

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO**  
**Curso de Biomedicina**

**Isabela Gabrieli Ventura Seco**  
**Julia de Santana Nascimento**

**DISSEMINAÇÃO DE PATÓGENOS POR MEIO DE TRANSFUÇÃO SANGUÍNEA –  
COMO DETECTAR E PREVENIR**

**São Paulo**  
**2023**

**Isabela Gabrieli Ventura Seco  
Julia de Santana Nascimento**

**DISSEMINAÇÃO DE PATÓGENOS POR MEIO DE TRANSFUÇÃO SANGUÍNEA –  
COMO DETECTAR E PREVENIR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Profa. Dra. Juliana Vieira dos Santos Bianchi, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**São Paulo  
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo**

Seco, Isabela Gabrieli Ventura

Disseminação de patógenos por meio de transfusão sanguínea – como detectar e prevenir / Isabela Gabrieli Ventura Seco, Julia de Santana Nascimento. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.

50 p.

Orientação de Juliana Vieira dos Santos Bianchi.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Hemocomponentes 2. Infecções bacterianas 3. Noxas 4. Plasma rico em plaquetas 5. Transfusão de sangue I. Nascimento, Julia de Santana II. Bianchi, Juliana Vieira dos Santos III. Centro Universitário São Camilo IV. Título

CDD: 615.65

**Isabela Gabrieli Ventura Seco**

**Julia de Santana Nascimento**

**DISSEMINAÇÃO DE PATÓGENOS POR MEIO DE TRANSFUÇÃO SANGUÍNEA –  
COMO DETECTAR E PREVENIR**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dra Juliana Vieira dos Santos Bianchi**

**São Paulo**

**2023**

## **DEDICATÓRIA**

Dedicamos este trabalho à todas as pessoas que vieram à óbito ou tiveram a saúde afetada devido a uma sepse pós transfusional, e a aqueles que lutam pela vida durante a espera de uma transfusão, correndo o risco de serem contaminados por bactérias que poderiam ter sido previamente identificadas.

## **AGRADECIMENTOS – ISABELA**

Agradeço imensamente aos meus pais, por sempre fazerem o possível e o impossível para que eu tivesse tudo do melhor sempre, e por sempre acreditarem no meu potencial. Aos meus familiares por toda a preocupação e torcida pelo meu sucesso. Aos meus amigos pelo apoio e incentivo que me proporcionaram, em especial à minha dupla Julia, por todo o companheirismo e que foi essencial para que todo esse processo desse certo. Também aos professores por todo o conhecimento e aprendizado, e à faculdade por me permitir viver experiências que com toda a certeza vão ser muito importantes para a minha vida profissional.

## **AGRADECIMENTOS - JULIA**

Não há palavras que descrevam a quão agradecida estou por todo suporte que meus pais me proporcionaram desde o início da vida acadêmica até minha formação, obrigada por sempre estarem comigo e desejando meu melhor. Agradeço também aos meus queridos amigos que, junto a mim, também completaram mais uma fase importante em nossas vidas. Aos meus familiares, agradeço por todas as palavras de carinho e incentivo ao longo da graduação e aos professores por se dedicarem ao máximo em ajudar na minha aprendizagem. Por fim, gostaria de agradecer imensamente a minha dupla Isabela por todo o apoio e dedicação por nosso trabalho, além de sempre estar comigo em diversas experiências que a faculdade nos proporcionou.

