

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E  
TOXICOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA  
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO  
CEARÁ (HEMOCE)**

**CONTROLE DE QUALIDADE DE CONCENTRADOS DE  
PLAQUETAS OBTIDOS POR BUFFY-COAT**

**Lêda Ferreira Gomes M. Carneiro**

**Fortaleza  
2003**

11 VÂNIA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E  
TOXICOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA  
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO  
CEARÁ (HEMOCE)**

**CONTROLE DE QUALIDADE DE CONCENTRADO DE  
PLAQUETAS OBTIDO POR BUFFY-COAT**

**Lêda Ferreira Gomes M. Carneiro**

Monografia apresentada ao  
Curso de Especialização em  
Hematologia e Hemoterapia  
da Universidade Federal do  
Ceará como requisito para  
obtenção do título de  
Especialista.

**Fortaleza  
2003**

CONTROLE DE QUALIDADE DE CONCENTRADOS DE  
PLAQUETAS OBTIDOS POR BUFFY-COAT

Lêda Ferreira Gomes M. Carneiro

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Orientador:

---

Marcus Antônio Martins da Silva

\*Farmacêutica-Bioquímica- Aluna do curso de Especialização em  
Hematologia e Hemoterapia.

\*\*Farmacêutico-Bioquímico- Chefe do setor de Controle de  
Qualidade do HEMOCE.

## SUMÁRIO

Resumo	
1. Introdução.....	01
2. Objetivos.....	03
3. Materiais e Métodos.....	04
4. Resultados.....	08
5. Discussão.....	10
6. Conclusão.....	11
7. Referências Bibliográficas.....	12

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Aos meus pais, pela compreensão, e por acreditarem e investirem na minha profissão.

Aos meus irmãos, pela força e carinho.

Ao meu namorado, Janderson Alves Gifoni, pelos conselhos e carinho de sempre.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao término desse trabalho, agradeço a todos que me ajudaram direta ou indiretamente na elaboração desta monografia, obstáculos foram vencidos, dificuldades foram superadas.

Agradeço a DEUS, pelo espírito de luz, e por tudo que consegui até hoje.

À Dra. Vânia Barreto A.F. Gomes e a Dra. Alana Jocelina Montenegro de Castro, meus sinceros agradecimentos.

Ao Dr. Marcus Antônio Martins da Silva, pela orientação na realização deste.

Aos amigos do curso, cujas sugestões e críticas construtivas, tanto me incentivaram.

A todos os profissionais do HEMOCE, que no decorrer do curso, tanto me ajudou e ensinou.

A todos, dizer-lhes muito obrigado, é pouco diante do muito que recebi.

## **RESUMO**

No presente trabalho, foram utilizados 70 amostras de concentrados de plaquetas obtidas por buffy-coat, processadas no centro de hematologia e hemoterapia do Ceará (HEMOCE). No que diz respeito a análise qualitativa e quantitativa desse método utilizado de plaquetas, levando-se em conta principalmente, a contagem de plaquetas, a contagem de leucócitos, o ph, e o volume de cada concentrado, foi constatada a eficácia do método em estudo, que gera produtos leucodepletados, tendo assim um produto final de alta qualidade.

## 1 - INTRODUÇÃO

O concentrado de plaquetas pode ser obtido por doação convencional ou por buffy-coat. É obtido até 4 horas após a coleta de sangue fresco de vários doadores, a partir da centrifugação do plasma. O buffy-coat implica em técnicas e equipamentos especiais para a obtenção do concentrado de plaquetas. Independente do método de preparo, o concentrado de plaquetas contém alguns leucócitos, hemácias, em pequenas concentrações. O volume do concentrado é de aproximadamente 50 ml, por buffy-coat pode-se obter até 300 ml. O armazenamento ideal deve ser por um máximo de 72 horas, à temperatura de 22°C, mantendo uma agitação suave, contínua e adequada. As plaquetas também podem ser estocadas a 4°C, com sobrevida pós-transfusional curta, apesar de mais efetiva.<sup>(5,7,15,10,8)</sup>

Concentrados de plaquetas de melhor qualidade com uma contaminação de leucócitos menor podem ser obtidos a partir de doações de rotina de sangue total que são processados a partir do buffy-coat utilizando-se o sistema Top and Bottom (BAT). Nesse processamento, os buffy-coat são conectados entre si em sistema fechado e, posteriormente, processados para originar concentrados de plaquetas de alta qualidade.<sup>(2)</sup>

