca da dádiva (Norma 015/2013 “Consentimento informado, esclarecido e livre) e exame clínico de seleção referenciando aos critérios de elegibilidade (9).

Em Portugal, os critérios mínimos de elegibilidade de dadores de sangue total e de componentes sanguíneos estão identificados na tabela 2.1 (1).

Tabela 2.1 Critérios de elegibilidade de dadores de sangue

<b>Idade</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dos 18 aos 65 anos;</li> <li>• 17-18 anos: exceto se considerados juridicamente como menores, ou mediante consentimento dos pais ou do tutor legal, de acordo com o estabelecido por lei;</li> <li>• Dadores de 1ª vez com mais de 60 anos: fica ao critério do médico do SS;</li> <li>• Mais de 65 anos: com autorização do médico do SS, concedida anualmente.</li> </ul>
<b>Peso</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ≥ 50 Kg para dadores de sangue total ou de componentes sanguíneos.</li> </ul>
<b>Hemoglobina</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mulheres: 125g/L; Homens:135g/L para dádiva homóloga</li> </ul>

No que concerne ao intervalo entre as dádivas sanguíneas, os homens podem realizar a sua dádiva de três em três meses e as mulheres de quatro em quatro meses, sendo que o intervalo mínimo entre dádivas é cerca de dois meses (1,3,6).

Relativamente aos requisitos de base em matéria de análise das dádivas de sangue total (ST) e componentes, devem ser realizadas as seguintes análises às unidades de sangue total e de aférese, incluindo as unidades para a transfusão autóloga obtidas por colheita prévia: Grupo ABO; Grupo Rh D, Pesquisa de Anticorpos irregulares e deteção dos seguintes marcadores de infeção nos dadores: Hepatite B (AgHBs, AchBs, AchBc); Hepatite C (Anti -HCV); HIV ½ (Anti -HIV1/2), Sífilis e teste de ácidos nucleicos (T.A.N) para hepatite B, hepatite C e HIV (1,3,6)

A partir de uma dádiva de sangue total (ST) e utilizando vários métodos de preparação, podem obter-se vários componentes sanguíneos, nomeadamente: Concentrado Eritrocitários (CE), Plasma Fresco Congelado (PFC) e Crioprecipitado (CRIO) e Concentrado Plaquetário (CP).

## 2.3 Concentrados plaquetários – Plaquetas, Estrutura e Função Plaquetária

As plaquetas foram identificadas em 1882, por Bizzozero, mas só em 1970 a sua relação com a hemostase se tornou evidente. São pequenos fragmentos celulares anucleados de forma discoide, com cerca de 2-3  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 7-11 fl de volume, que se formam na medula óssea (MO) a partir da fragmentação do citoplasma dos seus precursores, os megacariócitos. A sua produção aumenta em resposta à trombopoietina, uma hormona produzida fundamentalmente no fígado, e o seu tempo de vida em circulação é de cerca de 10 dias. Apesar de serem fragmentos celulares anucleadas, apresentam uma estrutura complexa, em que se destacam vários componentes (10-16).

As plaquetas são multifuncionais, ou seja, atuam ao nível da regulação do tónus vascular, na resposta inflamatória, no sistema imunológico, na biologia tumoral e na trombose e hemóstase (Figura 2.1) (10).

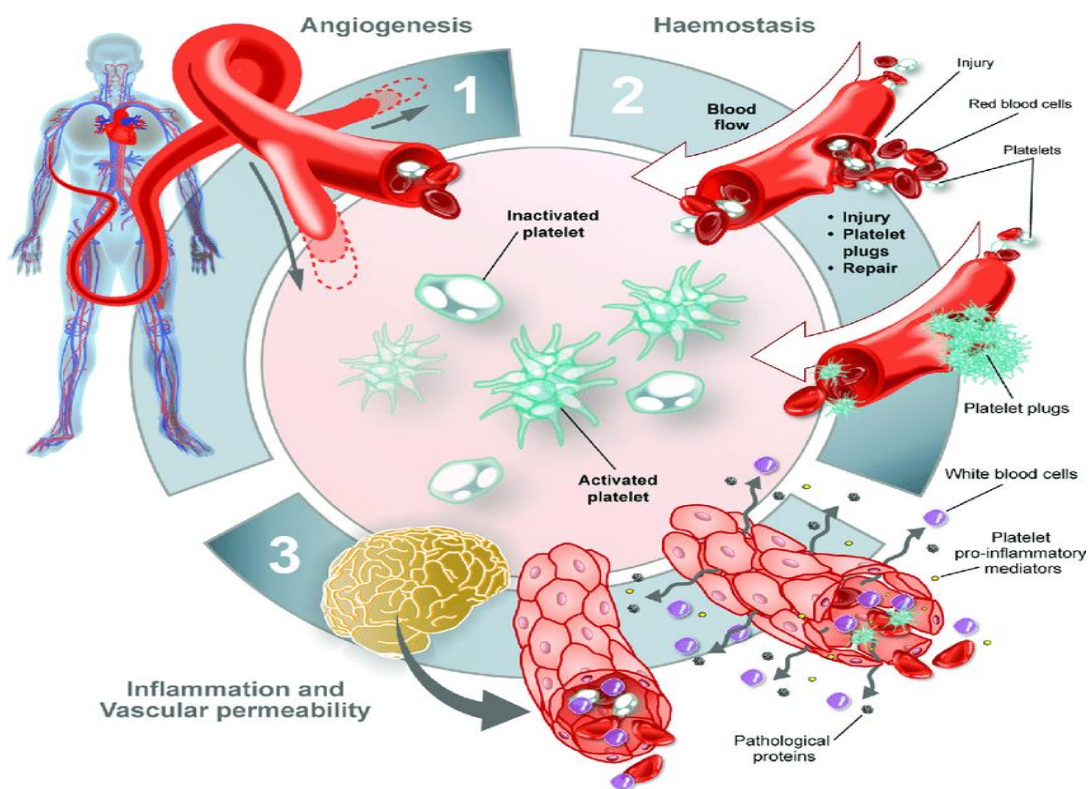


Figura 2.1 Funções das plaquetas (Fonte: [https://www.researchgate.net/figure/Roles-of-platelets-platelets-are-primarily-involved-in-1-angiogenesis-2-haemostasis\\_fig1\\_329790442](https://www.researchgate.net/figure/Roles-of-platelets-platelets-are-primarily-involved-in-1-angiogenesis-2-haemostasis_fig1_329790442))

Em condições fisiológicas, circulam no sangue no estado inativo, uma vez que as células endoteliais secretam fatores que inibem a ativação plaquetária. Exemplos destes fatores são a prostaglandina (PGI<sub>2</sub>), o óxido nítrico (NO), e o CD39/ADPase, um componente na superfície das células endoteliais que hidrolisa os vestígios de adenosina difosfato (ADP), suscetíveis de ativar as plaquetas. Quando ativadas, as plaquetas agregam e catalisam a formação de um coágulo estável, via cascata da coagulação, no sentido de induzirem o controlo inicial da hemorragia (10-16). De acordo com o modelo clássico da hemostase primária, a formação de um trombo plaquetário estável após uma lesão vascular, ocorre em três fases distintas: iniciação (adesão de plaquetas), extensão (ativação, adesão e agregação) e estabilização (estabilização do trombo). As plaquetas têm a capacidade de armazenar vários fatores de crescimento, enzimas e outras moléculas bioativas, que são rapidamente libertadas após a ativação plaquetária, sendo também capazes de estimular certos eventos chave nos processos de reparação, como a replicação de células de origem mesenquimal (incluindo fibroblastos, osteoblastos e células endoteliais) ou efeitos quimiotáticos (10-12,15).

As plaquetas não estão envolvidas apenas na hemostase, desempenhando um papel importante na reparação e regeneração tecidual (13).

A contagem normal de plaquetas no sangue periférico varia entre 150 e 350x10<sup>9</sup>/L. Dentro deste intervalo, o número de plaquetas circulantes é adequado à hemostase. Dado que as plaquetas têm um tempo de vida em circulação de cerca de 10 dias e que cerca de um terço das plaquetas são retidas no baço, estima-se que sejam produzidas cerca de 100x10<sup>9</sup> plaquetas por dia, a fim de manter uma contagem dentro dos valores considerados normais.

É assim fundamental um equilíbrio constante entre a trombocitopoiese e o consumo plaquetário, por senescência ou ativação plaquetária. Quando este equilíbrio é perturbado, pode ocorrer um aumento ou uma diminuição do número de plaquetas circulantes (10,12,14,15).

## 2.4 Indicação para transfusão de plaquetas

A transfusão sanguínea é essencial na medicina moderna, sendo que vários tratamentos médicos e cirúrgicos não podiam ter sido implementados sem recurso a esta terapêutica de suporte (17).

A decisão de transfundir é um ato de responsabilidade médica, devendo ser sempre registada e justificada no processo clínico do doente, tendo em consideração as Normas de Orientação Clínica da Direção Geral de Saúde sobre a utilização clínica dos diferentes componentes - Concentrado Eritrocitário, Concentrados Plaquetários e Plasma Fresco Congelado no adulto bem como as orientações especificamente existentes para determinadas patologias (18-20).

De acordo com o Relatório de Atividade Transfusional e Sistema Português de Hemovigilância, no ano de 2020, e de acordo com os dados da tabela 2.2, foram produzidos os seguintes componentes plaquetários indicados (21).

Tabela 2.2 Número de plaquetas produzidas e validados no ano de 2020 (21)

	N.º de Unidades		Total
	Plaquetas em plasma	Plaquetas em Solução aditiva	
Plaquetas, aférese, desleucocitadas	1029	4538	5813
Plaquetas, aférese, desleucocitadas, com redução patogénica		246	
Pool de plaquetas	40		36645
Pool de plaquetas desleucocitadas	4721	10244	
Pool de plaquetas desleucocitadas, com redução patogénica	21640		
Plaquetas obtidas de uma unidade de sangue total	363		15214
Plaquetas obtidas de uma unidade de sangue total, desleucocitadas	14851		

As plaquetas são elementos sanguíneos essenciais no controlo de hemorragias, sendo que a trombocitopenia ocorre, por definição, quando o valor de plaquetas é inferior a  $150 \times 10^9/L$  (19). A transfusão de plaquetas pode ser profilática em doentes com

trombocitopenia central secundária a patologia, terapêutica citotóxica ou radioterapia e sem hemorragia ativa, ou transfusão terapêutica se existir hemorragia atribuível à trombocitopenia. Alguns estudos recomendam transfusão profilática de plaquetas em todos os doentes com contagem plaquetária  $\leq 10 \times 10^9 /L$  que tenham trombocitopenia crónica devida a quimioterapia, transplante de medula óssea ou condições que resultem em trombocitopenia como aplasia ou mielodisplasia (5,17,19). Pode haver necessidade de transfusão profilática de plaquetas quando existem fatores que amplificam o risco hemorrágico (por exemplo febre ou infeção), ou perante a necessidade de proceder a um ato invasivo (5,10,17,19). Em Portugal no ano de 2020, foram transfundidas 6820 unidades de plaquetas obtidas de uma unidade de sangue total, 14214 pool de plaquetas com redução patogénica, 19256 pool de plaquetas, 274 plaquetas de aférese com redução patogénica e 5673 plaquetas de aférese (21).

## 2.5 Métodos de Preparação de Concentrados Plaquetários

Os componentes sanguíneos podem ser separados através da centrifugação, tendo em conta que diferem em tamanho e densidade, quando aplicada força centrífuga (3,6,22). Os eritrócitos como têm uma densidade maior (têm mais massa/peso) depositam se no fundo aquando da centrifugação, seguindo-se dos glóbulos brancos e finalmente as plaquetas (Figura 2.2).

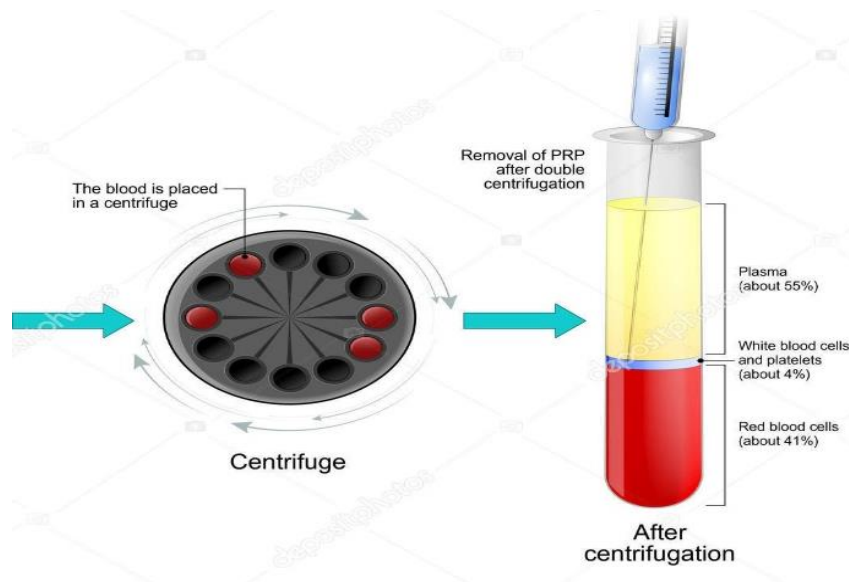


Figura 2.2 Separação do sangue de acordo a densidade

(Fonte: [https://st4.depositphotos.com/1232814/23998/v/1600/depositphotos\\_239986272-stock-illustration-platelet-rich-plasma-autologous-conditioned.jpg](https://st4.depositphotos.com/1232814/23998/v/1600/depositphotos_239986272-stock-illustration-platelet-rich-plasma-autologous-conditioned.jpg))

A utilização de componentes sanguíneos, nomeadamente as plaquetas, tornou-se viável com a introdução dos sistemas de sacos de colheita de plástico no início da década de 60 do século 20, a qual revolucionou o tratamento em doentes com trombocitopenia. Os CP podem ser produzidos usando diferentes materiais e processos centrifugação/leucorredução e são armazenados à temperatura ambiente (20-24°C) em agitação contínua até cinco dias (3, 6, 22).

Na preparação podem ser usados fundamentalmente 3 métodos: Método de Plasma Rico em Plaquetas (PRP), Método de *Buffy-coat* (BC) e Aférese, sendo que o princípio básico da preparação dos componentes sanguíneos baseia-se na gravidade específica aplicando a centrifugação (3, 6, 22).

O Método PRP foi o primeiro método utilizado para a preparação de concentrado plaquetário, sendo amplamente utilizado nos Estados Unidos da América (EUA). Em contraste, na Europa na década de 80 do século passado, o método PRP foi progressivamente substituído pelo Método *Buffy-coat* (6).

### **2.5.1 Método de Plasma Rico em Plaquetas (PRP)**

O Método de Plasma rico em Plaquetas consiste na separação das plaquetas a partir do Plasma Rico em Plaquetas, por forma a maximizar a contagem de plaquetas no plasma e minimizar o número de leucócitos e eritrócitos.

Inicialmente o sangue total (ST) colhido deverá ficar a uma temperatura entre 20-24°C, até o máximo de 24 horas, sendo posteriormente centrifugado (3,6,22).

O método PRP utiliza duas fases distintas de centrifugação. Na primeira fase ocorre uma centrifugação a baixa rotação do ST, com o objetivo de sedimentar os eritrócitos e concentrar as plaquetas no plasma sobrenadante, designado PRP.

Na segunda fase, ocorre a centrifugação com uma rotação mais elevada do PRP, sedimentando desta forma as plaquetas, sendo separadas *à posteriori* em CP e PPP (Figuras 2.3 e 2.4). O plasma sobrenadante, livre de plaquetas, é removido e as plaquetas são ressuspensas num volume superior a 40 ml.

Após a separação do CP e do PPP (utilizando extrator manual ou automático), as bolsas contendo o CP devem repousar entre uma a duas horas, antes de serem colocadas num agitador de plaquetas, o que permite a ressuspensão das mesmas. A ressuspensão manual das plaquetas pode induzir a sua agregação irreversível (6).

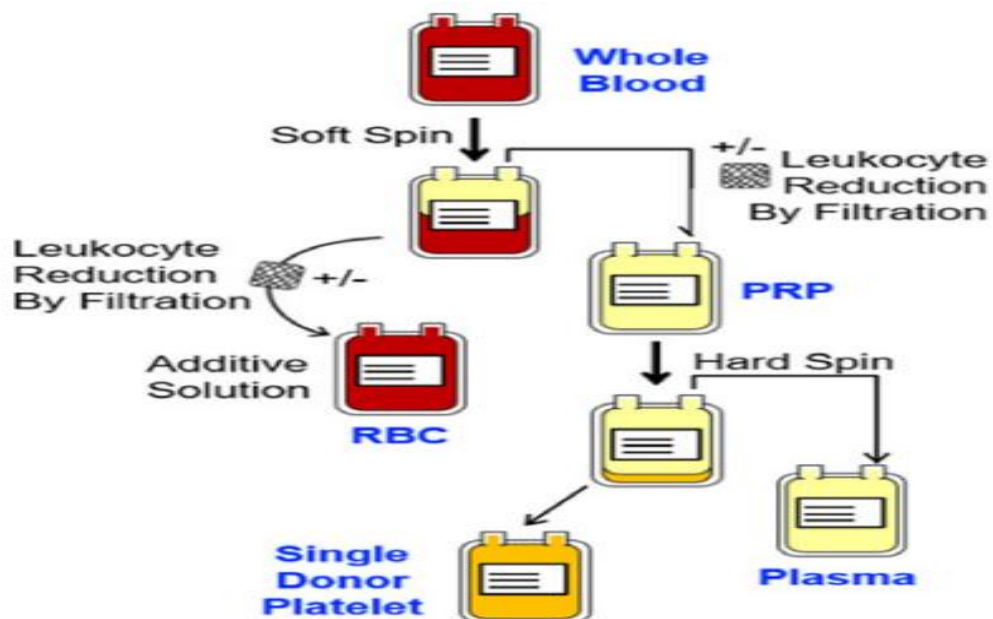


Figura 2.3 Método PRP (6)

O Concentrado Plaquetário Standard (CP) obtido a partir do plasma rico em plaquetas ou da camada leucoplaquetária de uma única dádiva de sangue total, contém  $0,45-0,80 \times 10^{12}$  plaquetas suspensas num volume de plasma que varia entre 50 e 70 ml (19). A partir da junção de quatro a seis unidades de CP standard pode obter-se uma *pool* de Concentrados Plaquetários (CPP). A *pool* de CP deve conter um mínimo de  $2 \times 10^{11}$  plaquetas num volume total de 250-300 ml de plasma ou solução aditiva.