## RESUMO

A transfusão sanguínea é a transferência de sangue, ou de um de seus componentes, de um doador para um receptor, e trata-se de um tratamento eficiente para diversas condições clínicas relacionadas a uma diminuição crítica do número de hemácias circulantes que não pode ser resposto pelo próprio organismo. Porém, uma grande problemática que deve receber atenção é o fato de o sangue alogênico ser uma fonte potencial de infecção por diferentes agentes patogênicos transmissíveis. Nesse processo, o modo e o período de armazenamento representam grandes influências tanto sobre a integridade dos hemocomponentes, quanto sobre o risco de disseminação desses patógenos. Assim, para garantir a maior segurança possível desse procedimento, alguns testes sorológicos e imuno-hematológicos são realizados em todas as amostras doadas. Contudo, testes como hemocultura para identificação da presença de patógenos bacterianos não são realizados em toda a rotina de doação, e algumas bactérias de importância clínica acabam passando despercebidas. A maior ocorrência de contaminação por esses microrganismos se dá em concentrados de plaquetas, uma vez que estes permanecem armazenados em temperatura ambiente, favorecendo assim o crescimento bacteriano. Diante disso, diversos métodos de detecção vêm sendo desenvolvidos, assim como meios de tratamento de hemocomponentes já contaminados também estão sendo cada vez mais utilizados. No tempo presente, um novo método baseado na irradiação UVC tem demonstrado uma grande eficiência no processo de transformar, principalmente concentrados de plaquetas e plasmas, em componentes apirogênicos. O objetivo do presente trabalho é apresentar as taxas de incidência de contaminação bacteriana e viral em componentes sanguíneos, e assim avaliar o desempenho e funcionamento dos métodos citados, em conjunto com potenciais técnicas de inativação, para melhor entendimento de como evitar e eliminar essa problemática.

**Palavras-chave:** transfusão de sangue, hemocomponentes, concentrados de plaquetas, redução de patógenos e contaminação bacteriana.



## **ABSTRACT**

Blood transfusion is the transfer of blood, or one of its components, from a donor to a recipient, and is an effective treatment for various clinical conditions related to a critical decrease in the number of circulating red blood cells that cannot be replaced by the body itself. However, a major problem that needs to be addressed is the fact that allogeneic blood is a potential source of infection by various transmissible pathogens. In this process, the method and period of storage have a major influence on both the integrity of the blood components and the risk of spreading these pathogens. Therefore, in order to guarantee the greatest possible safety in this procedure, some serological and immunohematological tests are carried out on all donated samples. However, tests such as blood cultures to identify the presence of bacterial pathogens are not carried out in all routine donations, and some clinically important bacteria end up going unnoticed. The greatest contamination by these microorganisms occurs in platelet concentrates, since they are stored at room temperature, thus favoring bacterial growth. In view of this, various detection methods have been developed, and means of treating already contaminated blood components are also being increasingly used. At present, a new method based on UVC irradiation has shown great efficiency in the process of transforming mainly platelet concentrates and plasmas into apyrogenic components. The aim of this work is to present the incidence rates of bacterial and viral contamination in blood components, and thus evaluate the performance and functioning of the methods mentioned, in conjunction with potential inactivation techniques, in order to better understand how to avoid and eliminate this problem.

**Keywords: Blood transfusion, blood components, platelet concentrates, reduction of pathogens and bacterial contamination.**

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Escala de obtenção dos hemocomponentes e hemoderivados originados a partir do sangue total.....	22
Figura 2 - Taxa de contaminação bacteriana obtida por meio do uso do dispositivo de desvio inicial da amostra (ISDD) e do procedimento padrão de flebotomia.....	28
Figura 3 - Listagem das principais bactérias Gram positivas causadoras de contaminação plaquetária.....	30
Figura 4 – Listagem das principais bactérias Gram negativas causadoras de contaminação plaquetária.....	31
Figura 5 - Representação do método eBDs.....	36
Figura 6 - Representação esquemática do método S-303 PRT para glóbulos vermelhos.....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das soluções preservativas/aditivas.....	21
Tabela 2 - Estimativa atual do risco relativo de infecções virais transmitidas por transfusão.....	29
Tabela 3 - Estimativa atual do risco relativo de infecções bacterianas transmitidas por transfusão.....	30
Tabela 4 - Testes sorológicos realizados para cada doença da regulamentação técnica vigente.....	32