Atualmente, é bem conhecida que as preparações de concentrados de plaquetas devem apresentar baixa contaminação de leucócitos, pois as reações febris, aloimunização e refratariedade de origem imunológica estão correlacionadas com o grau de contaminação leucocitária dos hemocomponentes transfundidos.<sup>(1)</sup>

Tais concentrados de plaquetas, preparados a partir de um pool de quatro a cinco buffy-coats são capazes de assegurar uma dose terapêutica de  $30-50 \times 10^{10}$  plaquetas.<sup>(1)</sup>

O risco de transmissão viral para um paciente recebendo uma transfusão de plaquetas é diretamente proporcional ao número de doadores para o qual o receptor é exposto durante a transfusão. Portanto, quanto maior o rendimento do método de preparação de plaquetas, menor o risco de transmissão viral. Baseado nesta premissa, o risco de transmissão viral por transfusão de plaquetas é geralmente maior para outros métodos do que para o buffy-coat.<sup>(1,13,14)</sup>

Os leucócitos que permanecem nos concentrados de plaquetas, também podem ser responsáveis pelos calafrios e febres que apresentam em muitos pacientes durante uma transfusão de plaquetas.<sup>(7)</sup>

A indicação para transfusão de concentrados de plaquetas, deverá levar em conta, o estado clínico, as causas trombocitopênicas, a contagem plaquetária, e a capacidade funcional das próprias plaquetas do paciente.<sup>(2)</sup>

As indicações do concentrado de plaquetas são: sangramento significativo devido a trombocitopenia ou trombocitopatia em pacientes com contagem de plaquetas abaixo de  $10.000/\text{mm}^3$ . Concentrados de plaquetas não devem ser ministrados quando a contagem de plaqueta está entre  $10.000$  e  $20.000/\text{mm}^3$  ou para reduzir a incidência de sangramento apesar de ser evidente o risco de hemorragia; a sua administração profilática contribui para a aloimunização dos receptores.<sup>(13,3,7)</sup>

O controle de qualidade dos hemocomponentes é obrigatório pela legislação brasileira. Isso se faz necessário para garantir que os componentes sanguíneos estejam de acordo com as especificações técnicas requeridas e sejam eficazes terapeuticamente.<sup>(13,6)</sup>

Cabe ao controle de qualidade a monitoração do processo, através de uma amostragem aleatória dos produtos finais, fazendo a comprovação da conformidade ou da não conformidade às especificações previamente estabelecidas.<sup>(2)</sup>

Os problemas indesejáveis do uso de concentrado de plaquetas são a transmissão de doenças de enxerto versus hospedeiros, reações transfusionais, aloimunização por antígenos do sistema HLA (antígeno leucocitário humano), aloimunização por antígenos, de células vermelhas, aloimunização por antígenos específicos da plaqueta, púrpura pós-transfusional e granulocitopenia.<sup>(13)</sup>

## **2 - OBJETIVO**

Como objetivo deste trabalho, propomo-nos apresentar e avaliar os resultados referentes ao estudo de controle de qualidade de concentrado de plaquetas obtido por buffy-coat.

### 3 - MATERIAIS E MÉTODOS

Com o objetivo de avaliar quantitativamente e qualitativamente concentrados de plaquetas obtidos por buffy-coat, foram analisados 70 bolsas processados pelo centro de hematologia e hemoterapia do estado do Ceará (HEMOCE), no período de Agosto à Março do ano de 2002/2003.

As plaquetas e leucócitos de cada amostra foram analisados no Abx micro-60.

#### ➤ **Material Necessário:**

- Amostras: sangue total colhido em bolsa tripla Top and Botom com menos de 08 horas de coleta;
- Centrífuga refrigerada;
- Selador de bolsa;
- Pinças plásticas;
- Aparelho automatizado (Compomat);
- Luvas;
- Aventais;
- Bolsas transferência de 600 ml dupla para plaquetas de 5 dias;
- Aparelho de conexão estéril (SCD ou Compodock);
- Balança digital;
- Caçapas.