### 2.5.2 Método do “Buffy-coat”

No método de separação das plaquetas a partir do “*buffy coat*”, o ST colhido é centrifugado a alta rotação, o que permite a separação nas seguintes camadas: eritrócitos - “*buffy coat*”- (90% das plaquetas e 70% dos leucócitos) e plasma (Figura 2.4). Após centrifugação a baixa rotação do “*buffy coat*” são produzidos os CP unitários (3,6,22,23). O *Buffy-Coat* é um componente sanguíneo preparado por centrifugação de uma unidade de sangue total e que contém uma fração considerável dos leucócitos e das plaquetas.

### 2.5.3 Método de Aférese

Aférese é o termo utilizado para referir colheita de componentes sanguíneos e deriva da palavra grega "aphaios", que significa "retirar". Especificamente, o sangue total é separado em componentes durante a colheita, o componente desejado é removido / modificado e os componentes restantes são devolvidos ao dador ou ao doente.

A aférese é usada para obter plaquetas de dadores voluntários, familiares de doentes ou dadores com HLA ou fenótipos compatíveis com os antígenos plaquetários. Por norma, a obtenção de plaquetas por aférese permite colher um grande número de células a partir de um único indivíduo, fornecendo um produto mais concentrado com menos exposição de dadores para o doente (3,6,22).

No método de plaquetaférese, o sangue é imediatamente combinado com o anticoagulante e separado em componentes, de acordo com as densidades, através de um separador de células automatizado. As plaquetas são transferidas para um saco de colheita, enquanto os restantes componentes sanguíneos são reinfundidos no dador (Figura 2.4). O componente final tem um volume aproximado de 200 ml e é designado de concentrado unitário de plaquetas (CUP) (19).

O CUP obtido a partir de um único dador por plaquetaférese, contém mais de  $2,5 \times 10^{11}$  plaquetas, suspensas num volume em aproximado de 250 ml de plasma ou solução aditiva (19).

### 2.5.4 Comparação entre os métodos PRP, BC e Aférese

De acordo com literatura, vários estudos comparam os três métodos, por forma a verificar a eficácia, alterações nos componentes sanguíneos e vantagens e desvantagens (23-27,29). Um estudo comparativo entre o Método PRP e *Buffy-Coat* (23), os concentrados plaquetários produzidos a partir do sangue total pelo método BC, após um período de repouso do sangue total durante a noite, apresentavam parâmetros laboratoriais sugestivos de qualidade superior do que o método PRP, nomeadamente contagem de plaquetas e pH.

Na comparação crítica dos métodos de preparação de plaquetas, os autores do estudo (24) referem as vantagens dos métodos, sendo que o método PRP e BC apresentavam como vantagem a maior disponibilidade dos dadores e o método de aférese minimizava a exposição a um único dador por parte do recetor de concentrados plaquetários, diminuindo a aloimunização.

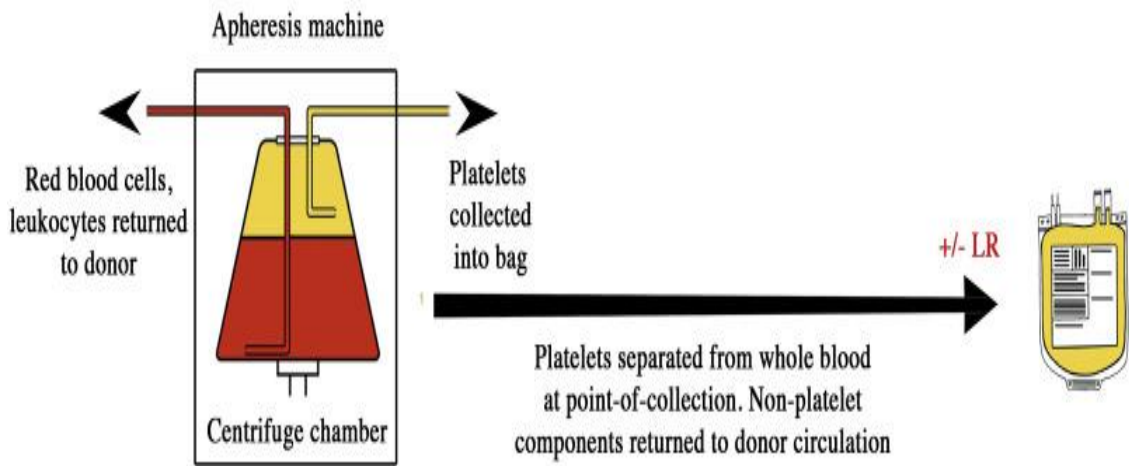
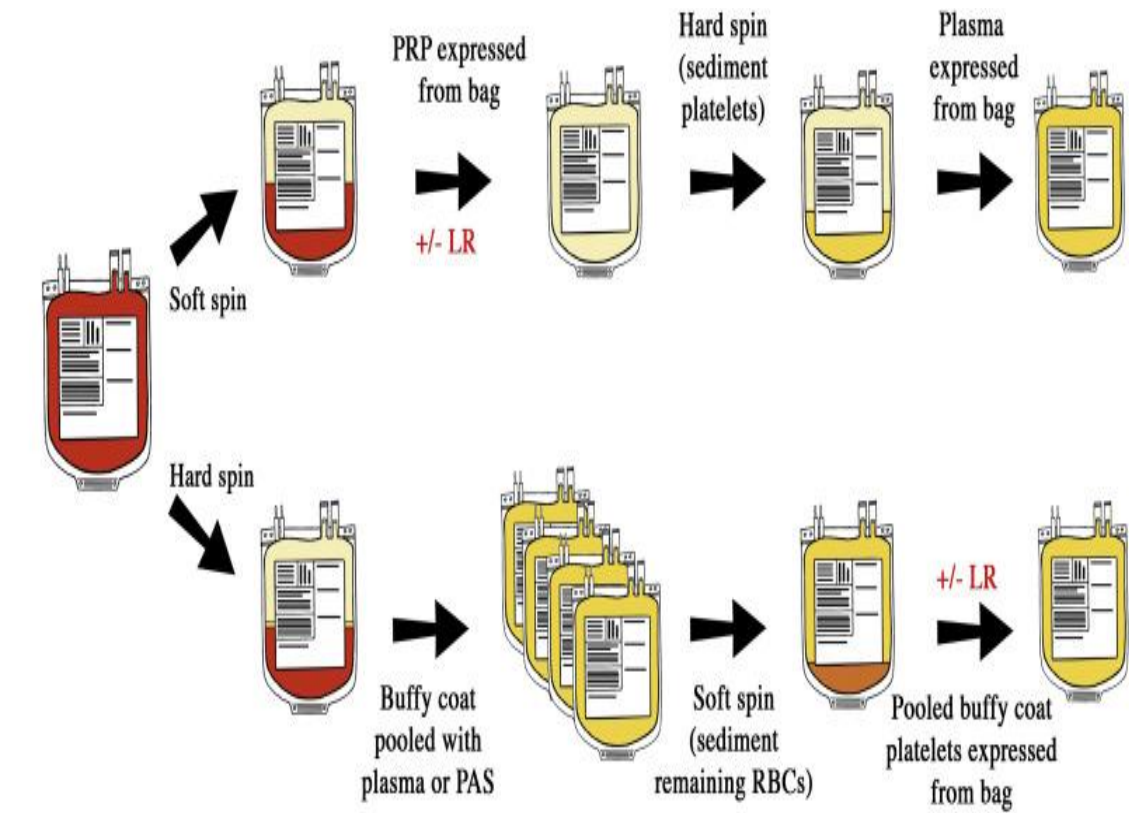


Figura 2.4 Métodos de preparação de plaquetas (53)

## **2.6 Variáveis que influenciam a qualidade dos concentrados plaquetários**

De acordo com a literatura, são várias as variáveis que podem afetar a qualidade dos concentrados plaquetários *in vitro* e possivelmente *in vivo* nomeadamente: a seleção dos dadores de sangue; as condições da colheita da unidade de sangue total; o armazenamento pré-processamento; a centrifugação; o método de separação/processamento; a filtração/desleucocitação; a ressuspensão dos concentrados plaquetários e as condições de armazenamento dos concentrados plaquetários (3,6,12,30-39).

### **2.6.1 Número de plaquetas dos dadores de sangue**

Em Portugal os Serviços de Sangue seguem os critérios de elegibilidade dos dadores de sangue de acordo com as orientações do Instituto Português do Sangue e da Transplantação e da Direção Geral de Saúde (1).

Um dos critérios para a elegibilidade de dadores de sangue para a dádiva, cuja a finalidade é a obtenção de concentrados plaquetários, é a ingestão de fármacos que afetam o funcionamento das plaquetas, nomeadamente, antiagregantes plaquetários (aspirina, clopidogrel e similares), usados para prevenir acidentes vasculares cerebrais e enfartes do miocárdio, fármacos anti-inflamatórios não esteróides, os quais inibem o metabolismo do ácido araquidónico através da inativação da enzima ciclo-oxigenase, e por exemplo a doença de von Willebrand (deficiência no fator de von Willebrand que afeta o funcionamento das plaquetas (6,10,12,30,31).

No que concerne aos dadores aptos para a dádiva de sangue, o número de plaquetas por concentrado plaquetário depende do número de plaquetas do dador (12). Num estudo realizado sobre redução patogénica em concentrados de plaquetas, os dadores de sangue tinham de ter pelos menos uma contagem de plaquetas inicial de  $200 \times 10^9/L$ , de modo a serem incluídos no estudo (32).

Com base na literatura, a contagem plaquetária no PRP deverá ser três a cinco vezes maior que na contagem inicial, permitindo deste modo avaliar a eficácia do protocolo de separação dos componentes sanguíneos através do Método de PRP (12,27).

## 2.6.2 Condições da colheita da unidade de sangue total

Na América do Norte e na Europa, o volume de sangue total colhido durante a flebotomia é de cerca de 450 mL  $\pm$  10% (405 - 495 mL). O tempo médio para a colheita de sangue deve ser inferior a 10 minutos, sendo que um tempo de colheita de sangue total superior a 12 minutos não é adequado para a colheita de plaquetas devido a ativação plaquetária. Colheitas de baixo volume (inferior a 300 mL) devem ser descartadas para a obtenção de plaquetas e plasma (3,6,22).

O sangue total colhido deverá ser misturado ao longo da colheita com o anticoagulante, colocando os sacos de colheita numa balança agitadora, que permite a homogeneização do ST com o anticoagulante e a obtenção do volume de ST pretendido (Figura 2.5).



Figura 2.5 Colheita de sangue total e agitação em balança agitadora Compoguard Fresenius Kabi®, no hospital Dr. Nélio Mendonça

A mistura do ST com o anticoagulante é importante para prevenir o início do processo de coagulação e o consumo resultante de fatores de coagulação. O início da coagulação pode não ser visível, mas ter consequências negativas importantes, incluindo: o concentrado plaquetário, referente aquela dádiva, conter uma baixa contagem de plaquetas; o Plasma fresco congelado (PFC) conter níveis baixos de fatores de coagulação, sobretudo os fatores lábeis; e pequenos coágulos que se desenvolvem no sangue podem posteriormente entupir ou bloquear o filtro do conjunto de administração durante a transfusão (6, 33).

O estudo realizado sobre a influência da agitação manual ou automática do sangue total no momento da colheita nos parâmetros de qualidade dos concentrados plaquetários (33), verificou que não existiam diferenças na contagem de plaquetas, leucócitos residuais e pH, utilizando os dois métodos de agitação.

### 2.6.3 Armazenamento pré processamento

Cada componente requer uma temperatura ótima de armazenamento, sendo também importante a temperatura de acondicionamento antes da preparação do mesmo. Assim, para a preparação de plaquetas, o ST deve ser transportado e armazenado entre 20-24°C, recorrendo se possível ao uso de placas de 1,4-butanodiol (que permitem baixar a temperatura do ST) e malas de transporte próprias para o efeito (3,6,34).

São necessárias duas horas para que o sangue total atinja a temperatura de 20°C. Contudo os tempos de repouso para o arrefecimento são ajustados para facilitar a logística operacional dos Serviços de Sangue. Se não forem preparadas plaquetas, a unidade de ST pode ser armazenada entre 1-6°C até ser processada; o plasma, idealmente, deve ser separado dos eritrócitos até oito horas após colheita de modo a prevenir perdas de viabilidade biológica de alguns fatores de coagulação (6).

As dádivas de ST destinadas para o processamento de plaquetas não devem atingir uma temperatura inferior a 20°C.

Diferenças na contagem de plaquetas do sangue total colhido podem ser observadas no final de todo o tempo de repouso/retenção do sangue total, mesmo antes da produção dos concentrados plaquetários. Foi demonstrado que em amostras de sangue total processadas entre quatro a oito horas após a colheita, que as contagens de plaquetas no sangue total eram cerca de 10% a 20% menor do que nas unidades de ST processadas após 8 horas e até 24 horas após a colheita (34).

Num estudo internacional (35), sobre os efeitos do tempo de armazenamento de sangue total ou BCs na qualidade *in vitro* de concentrados plaquetários, no qual participaram vários serviços de sangue, verificou-se que a contagem de plaquetas era menor nas unidades de ST processadas entre duas a oito horas, bem como CP preparados entre duas a oito horas (considerados no estudo como fresco/fresco) apresentavam contagem de plaquetas menores devido ao curto período de tempo de repouso do ST. Verificou-se que nos concentrados plaquetários processados entre duas a oito horas, a maioria apresentava a uma contagem de PLT estava baixo do limite inferior de aceitação ( $< 60 \times 10^9/U$  de CP de acordo com as diretivas europeias e  $< 55 \times 10^9/ U$  de CP de acordo com diretrizes dos EUA e Canadá).

O curto tempo de descanso após a colheita de ST poderá levar ao aparecimento de agregados plaquetários, o que influenciará na contagem de plaquetas no CP final, como também na sua qualidade (36).

As alterações que ocorrem durante o armazenamento estão descritas na literatura, contudo as alterações que ocorrem nos componentes sanguíneos durante o tempo de espera até o processamento ainda não estão bem documentadas.

#### **2.6.4 Centrifugação**

Os métodos atuais de separação e preparação dos principais componentes sanguíneos dependem de uma ou mais etapas de centrifugação (6).

As principais variáveis suscetíveis de afetar a separação dos componentes sanguíneos a partir do sangue total são: tamanho do rotor, velocidade da centrífuga e duração do processo de centrifugação e protocolo de aceleração / desaceleração. Os artigos publicados geralmente referem-se à força centrífuga relativa (força g) que deriva do raio do rotor da centrífuga e das suas rotações (22).

Para uma determinada centrífuga, o tamanho do rotor geralmente não é variável. Portanto, as outras duas variáveis (velocidade e duração da centrifugação) podem ser alteradas passo a passo através de uma estratégia simples para determinar as condições ideais para a preparação do PRP (37).

Esta estratégia também pode ser usada para identificar as condições ideais de centrifugação para obtenção concentrado de plaquetas, quando os dados do controle de qualidade (CQ) mostram que a contagem de plaquetas nos CP não é satisfatória.

#### **2.6.5 Método de separação/processamento, filtração e desleucocitação**

O método de separação manual ou automático pode influenciar os concentrados plaquetários devido à velocidade de separação dos componentes. A temperatura na qual as plaquetas são preparadas pode levar ao aparecimento de agregados plaquetários; as plaquetas preparadas a 24°C parecem mostrar menor quantidade de aglomerados em comparação com as preparadas a menos de 24°C.

A exposição a baixa temperatura, diferentes métodos de preparação, as interações plaqueta-recipientes, podem levar à formação de agregados plaquetários, uma vez poderá existir ativação plaquetária.

Ocorre perda de plaquetas durante o processamento, sobretudo durante a desleucocitação dos CP. As contagens plaquetárias são menores na desleucocitação pré-armazenamento (DPA), devido à perda de  $10 \pm 3\%$  de plaquetas, sobretudo das plaquetas de maior tamanho (10,27).

A presença de leucócitos tem um impacto negativo nas condições de armazenamento de plaquetas, uma vez que aumenta o consumo de glicose e produção de lactato, o que tem como consequência a diminuição do pH, sendo um objetivo do processo de desleucocitação (30).

#### **2.6.6 Ressuspensão e condições de armazenamento dos Concentrados Plaquetários**

A ressuspensão de plaquetas pode influenciar a agregação plaquetária nos CP derivados de sangue total. Os agregados plaquetários podem dissipar-se durante os períodos de descanso e de agitação.

Contudo, em alguns casos, os agregados não se dissipam em 24 horas após a colheita e podem persistir por mais tempo, mesmo durante o período de armazenamento.

Assim, após a obtenção do CP e antes do início da agitação, as plaquetas devem permanecer em repouso durante pelo menos uma hora, com o rótulo de identificação da dádiva voltado para baixo, devendo ser armazenados entre 20-24°C em agitação contínua, o que permite a ressuspensão das plaquetas. A ressuspensão manual das plaquetas poderá levar à sua agregação irreversível (36).

A agitação suave contínua dos concentrados plaquetários facilita as trocas gasosas através das paredes dos sacos de armazenamento, concebidos com uma porosidade seletiva.

No que diz respeito à temperatura, um estudo demonstrou que temperaturas inferiores a 15°C, causavam alterações morfológicas nas plaquetas e consequentemente diminuição do tempo de sobrevivência (30).

O material utilizado nos sacos de armazenamento também pode influenciar a qualidade das plaquetas, uma vez que deve permitir as trocas gasosas com o ambiente, permitindo que o pH não diminua, afetando morfológicamente as plaquetas. A capacidade das plaquetas transfundidas de circular e funcionar é dependente tanto do efeito das lesões de armazenamento ex-vivo que prejudica a funcionalidade das plaquetas e o *status* do ambiente in vivo do indivíduo transfundido (36,38,39,40).