## LISTA DE SIGLAS

AABB – Associação Americana de Banco de Sangue  
ACD – Adenina-Citrato-Dextrose  
ANH – Hemodiluição Normovolêmica Aguda  
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
ATP – Adenosina Trifosfato  
CH – Concentrado de Hemácias  
CMV - Citomegalovírus  
CP – Concentrado de Plaquetas  
CRIO - Crioprecipitado  
CPD – Citrato-Fosfato-Dextrose  
CPDA – Citrato-Fosfato-Dextrose-Adenina  
CPDs – Dímeros de Ciclobutano Pirimidina  
DENV – Vírus da Dengue  
DNA – Ácido Desoxirribonucleico  
EUA – Estados Unidos da América  
FDA – Administração de Comidas e Medicamentos  
FRALE – Efetor de Ligante Frangível  
HBsAg – Antígeno da Hepatite B  
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana  
HTLV – Vírus T-linfotrópico Humano  
ID-NAT – Teste de Ácido Nucleico de Doador Individual  
ISDD – Dispositivo de Desvio de Amostra Inicial  
LFD – Vareta de Fluxo Lateral  
LPS – Lipopolissacarídeo  
LTA – Ácido Lipoteicóico  
NAT – Teste de Ácido Nucleico  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
PBM – Manejo do Sangue do Paciente  
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase  
PFC – Plasma Fresco Congelado  
PRT – Tecnologia de Redução de Patógenos  
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RNA – Ácido Ribonucleico

RT-PCR – Transcrição Reversa Seguida de Reação em Cadeia da Polimerase

SAGM – Salina-Adenina-Glicose-Manitol

STR – Sangue Total Reconstituído

TTIB – Doenças Infecciosas Transmitidas por Transfusão

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UV – Ultravioleta

UVA – Ultravioleta A

UVB – Ultravioleta B

UVC – Ultravioleta C

VHB – Vírus da Hepatite B

VHC – Vírus da Hepatite C

WNV – Vírus do Nilo Ocidental

ZIKV – Zika Vírus

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVO</b> .....	<b>17</b>
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	<b>18</b>
<b>4. DESENVOLVIMENTO</b> .....	<b>19</b>
<b>4.1 FLEBOTOMIA DE HEMOCOMPONENTES</b> .....	<b>19</b>
<b>4.2 PROCESSAMENTO DE HEMOCOMPONENTES</b> .....	<b>20</b>
<b>4.2.1 Sangue Total</b> .....	<b>20</b>
<b>4.2.2 Armazenamento de Hemocomponentes</b> .....	<b>22</b>
<b>4.3 ESTIMATIVA DE CONTAMINAÇÃO, PROBLEMÁTICAS E POSSÍVEIS SOLUÇÕES</b> .....	<b>23</b>
<b>4.3.1 O impacto de Cenários Endêmicos e Pandêmicos nos Bancos de Sangue</b> .....	<b>24</b>
<b>4.4 FONTES DE CONTAMINAÇÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>4.5 INCIDÊNCIA DE TRANSMISSÃO VIRAL</b> .....	<b>28</b>
<b>4.6 INCIDÊNCIA DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA</b> .....	<b>29</b>
<b>4.7 BACTÉRIAS IMPORTANTES NA CONTAMINAÇÃO DE PLAQUETAS</b> .....	<b>30</b>
<b>4.8 TESTES SOROLÓGICOS REALIZADOS NOS DOADORES</b> .....	<b>31</b>
<b>4.8.1 Sobre o método NAT</b> .....	<b>32</b>
<b>4.9 MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA</b> .....	<b>33</b>
<b>4.9.1 BacT/ ALERT</b> .....	<b>34</b>
<b>4.9.2 eBDS</b> .....	<b>35</b>
<b>4.9.3 PGD</b> .....	<b>36</b>
<b>4.9.4 Comparação dos métodos de detecção</b> .....	<b>37</b>
<b>4.10 MÉTODOS EM DESENVOLVIMENTO</b> .....	<b>38</b>
<b>4.11 TRATAMENTO PARA INATIVAÇÃO DE MICRORGANISMOS</b> .....	<b>40</b>
<b>4.11.1 Irradiação UVC de Concentrado de Plaqueta e Plasma</b> .....	<b>40</b>
<b>4.11.2 O Sistema S – 303 PRT para Sangue Total</b> .....	<b>42</b>
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>45</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A transfusão sanguínea é um dos procedimentos mais indicados no mundo para realização do tratamento de anemias sintomáticas, perda sanguínea aguda e diversas outras condições clínicas associadas a uma redução no número absoluto de hemácias circulantes (GARCÍA-Roa et al., 2017).