#### ➤ **Procedimento:**

##### ⇨ Preparação do Buffy-coat (BC):

- Centrifugar o sangue total utilizando o programa 4;
- Após a centrifugação, retirar a bolsa cuidadosamente da centrífuga e levar ao Compomat, evitando qualquer tipo de agitação para não desfazer a sedimentação;
- Processar a separação de 70% das bolsas no Compomat, utilizando o programa 3 (para obtenção de volume de 45 ml de BC, sem plasma);

- Processar a separação dos 30% restantes no Compomat, utilizando o programa 4 (para obtenção de volume de 45 ml de BC, mantendo a conexão com a bolsa de plasma);
- Manter o tubo de transferência das bolsas de BC com plasma fechado, utilizando pinça plástica;
- Após a liberação da sorologia, manter o BC overnight a + 22°C, em repouso.

⇒ Preparação do Pool de BC:

- Homogeneizar com o auxílio do agitador de plaquetas por 1 hora as unidades de BC;
- Reconferir a liberação de sorologia de todas as unidades de BC;
- Checar o resultado de hemolisina das bolsas O<sup>+</sup>;
- Conectar de três a quatro bolsas de BC sem plasma do mesmo grupo ABO a uma bolsa de BC com plasma (formando um conjuntivo de quatro ou cinco bolsas de BC);
- Suspender o conjunto no suporte pela bolsa de plasma;
- Pinçar com pinça plástica o tubo de transferência entre o primeiro e o segundo BC;
- Aguardar a transferência do “BC” para as bolsas inferiores;
- Abrir a pinça, deixando fluir o plasma para as bolsas uma a uma controlando o fluxo. Deixar aproximadamente 10 ml de plasma na bolsa. Pinçar em seguida;
- Inverter o conjunto, suspendendo-o novamente, deixando escoar para a bolsa TAB que está conectada a bolsa de plasma;
- Selar separando as bolsas vazias, de forma a permanecerem ligadas apenas as duas primeiras bolsas.

⇒ Centrifugação do Pool:

- Na caçapa da centrífuga, colocar a bolsa com pool, com auxílio de contrapeso ou bolsas acessórios, de maneira que a mesma permaneça em pé na caçapa durante todo o processo de centrifugação;
- Lavar a região do break-off que une a bolsa ao equipo com os 10 ml de plasma deixados na bolsa original, dobra-la e inserir na caçapa ao lado da bolsa com o pool;
- Centrifugar utilizando programa 5;
- Após a centrifugação, retirar a bolsa cuidadosamente da centrífuga e levar ao Compomat, evitando qualquer tipo de agitação para não desfazer a sedimentação;
- Com o auxílio do programa 6, no Compomat, remover o PRP para a bolsa de plasma;
- Selar o tubo de transferência, separar e descartar a bolsa com os resíduos de hemácias e leucócitos;
- Conectar (conexão estéril) uma bolsa de transferência dupla de plaquetas de 5 dias;
- Transferir o pool para as mesmas, retirando o ar para a bolsa de plasma (acessória);
- Pesar na balança digital. Descontar 30g por cada bolsa acessória (60g).
- Identificar o Pool de plaquetas com suas respectivas etiquetas de liberação e data de validade, usando para isso, a atividade Procedimento para hemocomponentes;
- Antes da liberação para transfusão remover o pool para uma única bolsa rotulada e retirar o ar para os demais.

⇒ Armazenamento e estabilidade:

- As plaquetas devem ser armazenadas sob condições que garantam a ótima preservação da viabilidade e atividade hemostática. Plaquetas que irão ser armazenadas por um período maior que 24 horas devem ser coletadas e em um sistema fechado de bolsas múltiplas.

- O plástico da bolsa para armazenamento de plaquetas deve ser suficientemente permeável a gases e deve garantir o suprimento de oxigênio para as plaquetas. A quantidade de oxigênio necessária é dependente da concentração de plaquetas e leucócitos na unidade.
- Temperatura:  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- O volume de plasma ou o meio específico de armazenamento deve ser suficientemente garantir que o pH do hemocomponente plaquetário permaneça continuamente entre 6,0 e 7,4 sob as condições de armazenamento utilizadas.
- A agitação durante o armazenamento deve ser suficientemente eficiente para garantir o suprimento de oxigênio, mas deve ser o mais gentil possível.
- A viabilidade das plaquetas é preservada até 7 dias sob condições ótimas. Entretanto, atualmente não se recomenda mais que 5 dias de armazenamento.