O armazenamento de plaquetas foi encontrado para ser associado a níveis mais elevados de ativação plaquetária, sendo que 10% das plaquetas ativadas deve-se ao método de preparação utilizado e cerca de 30% com o armazenamento posterior.

### 3. Requisitos de qualidade e segurança dos Concentrados Plaquetários

---

De acordo com Guia para a preparação, uso e garantia de qualidade dos componentes do sangue do Conselho da Europa e do Decreto-Lei 267/2007 de 24 de julho alterado pelo Decreto – Lei 185/15 de 2 de setembro, no controlo de qualidade dos concentrados plaquetários devem ser avaliados os seguintes critérios: volume, *swirling* ou turbilhonamento, presença/ausência de agregados plaquetários, contagem de plaquetas, contagem de leucócitos residuais, determinação do pH e controlo microbiológico (tabela 3.1). Estes parâmetros diferem de acordo com os métodos de preparação e dos componentes finais obtidos.

Deste modo os concentrados de plaquetas standard, obtido através de uma unidade de sangue total, contém a maioria das plaquetas do sangue total, suspensas no plasma. Os concentrados plaquetários obtidos pelo Método PRP devem conter uma contagem total de plaquetas  $\geq 60 \times 10^9$  / Unidade de concentrado.

Devem ser testadas 1% das unidades colhidas mensalmente ou no mínimo 10 unidades/mês.

O Decreto-Lei n.º 185 de 2015 de 2 de setembro define os requisitos de qualidade para o sangue e componentes sanguíneos, relativamente ao controlo de qualidade a realizar aos componentes sanguíneos obtidos de acordo com os vários métodos de produção.

Tabela 3.1 Parâmetros a avaliar no controlo de qualidade do CP de acordo o DL185/2015, de 2 de setembro (1) Guia para a preparação, uso e garantia de qualidade dos componentes do sangue do Conselho da Europa

Parâmetro	Requisito de qualidade
Volume	40-60 mL
Contagem de plaquetas	$\geq 60 \times 10^9$ / unidade em 90% das U de CP testadas
Leucócitos Residuais	$< 1 \times 10^6$ / unidade
pH	$> 6.4$ (mínimo corrigido para 22°C, no fim de período de armazenamento)
Controlo bacteriológico (aerobioses e anaerobioses)	Negativo

## 4. Objetivos e hipótese do estudo

---

A eficácia da transfusão de concentrados plaquetários (rendimento transfusional) depende de vários fatores, sendo o principal o número de plaquetas existentes em cada concentrado plaquetário transfundido. Contudo existem muitos outros fatores que influenciam a contagem de plaquetas no CP final.

### 4.1 Questão de Investigação

Quais os fatores que influenciam a contagem de plaquetas nos CP obtidos pelo método PRP?

### 4.2 Objetivo geral

Identificar os fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas nos Concentrados Plaquetários obtidos pelo método PRP, tendo em consideração os parâmetros recomendados para este componente sanguíneo ( $60 \times 10^9$ /unidade de CP), de acordo com o Guia para a preparação, uso e garantia de qualidade dos componentes do sangue do Conselho da Europa (3).

### 4.3 Objetivos específicos

- Avaliar a relação entre as contagens primárias de plaquetas no dador e a contagem secundária de plaquetas nas unidades de Concentrado Plaquetário obtidos, através do hemograma;
- Avaliar a contagem de plaquetas nos Concentrados Eritrocitários e Plasma Pobre em Plaquetas ao longo do processo de separação de componentes, através do hemograma, por forma a verificar o processamento.

### 4.4 Hipótese do estudo

- a) O número de plaquetas final do concentrado plaquetário é inferior ou igual a  $60 \times 10^9/L$ , em dadores com contagens de plaquetas iniciais inferiores a  $200 \times 10^9/L$ .

# 5. Metodologia

---

## 5.1 Desenho, método e local do estudo

Foi realizado um estudo observacional descritivo numa população de dadores benévolos de sangue selecionados para colheita de concentrados plaquetários, bem como os componentes sanguíneos resultantes dessas dádivas, nomeadamente concentrados plaquetários, concentrados eritrocitários e plasma pobre em plaquetas. O estudo foi realizado no Serviço de Sangue e Medicina Transfusional (SSMT) do Hospital Dr. Nélio Mendonça - SESARAM - Funchal, no período compreendido entre janeiro e abril de 2021 na dependência das condições logísticas para a sua realização, Durante o processo de seleção dos dadores foi entregue um consentimento informado aos participantes aptos para a dádiva de plaquetas, bem como um folheto informativo a explicar os objetivos do estudo e a sua importância (Apêndice 1, 2).

## 5.2 População/Amostragem e critérios de seleção

A população do estudo foi constituída por todos os dadores que se dirigiram ao Serviço de Sangue e Medicina Transfusional do Hospital Dr. Nélio Mendonça-SESARAM, E. P.E- Funchal que realizaram a dádiva de sangue no período de janeiro a abril de 2021.

A amostragem real foi não probabilística, submetendo-se aos critérios de elegibilidade:

- Critérios de inclusão: Todas as dádivas aptas para obtenção de concentrado plaquetário, de acordo com os critérios de seleção de dadores de sangue e aptos para obtenção de concentrado plaquetário.
- Critérios de exclusão: Todas as dádivas com baixo volume (inferior a 300 mL), bem como todas as colheitas com duração superior a 12 minutos.

No presente estudo participaram 142 dadores, os quais reuniram os requisitos supracitados.

### 5.3 Recolha de amostras

**Colheita de Sangue total (dádiva sanguínea):** O sangue total foi colhido para um sistema de sacos quádruplos- sistema Compoflow com filtros duplos “*in line*” RCC e PLT da FRESENIUS KABI®, o qual contém 63 mL de anticoagulante (Solução de Glicose, Fosfato e Citrato - CPD) e 100 mL de conservante de solução salina, adenina, glicose e manitol (SAGM). Foi colhido um volume de ST de 450mL+/-10% (Anexo 1).

**Amostra dos dadores selecionados** - a recolha da amostra do dador foi realizada no ato da dádiva de sangue, utilizando um tubo com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), no qual foram recolhidos 3 ml de ST, para determinação do hemograma.

**Amostras dos Concentrados Plaquetários, Concentrados Eritrocitários e no Plasma Pobre em Plaquetas** – foram colhidos 3 ml em tubos com EDTA, também para a determinação do hemograma.

Todas as amostras para realização do hemograma foram enviadas posteriormente para o laboratório de hematologia do Serviço de Patologia Clínica Hospital Dr. Nélio Mendonça, Funchal - SESARAM, EPERAMI, as quais foram processadas no analisador hematológico Midray® BC-6800, que utiliza a metodologia de difração de laser combinada com coloração química, citometria de fluxo.

## 5.4 Etapas do estudo

O presente estudo foi desenvolvido em seis etapas, nomeadamente:

- **Etapa 1 - Seleção do dador de sangue e entrega do consentimento informado do estudo**

Os dadores foram seleccionados de acordo com os critérios de elegibilidade de dadores de sangue, bem como a toma de fármacos que possam afetar a função plaquetária, como por exemplo a aspirina, anti-agregantes plaquetários e anti-inflamatórios. Após o esclarecimento sobre o estudo foi entregue aos dadores o consentimento informado.

- **Etapa 2 - Colheita do sangue total e recolha de amostra do dador**

O sangue total foi colhido  $450 \text{ mL} \pm 10\%$  para um sistema de sacos quádruplos- sistema Compoflow com filtros duplos “*in line*” RCC e PLT da Fresenius Kabi®, os quais foram colocados numa balança agitadora – Compoguard Seal da Fresenius Kabi®, por forma a homogeneizar o ST com o anticoagulante (Figura 5.1).



Figura 5.1 Sistema Composampling, balança agitadora e sacos de colheita utilizados na dádiva sanguínea.

No início da colheita de ST colheram-se as amostras para a realização de análises aos dadores, bem como a amostra para realização de hemograma, utilizando o sistema de *composampling* (Figura 5.1), acoplado ao sistema de colheita. Nesta fase foi registado o tempo de colheita do ST através da informação disponibilizada na balança agitadora (Figura 5.1).

- **Etapa 3 - Repouso e arrefecimento do ST**

Após a colheita do ST, os sistemas foram colocados dentro de caixas térmicas Compocool WB da Fresenius Kaki®, as quais possuem placas de butanodiol, que permitem a refrigeração de 6 unidades de ST, com um conteúdo de 400 a 500 mL de sangue, de 34°C a 22± 2°C dentro de duas a três horas. Foi registado o tempo de repouso das unidades de ST dentro das caixas térmicas até ao início do processamento (Figura 5.2).



Figura 5.2 Malas térmicas Compocool

- **Etapa 4 – Processamento do ST**

As unidades de ST foram processadas e fracionadas de acordo com o Método PRP.

- **1ª Centrifugação (centrifugação leve)** - Foram utilizadas centrifugas refrigerada Heraeus Cryofuge 6000i®, com uma rotação baixa (1650 rotações por minuto - rpm) durante nove minutos a uma temperatura de 20°C, sendo que no total desde o início da centrifugação até ao final são utilizados 20 minutos (tendo em conta a aceleração de sete e desaceleração de quatro, utilizados no programa da primeira centrifugação).
- **Separação do ST em componentes sanguíneos** - Após a centrifugação o ST foi separado com o extrator automático Compomat G5 da Fresenius Kaki®, obtendo-se um CE e um PRP, sendo este desleucitado no processo da separação. No que diz respeito ao CE obtido, a este componente é adicionado o SAGM, sendo posteriormente desleucitado e calculado o seu volume de acordo com o peso da unidade e densidade do CE (Figura 5.3).



Figura 5.3 Fases do processo de extração semiautomática do ST em CE e PRP

- **Repouso do PRP** - As unidades de PRP obtidas ficam em repouso durante pelo menos trinta minutos antes da 2ª centrifugação (centrifugação mais pesada). Nesta fase é registado o tempo do PRP permaneceu em repouso.
- **2ª Centrifugação (centrifugação pesada)** – No fracionamento do PRP, utilizou-se o mesmo equipamento, com uma rotação pesada (3500rpm) durante 15 minutos a uma temperatura de 20°C, sendo que no total desde o início até ao final da centrifugação decorre 30 minutos (tendo em conta a aceleração de sete e desaceleração de quatro).
- **Separação do PRP em CP e PPP** - Após a centrifugação o PRP submetido ao mesmo extrator automático, resulta em dois componentes CP (Figura 5.4) e PPP. Todas as unidades de CP ficam em repouso durante duas horas, com rótulo virado para baixo, por forma a ressuspender as plaquetas.



Figura 5.4 Concentrados plaquetários obtidos após a separação do PRP

- **Etapa 5 – Recolha de amostras de CE, PPP e CP**

As amostras de CE e de PPP para tubo de EDTA foram obtidas no próprio dia da dádiva, logo após o seu processamento, as amostras de CP em tubo de EDTA após  $\pm 24$  horas de armazenamento, em agitação contínua e temperatura de 20-24°C.

Todas as amostras foram processadas de acordo com os procedimentos de recolha de amostras para controlo de qualidade do serviço (Figuras 5.5 e 5.6) (Anexo 2).



Figura 5.5 Material utilizado na recolha de amostras para controlo de qualidade

- **Etapa 6 - Registo das variáveis, resultados e avaliação da contagem de plaquetas no CP**

No que concerne aos parâmetros relativos aos dadores, recorreu-se ao consentimento informado, bem como o sistema de informação do SSMT – SIGI®. Todos os resultados dos hemogramas foram consultados no sistema informático do Laboratório de Patologia Clínica – MODULAB (WERFEN®).

A eficácia da transfusão de concentrados plaquetários (rendimento transfusional) depende de vários fatores, sendo o principal o número de plaquetas existentes em cada concentrado plaquetário transfundido.

A contagem de plaquetas nos concentrados plaquetários constitui assim um dos parâmetros fundamentais da avaliação do controlo de qualidade destes componentes sanguíneos. Para determinar o número de plaquetas por unidade de CP utilizou-se a seguinte formula:

$$\underline{\underline{\text{N}^\circ \text{ de Plaquetas} \times 10^9 / \text{unidade de CP} = (\text{Volume (ml)} \times \text{N}^\circ \text{ plaquetas} \text{ (EDTA)} \times 10^9 / \text{L}) / 1000}}$$

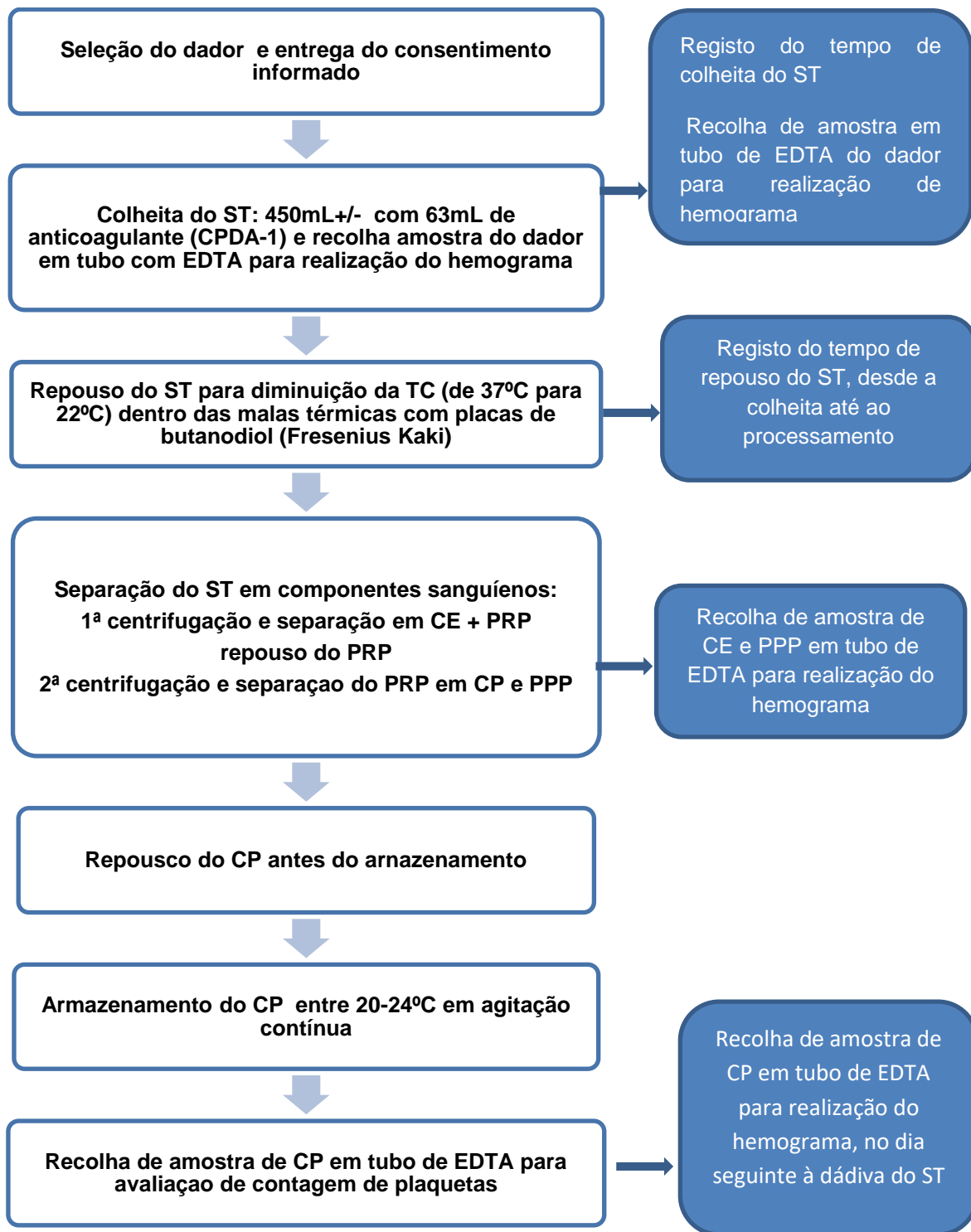


Figura 5.6 Etapas do estudo relativamente à recolha das amostras

## 5.5 Variáveis do estudo

Os fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas no CP que foram alvo do estudo, bem como as variáveis associadas são apresentadas tabela 5.1.

Tabela 5.1 Variáveis consideradas no estudo

	Variáveis independentes	Variáveis dependentes
Dador de sangue - número de plaquetas	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Idade do dador: variável quantitativa discreta;</li> <li>▪ Sexo do dador: variável qualitativa nominal;</li> <li>▪ Grupo sanguíneo: variável qualitativa nominal;</li> <li>▪ Contagem inicial de plaquetas do dador: variável quantitativa discreta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Número de plaquetas final no CP: variável quantitativa discreta.</li> <li>▪ Número de plaquetas no CE: variável quantitativa discreta.</li> <li>▪ Número de plaquetas no PPP: variável quantitativa discreta</li> </ul>
Condições da colheita da unidade de sangue total	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tempo de colheita de sangue total: variável quantitativa contínua (minutos e segundos).</li> </ul>	
Armazenamento pré processamento	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tempo de repouso do sangue total até atingir os 20°C: variável quantitativa contínua (horas e minutos)</li> </ul>	
Repouso do PRP antes do processamento	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tempo de repouso do PRP: variável quantitativa discreta (minutos)</li> </ul>	
Ressuspensão e condições de armazenamento dos CP	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tempo de repouso do CP antes de ser armazenado: variável quantitativa discreta (minutos)</li> </ul>	
Volumes	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Volume do CE: variável quantitativa discreta</li> <li>▪ Volume do CP: variável quantitativa discreta</li> <li>▪ Volume do PPP: variável quantitativa discreta</li> </ul>	

Todos os dados relativos às variáveis em estudo foram registados em modelo próprio e criado para o estudo (Apêndice 3).