Atualmente, a coleta, o armazenamento e o tratamento dos hemocomponentes presentes nas bolsas de sangue têm sido uma preocupação para a realização de uma transfusão sanguínea segura, uma vez que hemácias armazenadas de doadores não são um produto qualitativo idêntico, e o tempo de armazenamento influencia na integridade desses eritrócitos. Além disso, o sangue alogênico utilizado para transfusão é uma fonte potencial de infecção por uma variedade de agentes transmissíveis, conhecidos e desconhecidos (BRECHER; HAY, 2005).

Para minimizar os riscos de transmissão de patógenos por meio de transfusão, o Ministério da Saúde determina que sejam realizados testes sorológicos de alta sensibilidade, a cada doação efetivada, para as seguintes doenças: sífilis, doença de Chagas, hepatite B e C, HIV I e II, HTLV I e II e malária (em regiões endêmicas). E como protocolo padrão, é feita também a realização de testes imuno-hematológicos, dentre eles: ABO/RhD e pesquisa de anticorpos irregulares (PAI). Há também a fenotipagem estendida, a qual é realizada apenas em algumas instituições devido ao seu custo elevado. (CARRAZONE et al., 2004). Recomenda-se a realização desse teste para pacientes aloimunizados contra antígenos eritrocitários ou que estão ou poderão entrar em esquema de transfusão crônica, com a finalidade de facilitar a identificação de possíveis anticorpos irregulares.

Devido à falta de publicações relacionadas a infecção bacteriana transmitida por transfusão, o assunto foi tomado como negligenciado. De acordo com a Portaria de Consolidação nº 5, datada de 28 de setembro de 2017, apenas 1% das amostras doadas são submetidas ao método de cultura bacteriana na rotina de testes pré-transfusionais. Desta forma, algumas bactérias que apresentam importância clínica no processo transfusional acabam passando despercebidas, tais como: *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* e *Yersinia enterocolitica*. A partir disso foram desenvolvidas novas técnicas de prevenção e detecção dos patógenos, onde medidas como melhor desinfecção da pele, desvio e teste bacteriano, foram tomadas

em bancos de sangue para melhorar a segurança e saúde dos pacientes (BRASIL, 2017; BECKERS, 2007).

Um risco que deve obter bastante atenção é aquele relacionado aos patógenos que se encontram em um período no qual os níveis sanguíneos de marcadores específicos de doença estão muito reduzidos para que seja possível a detecção, por exemplo, logo após a infecção. Assim pode-se incluir o risco de resultados falsos negativos. Além disso, é muito comum também a contaminação bacteriana de concentrados de plaquetas, devido ao fato de esse material ser armazenado em temperatura ambiente, permitindo e facilitando a proliferação bacteriana. Com isso, essa se torna uma das causas mais comuns de infecções associadas à transfusão, as quais inclusive muitas vezes podem sofrer subnotificação causada pelo uso de antibioticoterapia (PICKER, 2013).

A medicina transfusional apresentou grandes conquistas nas últimas décadas, sendo uma delas as técnicas de detecção de microrganismos como bactérias por meio de métodos baseados em cultura bacteriana e detecção rápida por imunocromatografia, o que possibilitou o conhecimento dos principais patógenos envolvidos no processo de transfusão (LEVY, 2018).

Para tratamento de componentes sanguíneos já contaminados, uma técnica que mostrou grande destaque foi a de Irradiação Ultravioleta C (UVC), usada principalmente em concentrados de plaquetas e plasma. Esta intervenção possui efeito direto em leucócitos e patógenos, ao mesmo tempo que mantém intactas as proteínas de coagulação, assim como a função plaquetária também permanece preservada. Ainda existe um risco residual para patógenos emergentes, ou para aqueles que possuem um “período de janela”, no qual os níveis de marcadores sanguíneos se encontram muito baixos para detecção. O teste de ácido nucleico reduziu acentuadamente, mas não eliminou completamente esse período (PICKER, 2013).

A técnica de inativação ou desinfecção depende muito da composição, estrutura e função biológica do vírus, pois um melhor conhecimento desses parâmetros pode facilitar a desinfecção do vírus no nível primário (SINGH, 2021).



É de extrema importância que a eliminação completa do risco de reação e infecção transfusional seja alcançada, para que assim se torne possível impedir a disseminação de doenças transmitidas por meio do sangue.