#### 4 – RESULTADOS

Os resultados obtidos das 70 bolsas de Concentrado de Plaquetas obtidos por Buffy-coat foram os seguintes:

O volume médio das 70 bolsas estudadas foi de  $362,4 \pm 29,4$  ml que corresponde a volumes normais. Em relação à contagem de plaquetas 25,7% que corresponde a 18 bolsas apresentaram contagem de plaquetas menor que  $3,3 \times 10^{11}$ .

Analisando o Hematócrito dos concentrados de plaquetas, 2,8% que correspondem a 2 bolsas apresentaram hematócrito maior que 1%.

No pH das 70 bolsas, 1,4% que corresponde a uma bolsa apresentou pH maior do que 7,4.

Em relação a contagem de leucócitos, 10% das bolsas estudadas apresentou a contagem de leucócitos maior do que o esperado.

A Tabela 01 mostra todos esses parâmetros analisados.

**TABELA 1: VALORES AVALIADOS NOS CONCENTRADOS DE PLAQUETAS OBTIDOS POR BUFFY-COAT.**

Parâmetros Avaliados	Parâmetros Encontrados Média ± Desvio N = 70	Parâmetro Recomendado	% de Componentes Não Conformes
Volume, mL	362,4 ± 29,4	> 321 mL	0
Contagem leucócitos/bolsa	de $7,8 \times 10^7 \pm 6,7 \times 10^7$	$(0,8 \text{ a } 8,4) \times 10^7$	10,0% (07 bolsas)
Contagem plaquetas/bolsa	de $3,7 \times 10^{11} \pm 1,3 \times 10^{11}$	$3,3 \times 10^{11}$	25,7% (18 bolsas)
Ht (%)	0,3 ± 0,2	< 1	4,2% (03 bolsas)
H	6,9 ± 0,04	6,5 a 7,4	1,4% (01 bolsa)
Análise Microbiológica	Estéril	Estéril	0

\*Os Valores estão expressos com a média ± desvio padrão da média.

## 5 – DISCUSSÃO

Quanto à análise qualitativa e quantitativa, do método de concentrado de plaquetas obtidos por Buffy-coat, levando-se em conta principalmente, a contagem de leucócitos, a contagem de plaquetas, o pH e o hematócrito foram observados a eficácia desse método que gera produtos leucodepletados, de alta qualidade.

Concentrados de plaquetas derivados do Pool de Buffy-coat, onde inicialmente o sangue total é processado no sistema top and bottom, possuem níveis de leucócitos bastante reduzidos ( $< 10^7$  leucócitos) e, portanto, apresentam níveis de citocinas praticamente ausentes. Esse processo é longamente empregado na Europa e os resultados mostram uma incidência menor de reações febris do que as PRP-PLQ (2,9 VS 18,8%), respectivamente.<sup>(1)</sup>

Foi constatado neste trabalho, que 25,7% referentes a 18 bolsas, apresentaram concentrados de plaquetas inferior a  $3,3 \times 10^{11}$ .

Analisando o hematócrito, observou-se que 4,2%, referentes a 3 bolsas, das 70 bolsas estudadas, apresentaram hematócrito maior que 1%. Em relação ao pH, foi observado a porcentagem de 1,4% correspondente a 1 bolsa, no qual apresentaram pH maior que 7,4.

E por fim, na análise dos leucócitos, 10% das bolsas estudadas que correspondem a 7 bolsas, apresentaram concentrados de leucócitos maior que o esperado, com volume normal de 350 ml.

Concentrados de plaqueta de melhor qualidade, com uma contaminação de leucócitos menor podem ser obtidos, pelo fracionamento sangüíneo baseado na extração prévia da capa leucoplaquetária (Buffy-coat), se fundamenta na centrifugação de alta rotação da unidade de sangue total (ST), permitindo uma definição clara entre as diferentes interfases. Inicialmente se separa em plasma, hemácias e a capa leucoplaquetária (Buffy-coat), estes são conectados entre si em sistema fechado e, posteriormente, processados para originar concentrados de plaqueta de alta qualidade.<sup>(1,10,12)</sup>

Os centros que preparam esse método deve avaliar pelo menos 4 unidades de concentrados de plaquetas mensais.<sup>(15,12)</sup> O controle de qualidade dos hemocomponentes é obrigatório pela legislação brasileira.<sup>(10)</sup> Isso se faz necessário para garantir que os componentes sanguíneos estejam de acordo com as especificações técnicas requeridas, e sejam eficazes terapêuticamente.<sup>(10,11,12)</sup>

## **6 - CONCLUSÃO**

Com base em todo esse estudo, concluímos que os concentrados de plaquetas obtidos por buffy-coat, tem proporcionado alternativas viáveis a pacientes que necessitam de concentrados de plaquetas, pois são de alta qualidade e tem proporcionado tratamentos mais eficientes e seguro aos enfermos que precisam desse tipo essencial de suporte terapêutico.