## 5.6 Análise estatística

Face ao enquadramento das variáveis (tabela 5.1), recorreu-se a dois tipos de análise estatística, designadamente, univariada e bivariada (41).

No que diz respeito à análise univariada, utilizou-se a estatística descritiva para descrever os fenómenos e testar a hipótese de trabalho apoiada nas seguintes medidas: média, mediana; medidas de dispersão (amplitude de dados, valor mínimo e máximo, desvio padrão e variância).

A representação das variáveis nominais expressou-se em gráficos circulares e de barras.

Na análise bivariada utilizaram-se testes de hipóteses paramétricos (P) e não paramétricos (NP), considerando o intervalo de confiança de 95% e o nível de significância de 5%.

Para as variáveis contínuas, utilizou-se o teste de Kolmogorov-Sminov (N=142), no qual se verificou a não normalidade dos dados, pelo que a comparação das variáveis foi feita pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney sendo as variáveis contínuas apresentadas pela sua mediana (Q1 – Q3).

Para amostra independentes e com distribuição normal, utilizou-se o teste de T-Student, por forma a verificar a hipótese entre as médias das variáveis.

O Teste exato de Fisher, sendo um teste de significância estatística, foi utilizado nas análises da tabela de contingência, utilizado para as medidas de associação. O teste V de Cramer (Figura 5.7), foi o teste utilizado para verificar a intensidade das relações entre variáveis (42).

Phi and Cramer's V	Interpretation
> 0.25	Very strong
> 0.15	Strong
> 0.10	Moderate
> 0.05	Weak
> 0	No or very weak

Figura 5.7 Interpretação das medidas de associação V de Cramer, (42)

Utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman para medirmos a possível associação entre as variáveis contínuas. As correlações estudadas pelo coeficiente de Spearman ( $r's$ ) apresentam os valores da figura 5.8 (42).

Interpretation of the Pearson's and Spearman's correlation coefficients.

Correlation Coefficient		Dancey & Reidy (Psychology)	Quinnipiac University (Politics)	Chan YH (Medicine)
+1	-1	Perfect	Perfect	Perfect
+0.9	-0.9	Strong	Very Strong	Very Strong
+0.8	-0.8	Strong	Very Strong	Very Strong
+0.7	-0.7	Strong	Very Strong	Moderate
+0.6	-0.6	Moderate	Strong	Moderate
+0.5	-0.5	Moderate	Strong	Fair
+0.4	-0.4	Moderate	Strong	Fair
+0.3	-0.3	Weak	Moderate	Fair
+0.2	-0.2	Weak	Weak	Poor
+0.1	-0.1	Weak	Negligible	Poor
0	0	Zero	None	None

Figura 5.8 Interpretação, do coeficiente de Pearson's e Spearman's (42)

Os dados obtidos foram registados em tabelas EXCEL® e interpretados no programa SPS® Versão 25.

## 5.7 Ética

Este trabalho foi aprovado no Conselho de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde com a referência interna CE-ESTeSL-N. °32-2020 (Apêndice 4) e também pelo Conselho de Ética para a Saúde e da Comissão Científica e de Investigação do Serviço de Saúde da Região Autónoma da Madeira, EPERAM (Apêndice 5).

Sendo um projeto em que foram utilizadas amostras biológicas de indivíduos para fins estritamente investigacionais, existiu o compromisso de ter em consideração o direito à confidencialidade e anonimato dos participantes garantindo os princípios de ética de acordo com a Declaração de Helsínquia e Convenção de Oviedo (43) e em acordo com a Lei Portuguesa nº58/2019 de 8 de agosto (44) sobre a proteção de dados, mediante leitura e assinatura de um consentimento informado (Apêndice 1).

Todas as amostras recolhidas foram identificadas com um número/código previamente estabelecido, não existindo qualquer outra informação sobre o indivíduo.

## 6. Resultados

### 6.1 Caracterização dos dadores do estudo

Da análise descritiva da amostra de dadores de sangue do presente estudo, verificou-se que 106 dadores pertencem ao sexo masculino. No estudo participaram 36 dadores do sexo feminino (Figura 5.9).

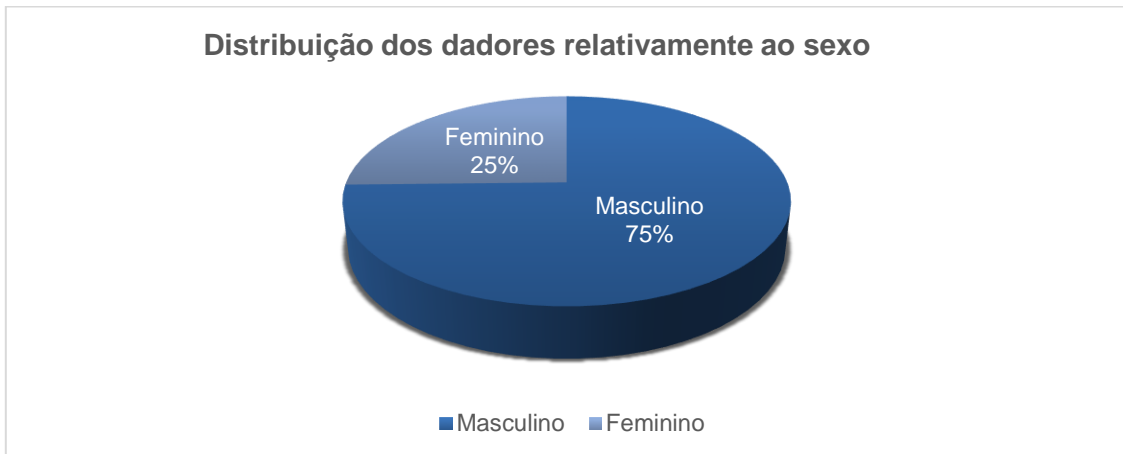


Figura 5.9 Distribuição dos dadores consoante o sexo

Relativamente à distribuição dos dadores consoante a faixa etária (Figura 5.10), 82 dadores pertencem à faixa etária dos 45-65 anos, 53 dadores possuem idade entre a faixa etária dos 25 aos 44 anos. Apenas 7 dadores possuem idade entre os 18 e 24 anos. Da análise da informação relativa à idade, verificou-se que a idade mínima foi de 20 anos e a máxima de 63 anos.

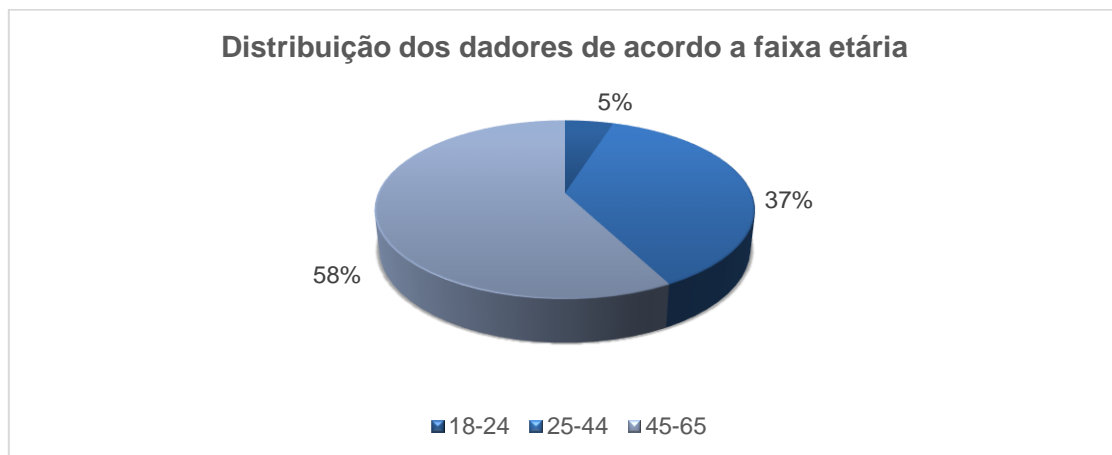


Figura 5.10 Distribuição dos dadores de acordo a faixa etária

Analisando a figura 5.11, 66 dadores do sexo masculino pertencem à faixa dos 45-65 anos (a maior percentagem), seguindo-se a faixa etária dos 24-44 para 36 participantes. Apenas 4 dadores do sexo masculino possuem idade compreendida entre os 18-24 anos. Em 17 dadores do sexo feminino a faixa etária com maior percentagem é a dos 25-44 anos, seguindo-se a faixa etária de 45-65 anos em 16 e 3 dadoras na faixa etária dos 18-24 anos.

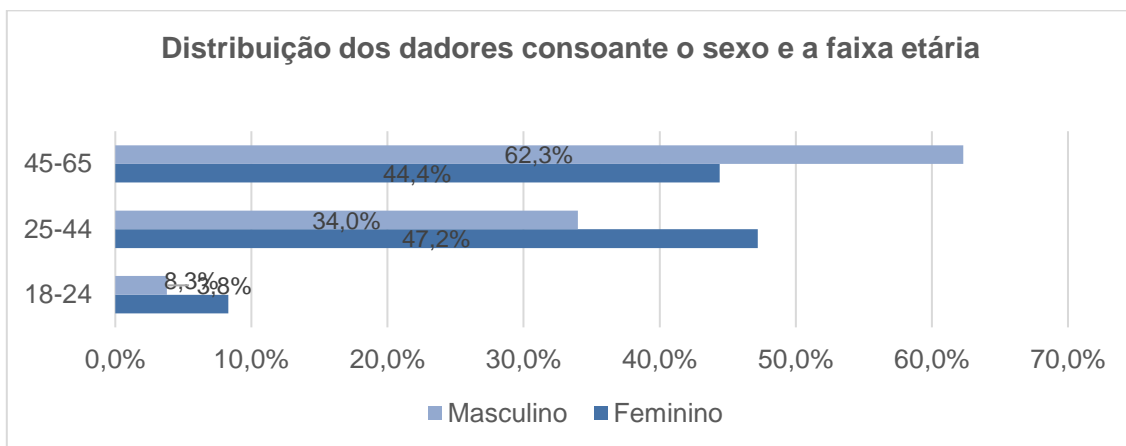


Figura 5.11 Distribuição dos dadores consoante o sexo e a faixa etária

No que concerne aos grupos sanguíneos dos dadores nos sistemas ABO e Rh (D) a amostra estudada revelou os fenótipos: A Rh (-), A Rh (+), 0 Rh (+) e 0 Rh (-), tendo em conta a distribuição dos grupos da população portuguesa e a necessidade transfusional (45-48). Quando à distribuição dos grupos e de acordo com o gráfico 6.4, 59 dadores expressam o fenótipo do A Rh (+), 58 dadores o fenótipo 0 Rh (+). Relativamente ao grupo sanguíneo A Rh (-), apenas 15 dadores expressam este fenótipo, sendo que 10 dadores possuem o grupo sanguíneo 0 Rh (-)

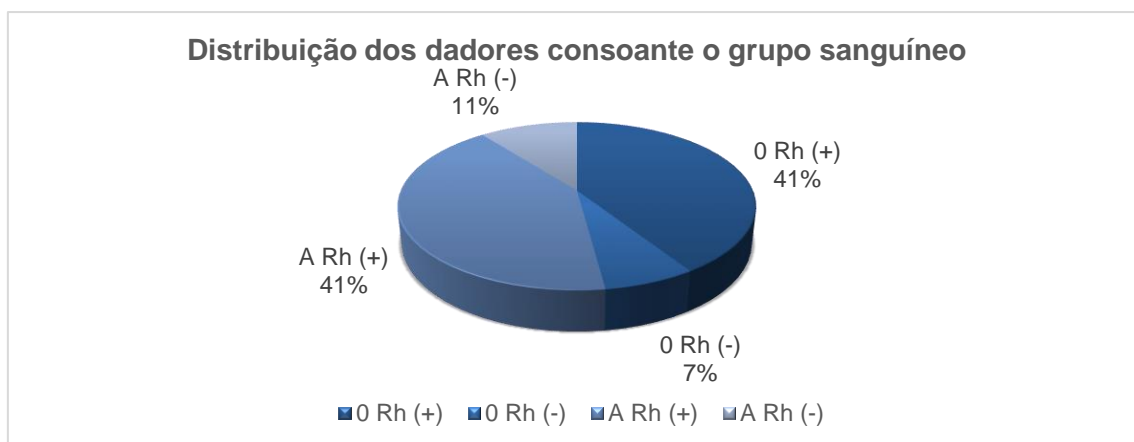


Figura 5.12 Distribuição dos dadores consoante o grupo sanguíneo

Através de uma análise mais detalhada da figura 5.13, verificou-se que nos doadores do sexo feminino, 14 eram do grupo sanguíneo A Rh (+) e 0 Rh (+), 5 eram do grupo 0 Rh (-) e 3 do grupo sanguíneo A Rh (-). Quanto aos doadores do sexo masculino, 45 eram do grupo A Rh (+), 44 do grupo 0 Rh (+), 12 pertencem ao grupo A Rh (-) e 5 do grupo 0 Rh (-).

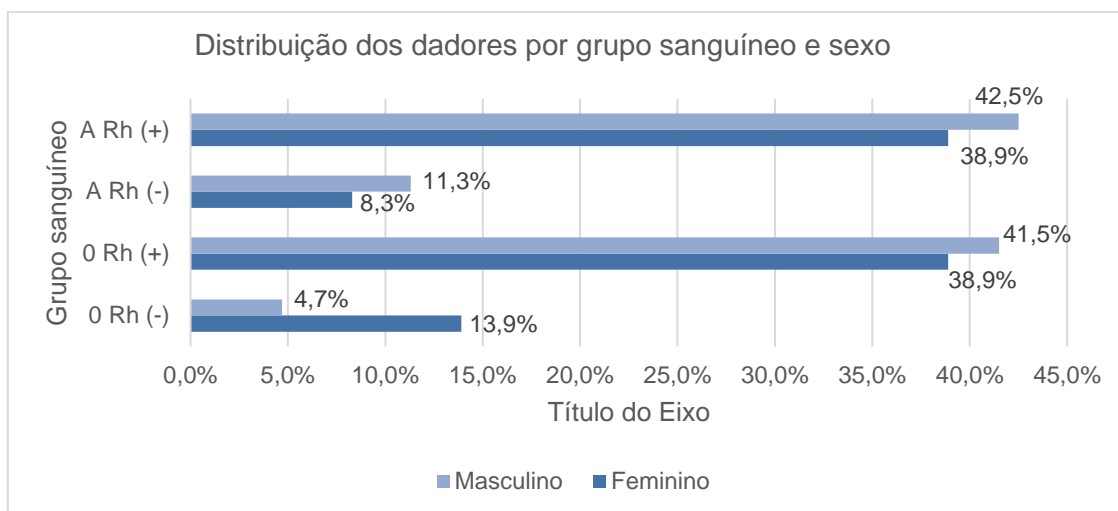


Figura 5.13 Distribuição dos doadores por grupo sanguíneo e sexo

## 6.2 Caracterização dos volumes dos componentes sanguíneos

Das 142 dádivas processadas, foram produzidas 142 unidades de CE, 142 unidades de CP e 142 unidades de PPP, as quais se verificou volume, tendo em conta o peso e densidade de cada componente.

A análise da tabela 6.1, relativamente aos volumes dos componentes sanguíneos, revelou que as unidades possuem um volume médio de CE de 325,9 mL, de CP de 57,1mL e PPP de 171mL. O volume das unidades de CP deve estar compreendido entre 40-60mL e os volumes de CE obtido pelo método PRP dever estar entre 300-400 ml.

Tabela 6.1 Volume dos componentes sanguíneos obtidos do ST

Componentes sanguíneos	Média ± Desvio padrão
CE	325,9 ± 23.8
CP	57,1 ± 1.5
PPP	171 ± 28.4

### 6.3 Caraterização do tempo de colheita do ST, tempo de repouso do ST e tempo de repouso do PRP

O tempo máximo de colheita do ST para processamento deverá ser especificado e controlado, pelos profissionais que realizam a colheita. Se a duração da colheita ultrapassar os 12 minutos, não deverá ser utilizada para a preparação de CP. Pela análise da tabela 6.2 verificou-se que o tempo médio de colheita do ST foi de cerca de 5 minutos e 80 segundos.

Analisando os tempos de colheita, o tempo mínimo foi cerca de 3 minutos e 46 segundos e o tempo máximo foi de cerca de 12 minutos.

Relativamente ao tempo de repouso/arrefecimento do ST antes do processamento (tempo contabilizado entre pós dádiva até ao processamento) verificou-se que o tempo médio foi de 2 horas, dentro das malas térmicas com as placas de butanodiol.

De acordo com a gestão do laboratório de separação de componentes do SSMT, verificou-se que 31,6% (N=45) das unidades de ST tiveram um tempo de repouso inferior a 2 horas e 68,3% (N=97) das unidades de ST repousaram mais de 2 horas.

No que concerne ao tempo de repouso do PRP antes do processamento, verificou-se que o valor mediano foi de 49,2 minutos, antes da 2ª centrifugação, de modo a obter o CP e PPP.

Tabela 6.2 Caraterização dos tempos em análise do estudo

<b>Tempos</b>	<b>Média ± Desvio padrão</b>
Tempo de colheita do ST (minutos, segundos)	5,80 ± 1,6
Tempo de repouso/arrefecimento do ST após a dádiva (horas, minutos)	2,00 ± 0,40
Tempo de repouso do PRP antes da 2ª centrifugação (minutos)	49,2 ± 17,7

## 6.4 Contagem do número de plaquetas no dador e nos componentes sanguíneos

Nos dadores aptos para a dádiva de sangue, o número de plaquetas por concentrado plaquetário depende do número de plaquetas do dador e sendo a variável N.º de plaquetas no dador uma das variáveis em estudo, pela análise da tabela 6.3 constatou-se que a amostra de dadores tem um valor médio de contagem de plaquetas de  $233,5 \times 10^9/L$ .

Nos CP preparados obteve-se uma contagem final de plaquetas por unidade de  $60,8 \times 10^9$ . No componente sanguíneo PPP verificou-se um valor de contagem plaquetária de  $7,7 \times 10^3/uL$ .