## **2. OBJETIVO**

O presente estudo tem como objetivo realizar levantamento bibliográfico sobre a triagem clínica do processamento dos hemocomponentes e dados estatísticos de contaminação, além dos possíveis tratamentos desses componentes, chamando atenção para os concentrados de plaquetas, para impedir a disseminação de microrganismos transmitidos pelo processo de transfusão sanguínea, com enfoque nas principais bactérias que participam deste cenário.

### **3. METODOLOGIA**

Como procedimento técnico, foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa em bases de dados e bibliotecas científicas, sintetizando, analisando e discutindo as informações mais recentes encontradas no Ministério da Saúde, teses e mestrados, assim como em 5 livros e 39 artigos publicados em português e inglês, entre 2003 e 2023, os quais abrangem dados estatísticos sobre a contaminação de hemocomponentes, além de métodos de detecção e de possíveis tratamentos para impedir a disseminação dos principais patógenos envolvidos nesse processo. Esses artigos estão disponíveis nas plataformas Pubmed, Scielo e Google Scholar, utilizando-se as seguintes palavras-chaves: transfusão de sangue, hemocomponentes, concentrados de plaquetas, redução de patógenos e contaminação bacteriana.

## 4. DESENVOLVIMENTO

### 4.1 FLEBOTOMIA DE HEMOCOMPONENTES

Antes de ser feita a coleta de sangue existem duas etapas significativas para avaliar a aptidão do doador sem que haja prejuízo à sua saúde e a do receptor. A primeira delas é a pré-triagem clínica, a qual corresponde a análise dos dados antropométricos e sinais vitais dos candidatos, como por exemplo: peso, altura, temperatura, frequência cardíaca, pressão arterial e triagem hematológica. Após ser aceito em todos os critérios desta etapa, os candidatos serão direcionados para a segunda etapa, conhecida como triagem clínica onde são submetidos a uma entrevista individual, confidencial e sigilosa, realizada por um profissional, com a finalidade de avaliar os antecedentes clínicos e o estado de saúde atual (ARRUDA, 2019).

Nesta entrevista é realizado uma série de perguntas ao candidato, como o uso recorrente de medicamentos, possibilidade de gravidez, viagens para regiões endêmicas de malária, procedimentos dentários feitos recentemente, tatuagens e piercings. Há também perguntas sobre o uso de drogas ilícitas, os hábitos sexuais, patologias e outros questionamentos (Brasil, 2017).

O passo seguinte ao questionário é o voto de autoexclusão (VAE), através do qual o doador poderá excluir seu sangue à doação caso ache que este pode transmitir infecções (ARRUDA, 2019).

Após o doador passar pelas etapas de pré-triagem e triagem clínica e ser considerado apto à doação, uma das primeiras etapas a serem realizadas é a coleta feita por meio de flebotomia, ou por meio de equipamentos que possuem a capacidade de obter hemocomponentes específicos. A flebotomia de hemocomponentes é realizada por meio de uma única punção venosa em local que esteja desprovido de qualquer tipo de lesão, sob a supervisão de médico ou enfermeiro e que, anteriormente, tenha sido feito a antissepsia adequada (AZEVEDO, 2013)

A antissepsia realizada no local da punção não esteriliza a região por inteira, mas se torna um fator que determina a possibilidade de redução da carga bacteriana. De acordo com dois estudos baseados em doadores, álcool isopropílico a 70%

seguido por tintura de iodo a 2% teve melhor desempenho do que iodo povidona a 0,75% seguido de iodopovidona a 1%. (SJ WAGNER, 2004).

A solução antisséptica clorexidina alcoólica 0,5% também pode ser utilizada e tem a vantagem de ser incolor e menos irritante para a pele. Recomenda-se que, devido à possibilidade de toxicidade, seja feita a remoção desses antissépticos com álcool da pele de neonatos após a coleta ou utilizar apenas álcool 70% (ANVISA, 2010). Recomenda-se ainda, que junto ao kit de coleta haja como acessório uma pequena bolsa que possibilite o desvio dos primeiros mililitros de sangue, logo após a punção, com a finalidade de diminuir o risco de contaminação do material coletado por microrganismos presentes na pele do doador. (BRASIL, 2013).