## 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. OMOTO, R. *NewsLab*, 30, 144-146, 1998.
02. BRASIL. Ministério da Saúde. *Revista de Medicina Transfusional. Controle de Qualidade dos Concentrados Plaquetários Experiência de um ano no Centro Regional de Sangue de Coimbra*. Nº 06, p. 24-27, Brasília, 2001.
03. Office of medical applications of research; national conference on platelet transfusion therapy. *Jama*, vol. 257 p. 1777-80, 1987.
04. SLICHTER, S. J.; *Am. Revista Med.*, vol. 31, p. 509-40, 1980.
05. MURPHY, S. SAYAR, S. N., GARDENER, F. H., *Blood*, vol. 35, p. 549-53, 1970.
06. LORENZI, T. F. *Manual de Hematologia: Propedêutica Clínica*. 2 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, p.1-216, 1999.
07. Associação Americana de Bancos de Sangue. *Manual Técnico*. 10ª ed., 1990.
08. Ministério da saúde. Coordenação de Sangue e Hemoderivados. *Preparação de Hemocomponentes*. Brasília, p. 92, 1998.
09. HUGHES, V.S., WRIGHT, P.A. Donor Selection and Component Preparation. In: *Modern Blood Banking and Transfusion Practices*. 4ª ed. Philadelphia: F.A. Davis Company, 1999.
10. FERREIRA, T. M.; AMORIM FILHO, L. Preparação de Componentes Sangüíneos. In: *Textos de Apoio de Hemoterapia*, Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, v. II, cap. 8, p. 15-40, 2000.

10. FERREIRA, T. M.; AMORIM FILHO, L. Preparação de Componentes Sangüíneos. In: **Textos de Apoio de Hemoterapia**, Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, v. II, cap. 8, p. 15-40, 2000.
11. BUCHIGNANI, M. R.; DEFFUNE, E.; MASTRANJO, G. C., ET AL. **Controle de Qualidade de Concentrado de Plaquetas**. Revista Brasileira de Análise Clínica, v.30, n. 3, p. 137-40, 1998.
12. VARGAS, L. P.; KLAFKE, A.; BORDIN, R. Avaliação da eficácia das Transfusões de concentrados de plaquetas nos serviços de Hematologia e hemoterapia do hospital das clínicas de Porto Alegre. **Bol. Soc. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 15, n. 162, p. 9-13, 1993.
13. Princípios de Hematologia e hemoterapia: [www.perflin.com/curso-sangue/sangue14.html](http://www.perflin.com/curso-sangue/sangue14.html).
14. WRIGHT, P.A. Seleção do Doador e Preparação do componente. In: **Técnicas Modernas em banco de sangue e transfusão**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, cap. 10, p. 205, 1992.
15. ANDREU, G.; BIDET, J. M.; GENETED, G.; **Guia de Hemoterapia Prática**. São Paulo: Atheneu, p. 389-409, 1992.
16. GAYDOS, L. A.; FERREIREICH, E.F.; MANTEL, N. N. **Eng. J. Méd.**, vol. 166, p. 905-09, 1962.
17. CHIATTONE, C. S.; CANADO, R. D. Plaquetas: quando transfundir? **Bol. Soc. Bras. Hematol. Hemoter.** v. 15, n. 162, p. 1-2, 1993.
18. GARCIA, M. A. S. Componentes sangüíneos. In: **Manual de Medicina Transfusional**. Barcelona: Mosby/ Doyma libros, cap. 3, p. 37-76, 1994.

19. HOLME, S. Et al. **Blood**, vol. 52, p. 425-431, 1978.

20. FLORENSA, L.; WOESNNER, S. **Hematologia Clínica**, cap. 3, p. 72, 1995.