Tabela 6.3 Contagem de plaquetas no dador e nos componentes sanguíneos obtidos

Contagem de plaquetas	Média ± Desvio padrão
N.º de PLT ( $10^9/L$ ) no dador (valor inicial)	$233,5 \pm 50,4$
N.º de PLT ( $10^3/uL$ ) no CE	$0,4 \pm 0,9$
N.º de PLT ( $10^3/uL$ ) no PPP	$7,7 \pm 4,8$
N.º de PLT ( $10^3/uL$ ) no CP	$1064,5 \pm 333,7$
N.º de PLT ( $10^9/L$ ) por unidade de CP	$60,8 \pm 19$

## 6.5 Dadores e contagem de plaquetas iniciais

Após análise dos resultados dos hemogramas dos dadores (Figura 5.14), verificou-se que 102 dos dadores tinham uma contagem inicial de plaquetas superior a  $200 \times 10^9/L$  e 39 apresentavam uma contagem de PLT  $\leq$  a  $200 \times 10^9/L$ . Na análise estatística não foi contabilizado um dador, uma vez que o hemograma não foi realizado, por motivos alheios ao investigador.

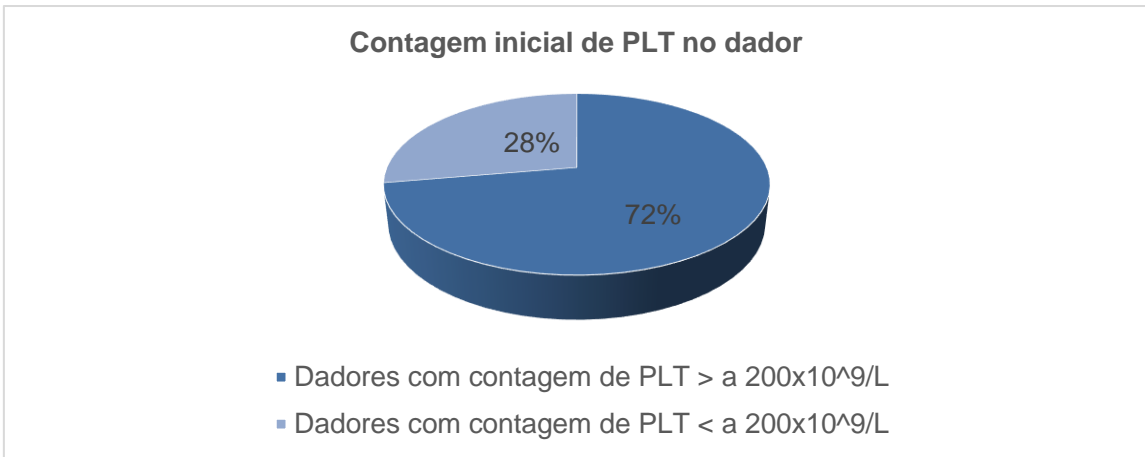


Figura 5.14 Contagem de plaquetas no dador

## 6.6 Contagem de plaquetas por unidade de CP

A contagem de plaquetas nos concentrados plaquetários constitui, um dos parâmetros fundamentais da avaliação do controlo de qualidade destes componentes sanguíneos. Após recorrer à fórmula, referida anteriormente, e através da figura 5.15, verificou-se que 75 das unidades de CP continham valores superiores a  $60 \times 10^9$ /unidade de CP e 67 obtiveram uma contagem final de PLT inferior ou igual a  $60 \times 10^9$ /unidade de CP.

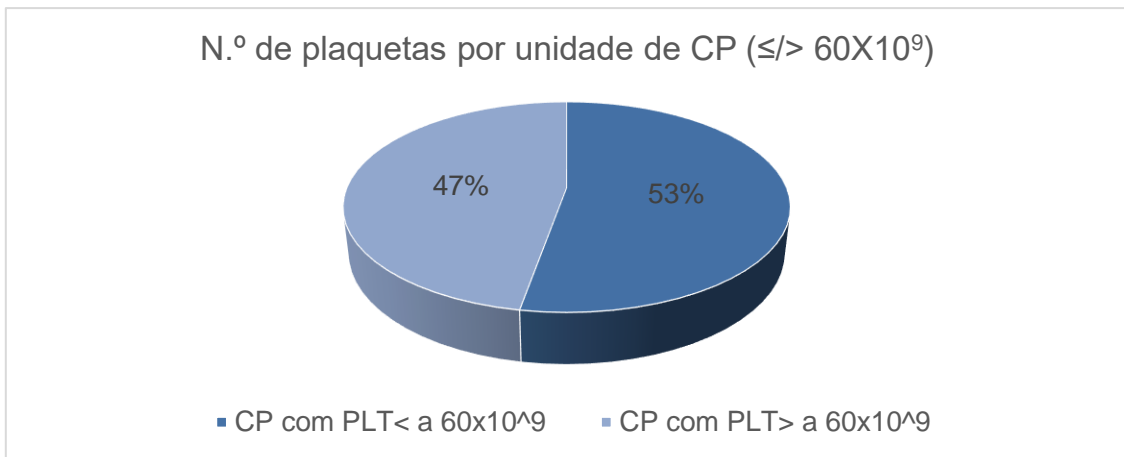


Figura 5.15 Distribuição dos CP de acordo com a contagem de plaquetas

## 6.7 Tempo de repouso do Sangue total e contagem de plaquetas por unidade de CP

A Tabela 6.4 demonstra que a média da contagem de plaquetas nos concentrados plaquetários foi de 60.07, quando o sangue total ficava em repouso menos de duas horas. No tempo de repouso superior a duas horas a contagem de plaquetas foi de 61,07 x 10<sup>9</sup>/U de CP.

Tabela 6.4 Contagem de plaquetas por unidade de CP de acordo com o tempo de repouso do ST

	Tempo repouso ST	N	Média ± Desvio padrão (x10 <sup>9</sup> /U de CP)
Número de PLT por Unidade de CP	< 2H	45	60,07 ± 18,51
	> 2 H	97	61,07 ± 19,24

## 6.8 Eficácia do método

De acordo com a literatura, a contagem plaquetária no PRP deverá ser três a cinco vezes maior que na contagem inicial, permitindo deste modo avaliar a eficácia do protocolo de separação dos componentes sanguíneos através do Método de PRP (12). Apesar de não ter sido determinado o valor de plaquetas no PRP através do hemograma, recorreu-se aos resultados do hemograma das unidades de CP em estudo. Através do valor mediano do número de PLTx10<sup>3</sup>/uL no dador e o valor mediano de PLTx10<sup>3</sup>/uL obtido no hemograma no CP, realizou-se a seguinte equação:

Eficácia do método= valor mediano de N.<sup>o</sup> de PLT (10<sup>3</sup>/ul) / valor mediano de N.<sup>o</sup> de PLT (10<sup>3</sup>/ul) no dador

Eficácia do método= 1026.5 x 10<sup>3</sup>/ul / 230 x 10<sup>3</sup>/ul = 4.46

Tendo em consideração o valor obtido na eficácia do método, podemos o SSMT pode manter este método na produção de componentes sanguíneos, tendo em conta a limitação na aplicação da fórmula, um vez que não foi possível determinar as plaquetas no PRP, devido às limitações do processo.

## 6.9 Análise dicotômica das variáveis

O conhecimento/identificação de relações entre variáveis é uma mais-valia na compreensão do fenómeno em estudo. Existe uma relação entre duas variáveis quando a distribuição dos valores de uma variável está associada com a distribuição dos valores da outra variável.

Por forma a identificar se existe ou não relação entre algumas variáveis do estudo realizaram-se as seguintes associações.

### 6.9.1 Sexo dos dadores com n.º de plaquetas

De acordo com os dados da tabela 6.5, não se rejeita a igualdade de variâncias de ambas as distribuições ( $p=0.694$ ) logo face ao exposto é o teste T- Student para duas amostras ( $H_0$ : o sexo feminino tem n.º de plaquetas igual ao sexo masculino;  $H_1$ : o sexo feminino tem n.º de plaquetas diferentes do sexo masculino)

A hipótese nula é rejeitada, uma vez que o valor  $p=0.023$  ( $p<0.05$ ), logo existe evidência de uma diferença estatisticamente significativa entre as contagens médias de plaquetas no sexo feminino. Desta forma podemos afirmar que as mulheres têm valores médios de contagem plaquetária superiores aos dos homens.

Tabela 6.5 Avaliação da contagem inicial de plaquetas do dador e o sexo

	<b>Sexo</b>	<b>N</b>	<b>Média ± Desvio padrão</b>	<b>Levene's Test for Equality of Variances</b>	<b>Teste de T-student (Valor p)</b>
N.º de PLT ( $10^9/L$ ) no dador	Feminino	36	249,8 ± 50,9	0.694	0.023
	Masculino	105	227,8 ± 49,3		

### 6.9.2 Sexo dos dadores com n.º de plaquetas por unidade de CP

Tendo se assumido a igualdade de variâncias ( $p=0.022$ ) entre as variáveis, a através do Teste T-Student, com um valor  $p>0.05$ , ( $p=0.411$ ), verificou-se que não há diferenças significativas nos valores médios do número de plaquetas por unidade de CP quanto ao sexo dos dadores (Tabela 6.6).

Tabela 6.6 Avaliação da contagem de plaquetas do CP e o sexo

	Sexo	N	Média ± Desvio padrão	Levene's Test for Equality of Variances	Teste de T-student (Valor p)
N.º de PLT ( $10^9/L$ ) por unidade de CP	Feminino	36	249,8 ± 50,9	0.022	0.411
	Masculino	105	227,8 ± 49,3		

### 6.9.3 Correlação entre variáveis

Com o teste de correlação de Spearman (tabela 6.7) identificaram-se os fatores que possam afetar a qualidade dos componentes sanguíneos, nomeadamente, nos concentrados plaquetários.

Da análise dos resultados da tabela 6.7, verificou-se uma correlação negativa entre a idade e o número de  $PLT \times 10^9$  por unidade de CP (coeficiente de correlação de Spearman  $r_s = -0,003$ ), ou seja, à medida que aumenta a idade, diminui o número de plaquetas. Apesar da relação entre as duas variáveis ser negativa, não é uma correlação estatisticamente significativa ( $p=0.968$ ).

Existe correlação negativa entre o tempo de colheita do ST e o número de  $PLT \times 10^9$ /por unidade de CP, (se um aumenta o outro diminui) mas não significativa ( $p=0,794$ ), ou seja, à medida que o tempo de colheita ST aumenta diminui a contagem de plaquetas no CP.

Nas variáveis tempo de repouso/arrefecimento do ST antes do processamento e n.º de  $PLT \times 10^9$ /unidade de CP, obteve-se um coeficiente de correlação de 0.059, com um valor

$p=0.489$ . Apesar da correlação ser moderada, à medida que o tempo de repouso aumenta a contagem de plaquetas no CP final também aumenta.

A correlação existente entre as variáveis, tempo de repouso do PRP e número de plaquetas  $\times 10^9$ /por Unidade de CP é positiva e moderada (coeficiente de correlação de Spearman=0.086), mas estatisticamente não significativa (valor  $p=0,307$ ).

Existe correlação positiva (crescem ou decrescem juntos) e significativa ( $p=0,002$ ) entre o número de PLT no CE e o N.º de PLT no CP, ou seja, à medida que o número de plaquetas está aumentado no CP, também está aumentado no CE. O mesmo requisito verifica-se no PPP, existindo uma correlação positiva entre a contagem de PLT no PPP e no CP.

Tabela 6.7 Correlação entre variáveis

Variáveis a correlacionar	Coeficiente de correlação de Spearman's $r's$	Valor $p$
Idade do dador e Número de PLT $\times 10^9$ por Unidade de CP	- 0,003	0,968
Tempo de colheita do ST e Número de PLT $\times 10^9$ por Unidade de CP	- 0,022	0,794
Tempo de repouso/arrefecimento do ST antes do processamento e Número de PLT $\times 10^9$ por Unidade de CP	0,059	0,489
Tempo de repouso do PRP e Número de Unidade de CP	0.086	0,307
Número de PLT no CE e Número de PLT/ por Unidade de CP	0.255	0.002
Número de PLT no PPP e Número de PLT/ por Unidade de CP	0.298	0.000

## 6.10 Verificação da hipótese do estudo

Por forma a verificar a hipótese de estudo realizou-se uma tabela de contingência relacionando a contagem inicial de PLT dos dadores e contagem de PLT nos concentrados de plaquetas.

Hipótese do estudo: a) O número de plaquetas final do concentrado plaquetário é inferior ou igual a  $60 \times 10^9$ , em dadores com contagens de plaquetas iniciais inferiores a  $200 \times 10^9/L$

De acordo com o resultado na tabela 6.8, para o teste Exato de Fisher ( $p=0.000$ ) podemos afirmar que existe uma relação muito forte entre a contagem inicial de plaquetas nos dadores e a contagem de plaquetas nos concentrados plaquetários, a qual é corroborada pelas medidas de associação V de Cramer de 0.557, sendo a relação muito forte.

Tabela 6.8 Tabela de contingência

			CP com PLT/U de CP		Total
			>60	≤60	
<b>Dadores com contagem de PLT (<math>PLT \times 10^9/L</math>)</b>	<b>≤ 200</b>	Contagem	1	38	39
		% Dadores com contagem de $PLT > 200$	2,6%	97,4%	100,0%
	<b>&gt;200</b>	Contagem	66	36	102
		% Dadores com contagem de $PLT > 200$	64,7%	35,3%	100,0%
<b>Total</b>		Contagem	67	74	141
<b>Teste Exato de Fisher</b>		<b><math>p = 0,000</math> (logo <math>p &lt; 0.0001</math>)</b>			
<b>Medidas de associação</b>		<b>V de Cramer = 0.557</b>			

Analisando a correlação obtida constante na tabela 6.9, verificou-se que existe uma forte correlação entre as duas variáveis ( $r^2=1.000$ ) ou seja, quanto maior a contagem de plaquetas iniciais maior será o número de plaquetas do concentrado plaquetário (ou quanto menor a contagem de plaquetas iniciais menor será o número de plaquetas do concentrado plaquetário (coeficiente de correlação de Spearman's  $=1.000$ ) e  $p < 0.0001$ . No total de 39 dadores com contagens de plaquetas  $\leq 200 \times 10^9/L$ , nos concentrados plaquetários, verificou-se que em 38 participantes as contagens de plaquetas foi  $\leq 60 \times 10^9$  por unidade de concentrado plaquetário.

Os doadores com contagem de PLT inferior ou igual a  $200 \times 10^9/L$  têm uma maior probabilidade de terem as plaquetas  $\leq 60 \times 10^9$  ( $p < 0.0001$ ), no qual existe uma associação/relação estatisticamente significativa.

Tabela 6.9 Relação entre variáveis (hipótese do estudo) tabela de contingência

Variáveis a correlacionar	Coeficiente de correlação de Spearman's	
	<i>r's</i>	Valor <i>p</i>
N.º de PLT ( $10^9/L$ ) no dador e N.º de PLT $\times 10^9$ por Unidade de CP	1.000	0.000

# 7. Discussão/Conclusão

---

## 7.1 Discussão

O Serviço de Sangue e Medicina Transfusional (SSMT) é o único serviço desta especialidade na Região Autónoma da Madeira prestando por isso cuidados no âmbito de Serviço de Sangue, nomeadamente, colheita de sangue a dadores, processamento, armazenamento e distribuição de componentes sanguíneos e no âmbito da Medicina Transfusional, nomeadamente a disponibilização e administração de sangue e componentes sanguíneos aos utentes do Serviço de Saúde da Região Autónoma de Madeira e das Unidades de Saúde Privadas, tendo em conta o cumprimento do Decreto-Lei nº 267/2007 de 24 de Julho e decreto-Lei nº 185/2015 de 2 de Setembro.

O SSMT tem por missão garantir a colheita, análise, processamento, armazenamento e distribuição do sangue e componentes sanguíneos, assim, como a sua disponibilização, aplicação terapêutica e autossuficiência.

Para além das atividades descritas o SSMT é também responsável pela realização de controlo de qualidade dos componentes sanguíneos de acordo com o método adotado no serviço.

A seleção do método de preparação e produção de CP, deve ser baseada na disponibilidade de recursos e na eficácia do mesmo. A existência de vários métodos de produção de plaquetas: PRP, *Buffy-coat* e Aférese, permitem uma variabilidade substancial nos parâmetros de qualidade exigidos (1,3,6).

O presente estudo partiu do objetivo de identificar os fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas nos Concentrados Plaquetários obtidos pelo método PRP, tendo em consideração os parâmetros legais exigidos para este componente sanguíneo ( $60 \times 10^9$ /unidade de CP).

De acordo com a literatura vários fatores podem influenciar a contagem de plaquetas no concentrado plaquetário final, nomeadamente aspetos relacionados com o dador, como a contagem inicial de plaquetas, aspetos relacionados com a colheita de ST, métodos de preparação do CP e condições de armazenamento (6,10,12,17,23,24).

No presente estudo participaram voluntariamente 142 dadores de sangue, cujas dádivas de ST permitiram obter 142 U CE, 142 U PPP e 142 U de CP.

Foram estudadas as seguintes variáveis: sexo, idade, grupo sanguíneo e contagem inicial de plaquetas do dador ( $PLT \times 10^9/L$ ), tempo de colheita do ST, tempo de repouso/arrefecimento do ST, tempo de repouso do PRP antes do processamento,

contagens de PLT nos CE, PPP e CP.

De acordo com o Relatório de Atividade Transfusional e Sistema Português de Hemovigilância do ano de 2020 do IPST, relativamente à distribuição por sexo, verificou-se pela primeira vez não só uma maior proporção de doadores homólogos do sexo feminino que se apresentaram para realizar a dádiva, à semelhança de 2018 e 2019, como também e pela primeira vez uma maior proporção de doadores do sexo feminino que realizaram efetivamente a dádiva (21)

No que respeita ao Serviço de Sangue e Medicina Transfusional do Hospital Dr. Nélio Mendonça, no ano de 2020, 2831 doadores homólogos realizaram a sua dádiva, sendo que 66.6 % eram doadores do sexo masculino e 33.3% do sexo feminino (valores retirados da aplicação informática SIGI).