## **4.2 PROCESSAMENTO DE HEMOCOMPONENTES**

### **4.2.1 Sangue Total**

O sangue total é coletado e direcionado a um sistema fechado, de uso único que seja, estéril, apirogênico e que foi anteriormente aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Esse sistema é formado por uma bolsa de coleta que contém uma solução conservante e anticoagulante e que está ligada a outras bolsas denominadas bolsas-satélites (BRASIL, 2013).

As soluções anticoagulantes e soluções aditivas estão presentes na bolsa matriz onde se encontra o sangue total e estas soluções possuem, respectivamente, a finalidade de evitar a formação de coágulos e contribuir para o aumento da sobrevivência das hemácias, prolongando seu tempo de armazenamento (BRASIL, 2013).

As soluções preservativas que mais são utilizadas atualmente nas bolsas de sangue são: ACD, CPD, CPDA1 e as associações de CPD + solução aditiva. Cada componente presente nas soluções preservativas possui funções específicas com o intuito de manter o sangue coletado viável por um maior período. Sendo assim, o citrato serve como anticoagulante, o qual irá impedir a coagulação sanguínea e também promove a estabilização da membrana eritrocitária regulando o pH intracelular. A dextrose e a adenina servem como fontes de energia para a célula, onde a dextrose, por ser um carboidrato, é consumido lentamente em baixas temperaturas ( $4 \pm 2$  °C) e a adenina promove um aumento do adenilato, culminando para a manutenção dos níveis de ATP, sendo esta a moeda energética utilizada pela

célula (ADRETTA, 2017). O fosfato serve de substrato para a produção da 2,3-bisfosfoglicerato, a qual funciona como um modulador alostérico nos eritrócitos que tem a capacidade de interagir com as cadeias *beta* da hemoglobina. Essa interação promove uma queda na afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, facilitando sua liberação e prevenindo a queda do pH (D’ALESSANDRO, 2022).

Há também, junto às soluções preservativas, as soluções aditivas como SAGM (salina-adenina-glicose-manitol), onde o manitol apresenta um importante efeito de prevenção contra a hemólise (ADRETTA, 2017).

**Tabela 1-** Composição das soluções preservadoras/aditivas.

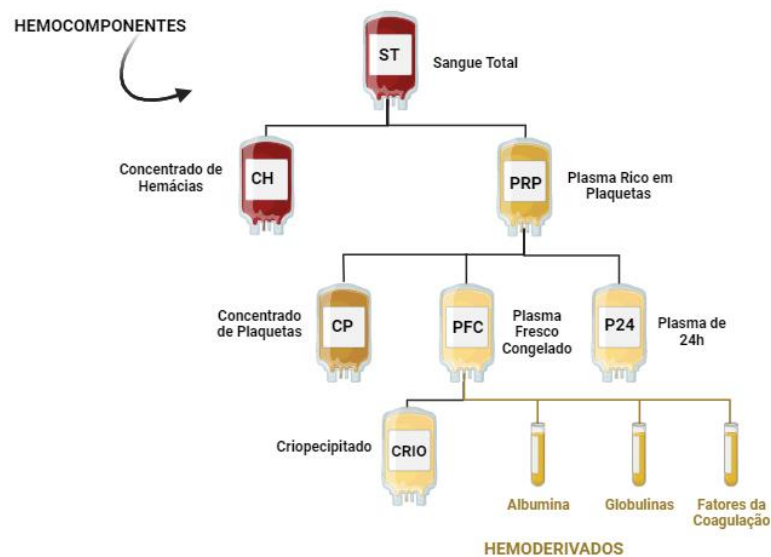
Soluções	Tipos de Bolsas	Componentes	Validade Sangue Total e CH
ACD	Simples (aférese)	Ácido Cítrico, Citrato de Sódio e Dextrose.	21 dias
CPDA 1	Simples, dupla, tripla, quádrupla e top and botton	Ácido Cítrico, Citrato de Sódio, Fosfato de Sódio, Dextrose, Adenina.	35 dias
CPD + SAGM	Tripla, quádrupla e top and botton	Sódio, Dextrose, Adenina, Citrato, Fosfato, Manitol.	42 dias

Fonte: Adaptado de Técnico em Hemoterapia: livro texto / Ministério da Saúde, 2013