Na amostra estudada, observou-se uma maior percentagem de doadores do sexo masculino 75% (N=106), e apenas 25% (N=36) do sexo feminino. A faixa etária com maior percentagem de doadores foi 25-44 anos (45%).

De acordo com a literatura, num estudo realizado em Portugal no ano de 2007, sobre a distribuição dos grupos sanguíneos na população portuguesa (45), verificou-se que 46,58% da população era do grupo A, 42,28% do grupo O. No grupo B e AB obtiveram uma distribuição de 7,69% e 33,43% respetivamente. No mesmo estudo foi englobada a Região Autónoma da Madeira (RAM), em que a distribuição da população foi a seguinte: verificou-se que 43.7% da população era do grupo A, 42.8% do grupo O, sendo 10.1 e 3.3% distribuídos pelo grupo B e AB, respetivamente.

Num estudo realizado na RAM (46), sobre a caracterização dos doadores de sangue de acordo a prevalência fenotípica dos grupos sanguíneos AB0 e Rh, no período compreendido entre 1 de janeiro de 2015 a 31 de dezembro de 2019, verificou-se que 43.7% dos doadores era do grupo O, 41,7% do grupo A, 10,5% e 4,2% eram do grupo B e AB respetivamente.

Relativamente à distribuição dos doadores participantes neste estudo, apenas foram selecionados doadores pertencentes ao grupo sanguíneo A e O, o que vai ao encontro da distribuição dos grupos sanguíneos pela RAM, sendo que 52% eram do grupo sanguíneo A e 48% do grupo sanguíneo O. Esta seleção de fenótipos vai ao encontro das necessidades transfusionais de acordo com a distribuição dos grupos sanguíneos na população da RAM.

No que respeita ao grupo Rh D, 82% eram Rh D positivos e 12% eram Rh D negativos. Quando à distribuição pelo grupo sanguíneo AB0 e Rh, 41% dos doadores são do grupo A Rh (+) e O Rh (+), sendo o grupo sanguíneo O Rh (-), o grupo com menor percentagem (7%).

Por forma a garantir a segurança dos dadores e dos profissionais de saúde, bem como as condições de garantia de qualidade e segurança dos componentes sanguíneos, a dádiva sanguínea deverá realizar-se em local apropriado e com material apropriados e de acordo com procedimentos que permitam a identificação inequívoca do dador, em todos os momentos (rotulagem das amostras e sacos de colheita) (1,3,6).

A eficácia da transfusão de concentrados plaquetários (rendimento transfusional) depende de vários fatores, sendo o principal o número de plaquetas existentes em cada concentrado plaquetário transfundido. Contudo existem muitos fatores que influenciam a contagem de plaquetas no CP final. Por forma a ir ao encontro do objetivo geral deste estudo foram realizadas diversas análises no sentido de verificar a associação entre as variáveis definidas.

O número de plaquetas por CP depende da variabilidade do dador, nomeadamente sexo, idade e do número de plaquetas do dador, entre outros aspetos (10-12).

Num estudo realizado em Itália (49) sobre as variações relacionadas com a idade e sexo na contagem de plaquetas, verificou-se que as mulheres tinham significativamente mais plaquetas do que os homens (261 versus  $237 \times 10^9/L$ , com  $P < 0.001$ ), sendo que a contagem de plaquetas diminui com a idade, com uma redução da infância para a velhice de 35% nos homens e 25% nas mulheres.

No presente estudo verificou-se que as mulheres têm valores médios superiores aos homens (contagem de PLT  $249.8 \pm 227,8 \times 10^9/L$ , sendo a diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ )).

Relativamente às contagens de plaquetas no concentrado de plaquetas e sexo, verificou-se que não há diferenças significativas nos valores médios de plaquetas por unidade de CP quanto ao sexo dos dadores (Teste de T-student com valor  $p = 0.411$ ).

Estes dados vão do encontro ao estudo (50) realizado sobre a contagem de plaquetas e leucócitos no dador, como fatores preditivos da qualidade dos CP obtidos através de ST, utilizando uma separação automática, nos qual os autores, verificaram que a contagem inicial de plaquetas do dador é significativamente maior nas mulheres do que nos homens. Contudo verificaram que não havia diferenças significativas entre o sexo e a contagem de plaquetas no CP final (50).

Através da correlação entre a idade e número de PLT  $\times 10^9/U$  de CP, verificou-se uma correlação negativa, ou seja, à medida que aumenta a idade, diminui o número de plaquetas. Apesar da relação entre as duas variáveis ser negativa, não é uma correlação estatisticamente significativa ( $p = 0.968$ ).

Na revisão da literatura, mais concretamente no estudo sobre os princípios e métodos de plasma rico em plaquetas (51), alguns autores referem que não há alterações significativas na concentração plaquetária ou na concentração em relação à idade e ao sexo, embora exista estudos que referem que o hematócrito e a contagem total de plaquetas influenciam a concentração plaquetária do PRP.

Este estudo ao incidir na contagem inicial de plaquetas nos dadores, como fator que influencia a qualidade dos concentrados plaquetários, evidenciou que a variabilidade dos dadores pode influenciar o metabolismo plaquetário, e a sobrevivência das plaquetas obtidas, podendo afetar o rendimento transfusional (53-55).

De acordo com a literatura (54), o sexo e idade dos dadores afetam significativamente o metabolismo das plaquetas no início do estudo e após o armazenamento (estudo sobre o impacto do sexo e idade do dador no metabolismo plaquetário armazenado e recuperação pós-transfusão). Nas plaquetas de dadores mais velhos do sexo masculino verificaram-se níveis mais elevados de metabólitos do ciclo de Krebs.

Analisando o tempo de colheita do ST e a contagem de plaquetas no CP, verificou-se uma correlação negativa, mas estatisticamente não significativa entre as duas variáveis, ou seja, à medida que o tempo de colheita do ST aumenta a contagem de PLT diminui. A maioria dos autores afirma que o tempo máximo para a colheita do ST deverá ser de 12 minutos (3), de forma a prevenir a agregação e ativação plaquetária.

Analisando os tempos de colheita, observados neste estudo, o tempo mínimo foi cerca de 3 minutos e 46 segundos e o tempo máximo foi de cerca de 12 minutos.

Com esta amostra a correlação não ter sido significativa, provavelmente devido aos tempos de colheita, não terem sido muito diferentes.

Com base na revisão de um estudo (51) sobre os princípios e métodos de plasma rico em plaquetas, alguns autores verificaram a tendência de diminuição das contagens de plaquetas à medida que aumentou o tempo de colheita do ST.

Da correlação realizada entre as variáveis tempo de repouso do ST antes do processamento e a contagem de plaquetas no CP, observou-se um resultado moderado, mas estatisticamente não significativo, sendo que a média das contagens de plaquetas das unidades de concentrados plaquetários com tempo inferior e/ou superior a duas horas foi de 60,07 e 61 x 10<sup>9</sup>/ por U de CP respetivamente.

Constatou-se que 31.6% das U de ST colhidas não cumpriam o tempo mínimo de repouso de duas horas. De acordo com as instruções de trabalho do SSMT, o sangue total deverá repousar durante pelo menos duas horas. Contudo, verificou-se, que devido à afluência de dadores, não foi possível cumprir esse tempo de repouso, por forma a agilizar todo o processamento.

O tempo médio de repouso do PRP antes da 2ª centrifugação do método PRP, foi de 49,2 minutos, verificando-se uma correlação moderada entre o tempo de repouso de PRP e N.º de PLT/ U de CP, mas estatisticamente não significativa.

As alterações nos componentes sanguíneos, começa imediatamente após a colheita até ao momento de administração dos mesmos. O sangue total e os componentes são armazenados a diferentes temperaturas o que afeta a qualidade dos mesmos.

Embora as alterações durante o armazenamento dos CE e dos CP, esteja descrita na literatura, ainda são pouco conhecidas as mudanças nas características dos produtos durante o tempo de repouso nas várias etapas de processamento que precedem o armazenamento, apesar de já terem sido descritas algumas alterações tendo em conta o tempo de processamento do ST e do *Buffy-coat* (34).

No que se refere à contagem de plaquetas pré dádiva, apenas está descrito que os dadores que realizam aférese têm de ter  $150 \times 10^9/L$ , não existindo um limiar de contagem relativamente aos outros métodos de preparação de concentrados plaquetários (1).

Atualmente uma contagem de plaquetas antes da dádiva, poderá ser útil para garantir a qualidade das plaquetas, e desta forma garantir a eficácia transfusional, através da avaliação do incremento das plaquetas nos doentes que recebem concentrados plaquetários (6,27).

Dadores com baixa contagem de plaquetas podem sofrer trombocitopenia iatrogénica após a dádiva de sangue (19).

Através da avaliação do controlo de qualidade dos CP, verificou-se que alguns CP não tinham valores de plaquetas aceitáveis ( $60 \times 10^9/L$ ), sobretudo os provenientes de dadores com uma contagem inicial de plaquetas  $< 200 \times 10^9/L$ , facto que respondeu à hipótese deste estudo: o número de plaquetas final do concentrado plaquetário é inferior ou igual a  $60 \times 10^9$ , em dadores com contagens de plaquetas iniciais inferiores a  $200 \times 10^9/L$  (52).

Pensa-se que a identificação dos fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas no CP, permitirá ao serviço alvo, a introdução de um novo método de seleção de dadores baseado nos critérios de elegibilidade de dadores do Instituto Português do Sangue e da Transplantação, mas também incluir os dados obtidos neste estudo, acrescentando valor, nomeadamente nos doentes que necessitam de transfusão de concentrados plaquetários, como a contagem inicial de plaquetas do dador na pré dádiva.

Utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman para avaliar a possível associação entre as variáveis contínuas: N.º de PLT x 10<sup>9</sup>/L no dador e N.º de PLT/U de CP. Verificou-se que existe uma forte correlação entre as duas variáveis ( $r_s=1.000$ ) ou seja, quanto maior a contagem de plaquetas iniciais maior será o número de plaquetas do concentrado plaquetário (ou quanto menor a contagem de plaquetas iniciais menor será o número de plaquetas do concentrado plaquetário (coeficiente de correlação de Spearman  $r_s=1.000$ ) e  $p < 0.05$ ).

Num estudo realizado, sobre a importância da contagem de plaquetas na pré dádiva, por forma a maximizar a segurança do dador e a otimização da qualidade das plaquetas (52), verificou-se que a qualidade dos CP em termos de rendimento transfusional foi significativamente melhor ( $p < 0.05$ ) quando a contagem de plaquetas do dador era superior a 200x10<sup>9</sup>/L. Um rendimento fraco de plaquetas foi observado quando a contagem de plaquetas era de 150 x10<sup>9</sup>/L, sendo o rendimento das plaquetas correlacionado com a contagem de plaquetas no dador ( $r=0.87$ ,  $p < 0.001$ ).

Através do Teste Exato de Fisher, podemos aceitar a hipótese formulada, podendo afirmar que os dadores com contagem de PLT inferior ou igual a 200x10<sup>9</sup>/L têm uma maior probabilidade de terem as plaquetas  $\leq 60 \times 10^9$  ( $p < 0.05$ ), no qual existe uma associação/relação estatisticamente significativa.

Verificou-se através do cálculo de medidas de associação através do valor V de Cramer que a associação entre as variáveis era muito forte.

De acordo com a literatura, sobre um estudo cuja finalidade era avaliar se a contagem de plaquetas e leucócitos, funcionavam como fatores preditivos da qualidade de concentrados de plaquetas obtidos de sangue total por fracionamento semiautomático (50), os autores verificaram que existe correlação entre a contagem inicial de plaquetas do dador e a contagem de plaquetas nos CP (coeficiente de correlação de Spearman de 0.3840 e  $p < 0.0001$ ).

Tendo em conta a hipótese do estudo, torna-se pertinente ao serviço alvo realizar um hemograma a todos os dadores selecionados para plaquetas. Estes dados permitirão tirar conclusões na avaliação sobre o controlo de qualidade dos CP.

No SSMT do Hospital Dr. Nélio Mendonça, são obtidos os concentrados standard de plaquetas, os quais apenas são adicionados em pool de CP no momento da disponibilização para o utente. Torna-se pertinente identificar os CP que não cumprem o requisito legal (60x10<sup>9</sup>/por U de CP), mas que ainda tenham uma contagem superior a 45x10<sup>9</sup>/ por U de CP, de modo que possam ser adicionadas em pool (5 a 6 U) de CP, contribuindo para o rendimento transfusional (depende do estado clínico do doente, nomeadamente febre, infeção e hemorragia ativa).

Apesar de não ter sido possível avaliar o PRP em relação à contagem de plaquetas, por forma a garantir a segurança transfusional, uma vez que seria necessária realizar conexões estéreis do PRP a um saco de transferência antes da 2ª centrifugação e extração semiautomática, tentou-se verificar a eficácia do método utilizado para a separação de componentes no serviço alvo. O valor obtido para a determinação da eficácia do método, foi de 4.46, sendo que se considera o método eficaz.

Contudo apesar do método PRP ser eficaz, na literatura existem vários estudos comparativos sobre a eficácia dos métodos de obtenção de componentes sanguíneos, bem como diversas vantagens, demonstrando que o método de *Buffy-coat* é mais eficaz que o método PRP, em termos de contagem de plaquetas no componente final (23-26,29, 56,57).

Um estudo realizado no Centro Regional de Sangue em Lisboa, IPST, sobre a avaliação da qualidade dos concentrados plaquetários, utilizando os três métodos, verificou que a concentração de plaquetas/ul em tubo de EDTA era maior no método de *Buffy-coat* do que no PRP (29).

Um dos objetivos específicos deste estudo foi avaliar a contagem de plaquetas nos Concentrados Eritrocitários e Plasma Pobre em Plaquetas ao longo do processo de separação de componentes, através do hemograma, por forma a verificar o processamento. Recorrendo à associação entre variáveis, contagem de plaquetas no CE e no PPP com a contagem de plaquetas no CP final, constatou-se que existia uma correlação positiva entre as variáveis.

Verificou-se que em doadores com maior número de plaquetas, também existia um maior número de plaquetas no PPP e no CE. De acordo com a eficácia do método encontrada no estudo, sugere-se que nos doadores com contagens maiores de plaquetas tenham tempos de repouso de ST e repouso do PRP maiores.

## 7.2 Conclusão

Com o presente estudo conclui-se que a contagem inicial dos dadores antes da dádiva influencia a qualidade dos concentrados plaquetários obtidos pelo método PRP. Nos dadores com contagens de plaquetas inferiores a  $200 \times 10^9/L$ , os concentrados de CP finais têm valores inferiores a  $60 \times 10^9/U$  de CP, valor recomendado (3) no controlo de qualidade de CP desleucocitado.

A seleção de dadores de sangue cujas contagens de plaquetas nos concentrados plaquetários seja igual ou superior a  $60 \times 10^9$  por unidade, permitirá ao serviço: rentabilizar o inventário de CP, uma vez que não serão eliminados os CP por controlo de qualidade, relativamente ao parâmetro de contagem de plaquetas; aumentar a eficácia transfusional dos CP; rentabilizar os recursos humanos e materiais no serviço, bem como fazer a associação entre os dados do controlo de qualidade dos componentes sanguíneos e a contagem de plaquetas do dador, por forma a organizar os lotes de pool de plaquetas a transfundir.

A idade é outro fator relacionado com o dador de sangue, sendo que à medida que os dadores envelhecem, o número de plaquetas diminui. Apesar da relação não ter sido estatisticamente significativa e considerando que os dadores envolvidos neste estudo pertencem à faixa etária dos 44 aos 65 anos, torna-se pertinente o serviço alvo trabalhar na captação de novos dadores.

Também se verificou que o tempo de colheita influencia negativamente a contagem de plaquetas, apesar dos resultados não terem sido estatisticamente significativos. Os profissionais que realizam as colheitas de ST no serviço deverão estar sensibilizados para os tempos máximos de colheita para a obtenção dos diferentes componentes sanguíneos, bem como verificar a conformidade dos equipamentos utilizados, nomeadamente as balanças agitadoras.

Apesar da limitação na testagem da eficácia do método através da fórmula aplicada, uma vez que não foi possível determinar a contagem de plaquetas no PRP, torna-se pertinente a possibilidade de mudança de método de separação de componentes, para um método mais eficaz..

Com o presente estudo conclui-se que existe uma correlação fraca entre a idade, tempo de colheita do sangue total e a contagem de plaquetas no concentrado plaquetário. Verificou-se, uma correlação moderada entre o repouso do sangue total e a contagem de plaquetas no componente final.

A contagem inicial dos dadores antes da dádiva, influencia a qualidade dos concentrados plaquetários obtidos pelo método PRP, o qual se verificou através de uma correlação forte.

## 8. Perspetivas futuras

---

Em termos de inovação, a identificação dos fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas no CP, permitirá ao serviço alvo, a introdução de um novo método de seleção de dadores baseado nos critérios de elegibilidade dos dadores do Instituto Português do Sangue e da Transplantação.

Os dados deste estudo poderão ser obter valor em saúde, nomeadamente na seleção dos CP para a organização de lotes de pool de CP, tendo por base a contagem inicial de plaquetas do dador. Deste modo será pertinente a realização de hemograma a todos os dadores aptos para a dádiva de ST para a obtenção de CP.

Sempre que as contagens de plaquetas nos CP, for  $< 60$  mas  $> 45 \times 10^9/L$  deverão ser preparadas pool de CP com 5 a 6 U de CP.

Para dar continuidade a este estudo, seria importante aumentar o número de amostras/dadores possibilitando assim uma análise estatística mais completa.

Seria pertinente englobar no estudo para avaliar o controlo de qualidade dos concentrados plaquetários, os seguintes parâmetros, que não foram englobados neste estudo, nomeadamente: a centrifugação (alteração da rpm e tempo de centrifugação), verificação da temperatura após o tempo de repouso/arrefecimento do ST, verificação do ambiente térmico do laboratório de separação de componentes, avaliar o tempo de repouso de CP antes da agitação, *swirling*, presença de agregados, bem como avaliar as lesões associadas ao armazenamento do CP (pH e a contagem de PLT, níveis de glicose no CP, entre outros parâmetros).

A avaliação de todas estas variáveis permitirá uma análise mais rigorosa dos parâmetros obtidos no controlo de qualidade dos componentes plaquetários, tendo em consideração que 90% das U de CP testadas, deverão ter uma contagem de PLT de  $60 \times 10^9/U$  de CP, podendo no futuro servir de premissa para a mudança de método de separação de componentes.

## 9. Referências bibliográficas

---

1. Decreto-Lei 185/2015. Transpõe a Diretiva n.º 2014/110/UE, da Comissão, de 17 de dezembro de 2014, que altera a Diretiva n.º 2004/33/CE, da Comissão, de 22 de março, no que se refere aos critérios de suspensão temporária de dadores de sangue relativamente a dádivas homólogas, e procede à segunda alteração ao Decreto-Lei n.º 267/2007, de 24 de julho;
2. Decreto-Lei 267/2007. Estabelece o regime jurídico da qualidade e segurança do sangue humano e dos componentes sanguíneos, respetivas exigências técnicas, requisitos de rastreabilidade e notificação de reações e incidentes adversos graves e especificações relativas ao sistema de qualidade dos serviços de sangue, com vista a assegurar um elevado nível de proteção da saúde pública, transpondo para a ordem jurídica nacional as Diretivas n.º 2002/98/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 27 de janeiro de 2004, n.º 2004/33/CE da comissão, de 22 de março de 2004, n.º 2005/61/CE da Comissão, de 30 de setembro de 2005 e n.º 2005/62/CE da Comissão, de 30 de setembro de 2005.
3. Europa C. Guia para a preparação, uso e garantia de qualidade dos componentes do sangue. Estrasburgo: Conselho da Europa; 20ª edição, 2020.
4. DGS; Norma 21/2017 de 17 de outubro - Especificações do Sistema de Qualidade dos Serviços de Sangue e Serviços de Medicina Transfusional.
5. Organização Mundial de Saúde; O uso clínico do sangue na medicina obstetrícia pediatria e neonatologia cirurgia e anestesia traumas e queimaduras; Genebra; [https://www.who.int/bloodsafety/clinical\\_use/en/Module\\_P.pdf](https://www.who.int/bloodsafety/clinical_use/en/Module_P.pdf)
6. ISBT Science Series. Introduction to blood transfusion: from donor to recipient. Blackwell Publishing Ltd, 2020; DOI: 10.1111/voxs.12609 <https://www.isbtweb.org/introduction-to-blood-transfusion-from-donor-to-recipient>
7. Instituto Português do Sangue e da Transplantação, IP. Circular. Normativa N.º 2/CN-IPST, IP/14 de 31.10.2014. Requisitos em matéria de análise das dádivas de sangue colhida
8. DGS; Norma n.º 009/2016 de 19/09/2016 atualizada a 19/03/2021- Seleção de Pessoas Candidatas à Dádiva de Sangue com Base na Avaliação de Risco Individual (ISPT DGS).

9. DGS; Norma nº 015/2013 – Direcção-Geral da Saúde – Consentimento informado, esclarecido e livre para atos terapêuticos ou diagnósticos e para a participação em estudos de investigação.
10. Castro, H. C., Ferreira, B. L. A., Nagashima, T., Schueler, A., Rueff, C., Camisasca, D, Santos, D. O. (2006). Plaquetas: Ainda um alvo terapêutico. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442006000500004>
11. Klein, Harvey G., Anstee, David J.. Mollison's blood transfusion in clinical medicine: 11ª edição, Blackwell Publishing Ltd; 2005
12. Hortelão Dina. Ativação plaquetária e outros fatores condicionantes da resposta à transfusão de plaquetas. Porto (Portugal): Universidade Católica Portuguesa, 2012. <file:///C:/Users/arman/OneDrive/Ambiente%20de%20Trabalho/PESQUISA%20PARA%20A%20TESE/Dina%20Hortelão-Dissertação.pdf>
13. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev*. 2009 Jul;23(4):177-89. doi: 10.1016/j.blre.2009.04.001. Epub 2009 May 17. PMID: 19450911; PMCID: PMC2720568
14. Jandrot-Perrus M, Nurden P. Des fonctions plaquettaires aux implications thérapeutiques. *Rev Med Interne*. 2010 Dec;31 Suppl 3: S319-23. French. doi: 10.1016/j.revmed.2010.09.020.
15. Kamath S, Blann AD, Lip GY. Platelet activation: assessment and quantification. *Eur Heart J*. 2001 Sep;22(17):1561-71. doi: 10.1053/euhj.2000.2515. PMID: 11492985.
16. Daly ME. Determinants of platelet count in humans. *Haematologica*. 2011 Jan; 96(1):10-3. doi: 10.3324/haematol.2010.03528
17. Solves Alcaina P. (2020). Platelet Transfusion: And Update on Challenges and Outcomes. *Journal of blood medicine*, 11, 19–26. <https://doi.org/10.2147/JBM.S234374>
18. Direcção-Geral da Saúde; Norma 038/2012 de 30/12/2012. Utilização Clínica de Concentrado Eritrocitário No Adulto, 6–9; [www.dgs.pt](http://www.dgs.pt)
19. Direcção Geral da Saúde; Norma 010/2012 de 16/12/2012. Utilização Clínica de Concentrados Plaquetários no Adulto Médicos do Sistema Nacional de Saúde. 1–7. [www.dgs.pt](http://www.dgs.pt)
20. Direcção-Geral da Saúde; Norma 009/2012 de 16/12/2012.Utilização Clínica de Plasma no Adulto Médicos do Sistema Nacional de Saúde. 1–14. [www.dgs.pt](http://www.dgs.pt)
21. IPST, Relatório de atividade transfusional e sistema português de hemovigilância, 2020
22. Fung M, Eder A, Spitalnik S, Westhoff C. Technical Manual. AABB; p135-165; 18ª Edition, 2014.

23. Levin, E., Culibrk, B., Gyöngyössi-Issa, M. I., Weiss, S., Scammell, K., LeFresne, W., Jenkins, C., & Devine, D. V. (2008). Implementation of buffy coat platelet component production: comparison to platelet-rich plasma platelet production. *Transfusion*, 48(11), 2331–2337. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01836.x>
24. Vassallo RR, Murphy S. A critical comparison of platelet preparation methods. *Curr Opin Hematol*. 2006 Sep;13(5):323-30. doi: 10.1097/01.moh.0000239703.
25. Pietersz R. N. Pooled platelet concentrates: an alternative to single donor apheresis platelets?. *Transfusion and apheresis science: official journal of the World Apheresis Association: official journal of the European Society for Haemapheresis*, 2009,41(2), 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2009.07.003>
26. Singh, R. P., Marwaha, N., Malhotra, P., & Dash, S. Quality assessment of platelet concentrates prepared by platelet rich plasma-platelet concentrate, buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC) and apheresis-PC methods. *Asian journal of transfusion science*, 2009. 3(2), 86–94. <https://doi.org/10.4103/0973-6247.53882>
27. Guerreiro T. Refratariedade Plaquetária. *ABO* 2007 abril/junho 30:7-30. <https://repositorio.hff.minsaude.pt/bitstream/10400.10/137/1/ABO%202007%2030.pdf~>
28. Tynngård N. (2009). Preparation, storage and quality control of platelet concentrates. *Transfusion and apheresis science: official journal of the World Apheresis Association: official journal of the European Society for Haemapheresis*, 41(2), 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2009.07.001>
29. Vasconcelos, E., Figueiredo, A. C., & Seghatchian, J. (2003). Quality of platelet concentrates derived by platelet rich plasma, buffy coat and Apheresis. *Transfusion and apheresis science: official journal of the World Apheresis Association: official journal of the European Society for Haemapheresis*, 29(1), 13–16. [https://doi.org/10.1016/S1473-0502\(03\)00091-0](https://doi.org/10.1016/S1473-0502(03)00091-0)
30. Vit, Gianmatteo. Klüter, Harald. Wuchter, Patrick. "Platelet storage and functional integrity" *Journal of Laboratory Medicine*, vol. 44, no. 5, 2020, pp. 285-293. <https://doi.org/10.1515/labmed-2020-0067>
31. Scharf RE. Drugs that affect platelet function. *Semin Thromb Hemost*. 2012 Nov;38(8):865-83. doi: 10.1055/s-0032-1328881. Epub 2012 Oct 30. PMID: 23111864.
32. Roskopf, Komad. Hemberg, Wolfgang. Schlenke, Peter. Pathogen reduction of double-dose platelet concentrates from pools of eight buffy coats: Product quality, safety, and economic aspects. *The Journal of AABB Transfusion*. Volume 60, setembro 2020. <https://doi.org/10.1111/trf.15926>

33. Siew, Lim Wen. Fauzi, Hafizuddin Mohamed. Noordin, Siti Salmah. Quality Parameters of Platelet Concentrates Collected from Manual and Automated Blood Collection Mixer. *Mal J Med Health Sci* 15(SUPP9): 61-65, Dec 2019
34. Van der Meer, P. F., & de Korte, D. The effect of holding times of whole blood and its components during processing on in vitro and in vivo quality. *Transfusion medicine reviews*, 2015, 29(1), 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2014.10.001>
35. Dijkstra-Tiekstra, M. J., van der Meer, P. F., Cardigan, R., Devine, D., Prowse, C., Sandgren, P., de Wildt-Eggen, J., & Biomedical Excellence for Safer Transfusion Collaborative (2011). Platelet concentrates from fresh or overnight-stored blood, an international study. *Transfusion*, 51 Suppl 1, 38S–44S. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2010.02973.x>
36. Ringwald, J., Antoon, M., Eckstein, R., & Cardoso, M. (2014). Residual aggregates in platelet products: what do we know?. *Vox sanguinis*, 106(3), 209–218. <https://doi.org/10.1111/vox.12089>
37. Ozer K, Kankaya Y, Colak O, Kocer U. The Impact of Duration and Force of Centrifugation on Platelet Content and Mass in the Preparation of Platelet-Rich Plasma. *Aesthetic Plast Surg*. 2019 Aug;43(4):1078-1084. doi: 10.1007/s00266-019-01375-9.
38. Shea, S. M., Thomas, K. A., & Spinella, P. C.. The effect of platelet storage temperature on haemostatic, immune, and endothelial function: potential for personalised medicine. *Blood transfusion, Trasfusione del sangue*, 2019, 17(4), 321–330. <https://doi.org/10.2450/2019.0095-19>
39. Metcalfe, P., Williamson, L. M., Reutelingsperger, C. P., Swann, I., Ouwehand, W. H., & Goodall, A. H. (1997). Activation during preparation of therapeutic platelets affects deterioration during storage: a comparative flow cytometric study of different production methods. *British journal of haematology*, 98(1), 86–95. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1997.1572983.x>
40. Gulliksson, H., Sandgren, P., Sjödin, A., & Hultenby, K. (2012). Storage of platelets: effects associated with high platelet content in platelet storage containers. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*, 10(2), 205–212. <https://doi.org/10.2450/2012.0066-11>
41. John W. Creswell, J. David Creswell. *Research Design, Qualitative, Quantitative, and Mixed Methods Approaches*. Fifth Edition, USA. Published: December 2017
42. Akoglu H. User's guide to correlation coefficients. *Turk J Emerg Med*. 2018 Aug 7;18(3):91-93. doi: 10.1016/j.tjem.2018.08.001. PMID: 30191186; PMCID: PMC6107969.

43. Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial [Internet]. 2013. Available from: <https://ispup.up.pt/docs/declaracao-de-helsinquia.pdf>
44. Assembleia da república [Internet]. Diário da República. 2019. Available from: <https://dre.pt/application/file/a/123813850>
45. Duran, JA; Charbet, T; Rodrigues, E; Pestana, D. Distribuição dos grupos sanguíneos na população portuguesa; AB0-Revista Medicina Transfusional; 2007,29,5-17
46. Gomes, Emília. Caracterização dos doadores de sangue na RAM: prevalência fenotípica dos grupos sanguíneos ABO e Rh. Escola Superior de Saúde. Politecnico do Porto.2020
47. Geoff, Daniels; Bromilow, Imelda. Essential guide to blood groups; second Editions; Wiley-BackWeel; 2006
48. Girelo, Ana L. Kuhn, Telma. Fundamentos da imunohematologia eritrocitária; Editora Senac; São Paulo,
49. Biino, G., Santimone, I., Minelli, C., Sorice, R., Frongia, B., Traglia, M., Ulivi, S., Di Castelnuovo, A., Gögele, M., Nutile, T., Francavilla, M., Sala, C., Pirastu, N., Cerletti, C., Iacoviello, L., Gasparini, P., Toniolo, D., Ciullo, M., Pramstaller, P., Pirastu, M., ... Balduini, C. L. (2013). Age- and sex-related variations in platelet count in Italy: a proposal of reference ranges based on 40987 subjects' data. *PloS one*, 8(1), e54289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054289>
50. Cienfuegos-Pecina, E., Leal-Nava, E. R., Avilés-Rodríguez, L. E., Llaca-Díaz, J. M., Pérez-Chávez, F., Cázares-Tamez, R., & Díaz-Chuc, E. A. (2021). Donor platelet and leukocyte count as predictive factors of the quality of platelet concentrates obtained from whole blood by semiautomated fractionation. *Transfusion and apheresis science: official journal of the World Apheresis Association: official journal of the European Society for Haemapheresis*, 60(1), 102972. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2020.102972>
51. Dhurat, R., & Sukesh, M. (2014). Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*, 7(4), 189–197. <https://doi.org/10.4103/0974-2077.150734>
52. Das, S. S., Zaman, R. U., & Biswas, D. (2013). Era of blood component therapy: time for mandatory pre-donation platelet count for maximizing donor safety and optimizing quality of platelets. *Transfusion and apheresis science: official journal of the World Apheresis Association: official journal of the European Society for Haemapheresis*, 49(3), 640–643. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2013.07.007>

53. Kelly, A. M., Gartner, S. F., Foukaneli, T., Godec, T. R., Herbert, N., Kahan, B. C., Deary, A., Bakrania, L., Llewelyn, C., Ouwehand, W. H., Williamson, L. M., & Cardigan, R. A. (2017). The effect of variation in donor platelet function on transfusion outcome: a semirandomized controlled trial. *Blood*, The American Society of hematology. 2017 Volume 130. Number 2, pages 214–220. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-01-759258>
54. D'Alessandro A, Stefanoni D, Slichter SJ, Fu X, Zimring JC. The impact of donor sex and age on stored platelet metabolism and post-transfusion recovery. *Blood Transfus.* 2021 May;19(3):216-223. doi: 10.2450/2020.0145-20. Epub 2020 Oct 14. PMID: 33085601; PMCID: PMC8092042.
55. Hadesfandiari N, Khorshidfar M, Devine DV. Current Understanding of the Relationship between Blood Donor Variability and Blood Component Quality. *Int J Mol Sci.* 2021 Apr 11;22(8):3943. doi: 10.3390/ijms22083943. PMID: 33920459; PMCID: PMC8069744
56. Thazha SK, Scaria B, Mohammed RGA, Rengan SS. Platelet transfusion: A study of methods of preparation, storage, quality control, and indications of whole blood-derived platelet concentrates. *Int J Blood Transfus Immunoematol* 2019;9: 100049Z02ST2019. Article ID: 100049Z02ST2019; doi: 10.5348/100049Z02ST2019RA
57. Mallhi, R. S., Kumar, S., & Philip, J. A Comparative Assessment of Quality of Platelet Concentrates Prepared by Buffy Coat Poor Platelet Concentrate Method and Apheresis Derived Platelet Concentrate Method. *Indian journal of hematology & blood transfusion: an official journal of Indian Society of Hematology and Blood Transfusion*, 2015, 31(4), 453–459. <https://doi.org/10.1007/s12288-014-0476-z>
58. Ng, M., Tung, J. P., & Fraser, J. F. (2018). Platelet Storage Lesions: What More Do We Know Now?. *Transfusion medicine reviews*, S0887-7963(17)30189-X. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.v.2018.04.001>

# Apêndice I

---

**Consentimento informado distribuído aos participantes do  
estudo**

## **CONSENTIMENTO INFORMADO, LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM INVESTIGAÇÃO**

(De acordo com a Declaração de Helsínquia e a Convenção de Oviedo e em concordância com a Lei n.º 58/2019 de 8 de agosto da Proteção de Dados)

### **Projeto de investigação**

#### **Fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas nos Concentrados Plaquetários obtidos pelo Método de Plasma Rico em Plaquetas (PRP)**

Este estudo tem como objectivo identificar fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas nos Concentrados Plaquetários obtidos pelo Método de Plasma Rico em Plaquetas (PRP), sendo útil para alterar a prática, com impacto na melhoria da qualidade dos componentes obtidos no Serviço em estudo. Deste modo, para os procedimentos laboratoriais, a decorrer no Serviço de Sangue e Medicina Transfusional, iremos proceder, após assinatura voluntária e esclarecida do consentimento, à recolha de uma amostra num tubo de EDTA, no ato da colheita de sangue. As amostras colhidas aos componentes sanguíneos dessa dádiva serão recolhidas, tendo em consideração os parâmetros de Controlo de Qualidade Interno. Todos os participantes devem ter uma idade igual ou superior a 18 anos, bem como obedecer a todos os critérios de seleção de dadores de sangue. As amostras serão processadas para a realização do hemograma para a contagem de plaquetas do dador.

A participação neste projeto de investigação é voluntária e livre, sem custos associados. O participante tem o direito de recusar a qualquer instante a sua participação no estudo, sem que daí possam resultar quaisquer prejuízos e sem que seja comprometida a confidencialidade e privacidade dos dados obtidos até então. Toda a informação fornecida é confidencial e será utilizada apenas para responder aos objetivos descritos. A informação que permite a identificação do participante (nome, contactos) será codificada e arquivada no arquivo do Serviço de Sangue e Medicina Transfusional, do Hospital Dr. Nélio Mendonça-Funchal, separadamente da restante informação e só acessível ao investigador responsável. De acordo com as regras nacionais de proteção de dados, toda a informação recolhida poderá ser posteriormente modificada, atualizada ou retirada pelo participante / tutor legal, sendo o prazo de guarda dos dados de 30 anos.