Nos serviços de hemoterapia existem técnicas que possibilitam a separação e obtenção dos produtos derivados do sangue total por meio de processos físicos como centrifugação e descongelamento, sendo esta separação ilustrada na Figura 1. Estes produtos são denominados hemocomponentes, os quais são: plasma, concentrado de plaquetas (CPs), concentrado de hemácias ou glóbulos vermelhos (CHs) e crioprecipitado (CRIO). Entretanto, os produtos que são preparados em escala industrial, a partir do fracionamento do plasma e por processos físico-químicos, são chamados de hemoderivados, tais como: Albumina, Fator VIII e Fator IX da coagulação e Imunoglobulinas (BRASIL, 2015). De acordo com publicação de 2023 do Ministério da Saúde, atualmente no Brasil, a empresa Hemobrás é uma das estatais de maior relevância na produção desses compostos. Ela tem como principal objetivo o desenvolvimento de medicamentos hemoderivados e biotecnológicos, para atender o maior número de pacientes possível.

Outro método de separação dos hemocomponentes, além da centrifugação, é o método por aférese, o qual envolve o uso de um separador de células, em que a circulação do sangue do doador é conectada a uma centrífuga que terá como objetivo fazer com que determinado componente seja transferido para uma bolsa, enquanto os demais são devolvidos ao doador. Este processo de separação ocorre durante o período da coleta. É possível afirmar que o concentrado de plaquetas por aférese é um hemocomponente muito mais seguro, uma vez que expõe o receptor a um menor número de doadores (MOHAMMEDI, 2006).

**Figura 1** - Escala de obtenção dos hemocomponentes e hemoderivados originados a partir do sangue total.



Fonte: Adaptado de Brasil, 1998.

#### 4.2.2 Armazenamento de Hemocomponentes

O concentrado de hemácias, sem solução aditiva, por meio da centrifugação do sangue total, deve apresentar hematócrito entre 65% e 80%. No caso de bolsas de concentrado de hemácias com solução aditiva, o hematócrito pode variar de 50 a 70%. Em seu armazenamento, a bolsa deve ser mantida entre 2°C e 6°C e, dependendo da solução conservadora, temos a validade de 35 dias com o uso de CPDA-1 e 21 dias com o uso de ACD. Os concentrados de plaquetas (CP) devem ser armazenados em temperatura ambiente, entre 20 e 24 °C, evitando que a temperatura seja inferior a 20°C dentro das primeiras oito horas após o fracionamento. Eles apresentam validade de 3 a 5 dias, dependendo do tipo de plastificante da bolsa de conservação, e devem

ser mantidos sob agitação constante, garantindo assim a melhor viabilidade do hemocomponente e a fisiologia celular. (BRASIL, 2015).

O plasma fresco congelado (PFC) é um líquido acelular que é constituído basicamente de água, carboidratos, lipídeos e proteínas, como por exemplo, albumina, globulinas e os fatores de coagulação. Sua temperatura de congelamento pode variar desde 18 °C negativos, sendo esta temperatura a mínima, até por volta dos 25°C negativos, temperatura recomendada. Este congelamento proporciona a preservação das diversas proteínas e sais minerais presentes, e mantém constantes suas propriedades. É a partir do descongelamento do plasma fresco congelado na temperatura em torno de 1 e 6 °C que pode ser obtido o crioprecipitado. Este material é constituído por 50% de fator VIII, 20% a 40% de fibrinogênio, fator XIII, fator de Von Willebrand e fibronectina, e então é recongelado no período de 1 hora e tem validade de 1 ano (BRASIL, 2015).

O plasma pobre é obtido pela centrifugação do sangue total armazenado ou como sobrenadante de crioprecipitado. Possui indicação para quadros de expansão volêmica, reposição proteica e indivíduos queimados. Sua validade é de 5 anos mantidos a - 18° C ou menos (AZEVEDO, 2013).

### **4.3 ESTIMATIVAS DE CONTAMINAÇÃO, PROBLEMÁTICAS E POSSÍVEIS SOLUÇÕES**

Foram reportados pela FDA (Food and Drug Administration – Administração de Comidas e Medicamentos) dos EUA, desde os anos 2001 a 2016, 51 óbitos (totalizando uma média de 3,4 óbitos por ano) por transfusão de plaquetas contaminadas por bactérias, sendo 30 dessas mortes ocorridas desde que o teste para contaminação bacteriana foi exigido pela AABB em março de 2004 (KUNDRAPUR, 2020).