Este estudo terá a duração de 6 meses e os resultados serão divulgados em formato de artigos científicos a serem publicados em revistas nacionais e internacionais com revisão de pares, congressos e encontros científicos nacionais e internacionais, sem nunca comprometer a confidencialidade dos participantes.

No final do estudo serão emitidas recomendações de acordo com os resultados obtidos.

O investigador responsável pelo tratamento dos dados e sua proteção é da Dr<sup>a</sup>. Armanda Serrão; e-mail: [114500@alunos.estesl.ipl.pt](mailto:114500@alunos.estesl.ipl.pt); telf. +351 291705752.

Assinatura do investigador responsável: \_\_\_\_\_

Funchal, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

## Identificação do participante

Nome: _____	Telefone: _____
Local de trabalho: _____	Correio eletrónico: _____
N.º de dador: FU _____	

	<b>Código do participante (número da colheita e n.º de dador)</b> _____	<b>Rubrica</b>
	Colocar a etiqueta do n.º de colheita. (a preencher pelo investigador)	
1	Li a informação ao participante “Informações para participantes” fornecido. Tive oportunidade de analisar as informações, de colocar as questões que julguei necessárias e de obter respostas satisfatórias.	
2	Tomei conhecimento de que a minha participação é voluntária e de que posso desistir em qualquer altura, sem necessidade de justificação e sem prejuízo para os meus direitos assistenciais ou legais. A equipa de investigação mantém o direito, contudo, de utilizar quaisquer amostras colhidas antes da desistência, de forma confidencial.	
3	Autorizo a equipa de investigação a transferir as minhas amostras e/ou dados pessoais, de forma codificada para proteger a minha identidade, com fim de as analisar.	
4	Autorizo a equipa de investigação a conservar as minhas amostras e dados pessoais para futuros estudos que receberam aprovação ética (Idade, sexo, grupo sanguíneo, contagem de número de plaquetas).	
5	Os meus dados de contacto podem ser conservados <u>exclusivamente</u> para esta finalidade e não serão divulgados a terceiros.	
6	Tenho conhecimento de que não receberei qualquer contrapartida financeira pela participação neste estudo.	
7	Fui informado de que receberei informações sobre os meus resultados. Além disso, quando o estudo estiver concluído, receberei o resumo dos resultados coletivos finais do estudo. Desejo receber o resumo por correio eletrónico/correio no seguinte endereço: _____	

Se concorda com a proposta que lhe foi feita, queira **assinar este documento**.

*Declaro ter lido e compreendido este documento, bem como as informações verbais que me foram fornecidas pela pessoa que acima assina e informado que tenho o direito de apresentar reclamação junto da Comissão Nacional de Proteção de Dados e que poderei pedir esclarecimentos e reclamar junto ao encarregado de Proteção de Dados do Instituto Politécnico de Lisboa, cujos contatos são: Encarregado de Proteção de Dados da ESTeSL/IPL: Nuno Pires Tel. +351 210 464 700/ +351 210 464 708; e-mail: [npires@net.ipl.pt](mailto:npires@net.ipl.pt).*

*Foi-me garantida a possibilidade de, em qualquer altura, recusar participar neste estudo sem qualquer tipo de consequências. Desta forma, aceito participar neste estudo e permito a utilização dos dados que de forma voluntária forneço, confiando em que apenas serão utilizados para esta investigação e nas garantias de confidencialidade e anonimato que me são dadas pelo investigador.*

Data: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_

Nome completo do participante:

---

Assinatura do participante:

---

Agradecemos a sua colaboração e estamos disponíveis para fornecer informação adicional ou eventuais dúvidas.

**Investigador Responsável:** Dra. Armanda Serrão | e-mail: [114500@alunos.estesl.ipl.pt](mailto:114500@alunos.estesl.ipl.pt). tel.. +351 291705752

**Orientador ESTESL:** Dra. Maria do Céu Leitão Tel.. +351 210 464 700/ +351 210 464 708 | e-mail: [mcleitao@estesl.ipl.pt](mailto:mcleitao@estesl.ipl.pt)

**Orientador ESTESL:** Dr. António Nunes Robalo Tel.. +351 210 464 700/ +351 210 464 708 | e-mail: [robalo.nunes@estesl.ipl.pt](mailto:robalo.nunes@estesl.ipl.pt)

Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

Serviço de Sangue e Medicina Transfusional – SESARAM, EPERAM

ESTE DOCUMENTO É COMPOSTO DE TRÊS PÁGINAS E FEITO EM DUPLICADO:

UMA VIA PARA O INVESTIGADOR, OUTRA PARA A PESSOA QUE CONSENTE

## **Apêndice II**

---

**Folheto informativo do projeto, distribuído aos doadores de sangue**



## PLAQUETAS

São pequenos fragmentos celulares anucleados de forma discoide, que se formam na medula óssea (MO) a partir da fragmentação do citoplasma dos megacariócitos.

As plaquetas atuam ao nível da regulação do tónus vascular, na resposta inflamatória, no sistema imunológico, na biologia tumoral e na trombose e hemóstase.

A transfusão de plaquetas pode ser profilática em doentes com trombocitopenia central secundária a patologia, terapêutica citotóxica ou radioterapia e sem hemorragia ativa, ou transfusão terapêutica se existir hemorragia atribuível.

### PERTINÊNCIA DO ESTUDO:

A implementação da utilização clínica de um produto sanguíneo de qualidade deve começar desde o início do procedimento, ou seja, na seleção de dadores, no ato da colheita de sangue total, na separação de componentes de acordo com método de separação utilizado (centrifugação, tipos de separação, separação automática) e cumprimento das regras de armazenamento e conservação.

Segundo o Conselho da Europa, que define as orientações para a preparação, uso e garantia de qualidade dos componentes sanguíneos, a contagem de plaquetas numa unidade de concentrado plaquetário obtido através de uma unidade de sangue total (pelo Método de Plasma Rico em Plaquetas) deverá conter  $60 \times 10^9$  plaquetas, sendo que no controlo de qualidade 90% das unidades de concentrados plaquetário testadas devem ter uma contagem de plaquetas igual ou superior.

Contudo, existem fatores que podem influenciar a contagem de plaquetas, nomeadamente:

- Seleção dos dadores de sangue (número de plaquetas do dador);
- Condições/tempo da colheita da unidade de sangue total;
- Armazenamento pré-processamento;
- Centrifugação do sangue total e dos componentes sanguíneos;
- Método de separação/processamento;
- Desleucocitação;
- Ressuspensão dos concentrados plaquetários;
- Condições de armazenamento dos concentrados plaquetários.

Torna-se necessário identificar os fatores suscetíveis de influenciar as plaquetas nos concentrados plaquetários por forma a otimizar procedimentos no Serviço de Sangue e Medicina Transfusional.

### OBJETIVO DO ESTUDO:

Identificar os fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas nos Concentrados Plaquetários obtidos pelo método PRP, tendo em consideração os parâmetros legais exigidos para este componente sanguíneo ( $60 \times 10^9$ /unidade de Concentrado Plaquetário).

### LOCAL DO ESTUDO

O estudo irá realizar-se no Serviço de Sangue e Medicina Transfusional (SSMT) do Serviço de Saúde da Região Autónoma da Madeira (SESARAM - E.P.E.) do Hospital Dr. Nélio Mendonça no Funchal.

## COMO PARTICIPAR NO ESTUDO?

- A participação no estudo é voluntária.
- O dador é livre de recusar participar ou que tem o direito de desistir do estudo em qualquer momento sem que isso implique qualquer perda de benefícios/cuidados de saúde a que tenha direito.

## COMO SE PROCESSA O ESTUDO?

- Obtenção do consentimento informado aos dadores que queiram participar no estudo.
- No ato da colheita de sangue total, será colhida uma amostra de sangue total em tubo hemograma que será utilizada para determinação do número de plaquetas do dador, a ser realizada no Laboratório de Hematologia do Laboratório de Patologia Clínica.
- Realização do hemograma nas amostras dos dadores que aceitaram participar no estudo.
- Análise e discussão dos resultados obtidos.
- Conclusões do estudo.

## QUAIS SÃO AS MAIS-VALIAS DESTES ESTUDO?

A identificação dos fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas no Concentrado Plaquetário, permitirá ao serviço, a introdução de um novo método de seleção de dadores baseado nos critérios de elegibilidade dos dadores do Instituto Português do Sangue e da Transplantação, mas também incluir os dados obtido neste estudo por forma a obter valor em saúde, nomeadamente nos doentes que necessitam de transfusão de concentrados plaquetários.

Deste modo, este estudo permitirá ao serviço rentabilizar o stock de CP, aumentar a eficácia transfusional dos CP e rentabilizar os recursos humanos e materiais no serviço e garantir a qualidade dos componentes sanguíneos.

### Dúvidas?

Qualquer dúvida e/ou esclarecimentos queira por favor contactar:

Investigador Responsável: Dra. Maria Armada Alves Serrão Menezes Telf. +351 291705752 | e-mail: [114500@alunos.estesl.ipl.pt](mailto:114500@alunos.estesl.ipl.pt)

**MUITO OBRIGADO!!!**

## Apêndice III

---

### Tabela de registo de resultados



## **Apêndice IV**

---

### **Parecer do Conselho de Ética (CE) da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (ESTeSL)**

**Referência interna do projeto: CE-ESTESL-Nº.32-2020**

REFERÊNCIA INTERNA DO PROJETO: CE-ESTeSL-Nº.32-2020 - Maria Armanda Alves Serrão Menezes

TÍTULO DO DE PROJETO: Fatores suscetíveis de influenciar a contagem de plaquetas nos Concentrados Plaquetários obtidos pelo Método de PRP

TIPO DE PROJETO/ESTUDO: Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais

INVESTIGADOR/A PRINCIPAL: Maria Armanda Alves Serrão Menezes

ORIENTADORES: Maria do Céu Leitão & António Robalo Nunes

INSTITUIÇÃO PROMOTORA: Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa/IPL

EQUIPA: na

INSTITUIÇÃO(ÕES) ENVOLVIDAS: Serviço de Saúde da Região Autónoma da Madeira (SESARAM)

RECEBIDO: 7 maio 2020

RESPOSTA CE: em 2020-06-24

RESPOSTA AO CE: 13 de janeiro de 2021

Exm<sup>a</sup>. Senhora Professora Maria do Céu Leitão

Exm<sup>o</sup> Senhor Professor António Robalo Nunes

Exm<sup>a</sup>. Senhora Dra. Maria Armanda Alves Serrão Menezes, estudante de mestrado

Após os esclarecimentos de 13 de janeiro de 2021 o Conselho de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (CE-ESTeSL) considerou que todas as questões anteriormente levantadas foram clarificadas. O CE aprovou por unanimidade a emissão de parecer favorável. Lembramos ainda que todos os estudos que envolvem a autorização dos participantes e a recolha de amostras e dados anonimizados e/ou codificados têm de cumprir com o estabelecido no Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados de 27 de abril de 2016.

Por último, solicita-se também que, ao abrigo do art<sup>o</sup> 19 da Lei 21/2014 de 16 de abril e do disposto no n<sup>o</sup>23 da atual versão da Declaração de Helsínquia, dê igualmente conhecimento ao Conselho de Ética da ESTeSL do relatório final com as conclusões do estudo, de eventuais alterações ao protocolo de investigação e demais informações tidas por relevantes.

Aproveitamos ainda para desejar o maior sucesso no desenvolvimento deste trabalho.

Com os melhores cumprimentos,

**Prof<sup>a</sup>. Coordenadora Helena Soares**

**Presidente do Conselho de Ética da ESTeSL**

Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

Av. D. João II, lote 4.69.01, 1990-096 Lisboa

Tel. 218 980 447; Fax. 218 980 460

## Apêndice V

---

**Parecer da Comissão de Ética para a Saúde e da Comissão Científica e de investigação do Serviço de Saúde da Região Autónoma da Madeira, EPERAM.**

C/Conhecimento  
Dr. Bruno Freitas

Exma. Senhora  
Dra. Maria Armanda Alves Menezes  
armandamiranda1@outlook.pt

Serviço de Saúde da RAM, EPERAM  
**SAÍDA**

Sua Referência:

Sua Comunicação:

Nº Ofício:

**S.21000628** 2021/01/26  
Classificação: 1.18

**Assunto: Projeto de Investigação: “Fatores susceptíveis de influenciar a contagem de plaquetas nos concentrados plaquetários obtidos pelo método de plasma risco em plaquetas (PRP)”**

Na sequência do vosso pedido de 30.06.2020, sobre o assunto mencionado em epígrafe, informamos Vossa Exa. que o pedido de autorização para a realização de estudo/projecto de investigação, mereceu parecer favorável da Comissão de Ética para a Saúde e da Comissão Científica e de Investigação do Serviço de Saúde da Região Autónoma da Madeira, EPERAM, os quais se anexam.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente do Conselho de Administração



Rafaela Fernandes

CA/S

## **Anticoagulante e conservantes/soluções aditivas**

- **Anticoagulante CPD**

CPD (citrato, dextrose e fosfato), o Citrato liga-se ao cálcio e previne a coagulação do sangue durante a colheita e durante o armazenamento, uma vez que interfere nas etapas dependentes de cálcio na cascata da coagulação. A dextrose é utilizada pelos eritrócitos durante o armazenamento, sendo que a dextrose ajuda a formação de ATP através da glicólise, e desta forma fornece os nutrientes que são necessários aos eritrócitos.

O fosfato, além de ser substrato para formação do 2,3-DPG, atua como um tampão ligando-se aos íons  $H^+$  produzidos durante a glicólise e impedindo a queda do pH que é o principal fator relacionado com a degradação do 2,3-DPG. Conseqüentemente, existe uma menor taxa de hemólise e uma maior viabilidade celular.

O anticoagulante CPD é mais comumente usado, muitas vezes com solução aditiva nos CE, pois mantém um pH alcalino e mantém os níveis de 2,3-DPG. Permite o tempo de armazenamento dos concentrados eritrocitários seja de 21 dias.

- **Conservante SAGM**

Solução aditiva composta por dextrose, adenina, manitol e solução salina, ao qual é adicionada aos concentrados eritrocitários, após a centrifugação e remoção do plasma, cuja finalidade é manter a energia e viabilidade dos eritrócitos durante o armazenamento, prolongando o tempo de armazenamento deste componente sanguíneo para 42 dias.

O manitol adicionado nessas soluções tem um importante efeito na prevenção da hemólise.

**Procedimento para a recolha de amostras de CE, PPP e CP de acordo com as instruções de trabalho utilizadas no SSMT**

## Procedimento adaptado das instruções de trabalho

**Para a recolha de amostras de controlo de qualidade dos componentes sanguíneos é necessário ter:**

Material:

- Sacos de transferência de 100 ml;
- Tesoura
- Tubos de EDTA para realização do hemograma
- Suportes

Equipamentos:

- Equipamento de conexões estéreis – (CompoDock - é um dispositivo de conexão de alta frequência, que permite a conexão estéril de dois tubos médicos em PVC estéreis de sacos contendo componentes sanguíneos)
- Selador de conexões

### ✓ **RECOLHA DE CE**

**Procedimento:**

- Homogeneizar o concentrado eritrocitário, esvaziando 3 a 4 vezes a tubuladura com o expressor manual e agitando suavemente o saco
- Fazer uma ligação da tubuladura do saco à tubuladura de um saco de transferência, previamente identificado com o nº de colheita e nº de dador, usando o aparelho de conexão estéril;
- Pendurar o saco do CE a analisar no carro de desleucocitação e por gravidade encher o saco de transferência (+/- metade do saco) e homogeneizar
- Inverter os sacos e repetir o mesmo procedimento entre 6 a 8 vezes, com o objetivo de homogeneizar a totalidade do CE;
- Recolher para o saco de transferência +/- 20 ml do CE a analisar (Isto permite fazer posteriormente repetição das análises, a partir do saco original, que se mantém conservado de acordo com as suas características, em local identificado para o efeito – Reservado para Controlo de Qualidade.

As amostras para a realização do controlo de qualidade serão efetuadas do saco de transferência, mantendo assim o CE em sistema fechado.

- Retirar amostra do saco de transferência para o tubo com EDTA e identificar a amostra.

## ✓ **RECOLHA DE CP**

### **Procedimento:**

- Homogeneizar o CP, esvaziando 3 a 4 vezes a tubuladura com o expressor manual e agitando suavemente o saco
- Fazer uma ligação da tubuladura do saco à tubuladura de um saco de transferência, previamente identificado com o nº de colheita e nº de dador, usando o aparelho de conexão estéril;
- Pendurar o saco do CP a analisar no carro de desleucocitação e por gravidade encher o saco de transferência (+/- metade do saco) e homogeneizar;
- Inverter os sacos e repetir o mesmo procedimento entre 6 a 8 vezes, com o objetivo de homogeneizar a totalidade do CP;
- Recolher para o saco de transferência  $\pm$  10 ml do CE a analisar (Isto permite fazer posteriormente repetição das análises, a partir do saco original, que se mantém conservado de acordo com as suas características, em local identificado para o efeito – Reservado para Controlo de Qualidade.

As amostras para a realização do controlo de qualidade serão efetuadas do saco de transferência, mantendo assim o CE em sistema fechado.

- Retirar amostra do saco transferência para o tubo com EDTA e identificar a amostra.

## ✓ **RECOLHA DE PFC/PPP**

### **Procedimento:**

- Homogeneizar o PFC, esvaziando 3 a 4 vezes a tubuladura com o expressor manual e agitando suavemente o saco.
- As amostras para a realização do controlo de qualidade serão efetuadas a partir do saco de PFC, no qual através de uma tesoura cortar a tubuladura e transferir 3 ml para o tubo com EDTA.
- Selar a tubuladura e reservar o PFC para eventuais repetições.

Todas as amostras de CE, CP e PFC e enviar para o laboratório de Patologia Clínica – laboratório de hematologia, **devendo ser** agitadas pelos menos durante 5 minutos e processadas imediatamente.