Desde então, vários casos de contaminação bacteriana associados aos concentrados de plaquetas vêm sendo relatados. Um estudo realizado no Hemocentro do Albert Einstein em São Paulo, teve como objetivo avaliar a taxa de contaminação bacteriana de plaquetas presentes naquele serviço, utilizando uma amostra separada 24 horas após a doação, a qual foi testada no sistema de detecção bacteriana Bact/Alert, onde tanto seu frasco anaeróbio quanto o aeróbio permaneceram



inoculados até o 6º dia. O resultado obtido naquele serviço foi semelhante aos resultados demonstrados pela literatura, os quais mostram que em média 1 em cada 2000-2500 plaquetas podem apresentar contaminação bacteriana. Essas bactérias podem causar quadros graves e até fatais, levando pacientes a cursarem com reações sépticas em 1/10.000 a 100.000, pois a bactéria presente na plaqueta pode estar em pequena quantidade ou ser de baixo potencial patogênico (SAVIOLI, 2022).

A prevalência desses dados até o momento aumenta a dúvida de como os bancos de sangue ministram a qualidade e eficiência de seus produtos, uma vez que o tempo de cultivo das amostras excede a liberação dos hemocomponentes. Os concentrados de plaquetas passam por uma validação parcial, e os que apresentarem status diagnóstico negativo são liberados, mas o cultivo da amostra é continuado. Se o status do resultado mudar de negativo para reativo, os médicos devem ser informados imediatamente e os produtos precisam ser recolhidos. Se os concentrados de plaquetas já foram transfundidos, deve ser iniciado um procedimento de avaliação do paciente envolvendo a busca por sinais e sintomas pós transfusionais (STOMER, 2014).

#### **4.3.1 O Impacto de Cenários Endêmicos e Pandêmicos nos Bancos de Sangue**

Um estudo realizado por Sabino e cols em Recife e Rio de Janeiro, no ano de 2012, mostrou que, de 42 unidades de hemocomponentes positivas para o RNA do vírus da dengue, 35 receptores foram transfundidos e, com uma análise detalhada dos casos, foram confirmados 6 casos de dengue transfusional. Foi concluído então que aproximadamente 1/3 dos hemocomponentes provenientes de doações virêmicas podem transmitir o DENV (Vírus da Dengue), e que durante o período de pico de epidemia, 1% a 2% das doações podem ser contaminadas. Portanto, 0,3% a 0,6% de todas as transfusões podem transmitir o vírus em questão. Foi observado também que independentemente da carga viral e do tempo de armazenamento, todos os 3 componentes geralmente obtidos a partir de doações de sangue (CH, PFC, CP) foram capazes de transmitir o vírus da dengue (SOUZA, 2019).

Em 2015, o surto de ZIKV (Zika Vírus) no Brasil mostrou resultados clínicos graves, como anomalias cerebrais fetais e, devido a documentação de vários casos prováveis de transmissão por transfusão no Brasil e a disseminação do ZIKV para Porto Rico, se mostrou necessária a exigência da FDA de rastrear coletas de sangue

nesta região, usando ensaios ID-NAT (*Individual Donor-Nucleic Acid Testing* – Teste de Ácido Nucleico de Doador Individual) no período de 3 a 6 meses. Com a implementação desta técnica, as moléculas de RNA do ZIKV foram imediatamente detectadas e 339 amostras infectadas foram interditadas, provavelmente evitando várias centenas de casos de reação transfusional. Desde então, as epidemias nas Américas diminuíram e pouquíssimos casos de doença clínica ou doações de RNA foram detectados em 2017 e 2018 (BUSCH, 2019).

Outra questão remota, mas significativa, é a possível transmissão de vírus como o SARS-CoV-2 por sangue doado. Em algum estágio da pandemia, e até depois dela, é esperado que uma porcentagem considerável da população seja infectada pelo vírus, incluindo a população jovem de doadores de sangue, na qual casos assintomáticos são comuns. Com isso, a ausência de teste de ácido nucleico (NAT) para SARS-CoV-2 na triagem de doadores não permite excluir a possível transmissão por transfusão, se parte do sangue doado estiver contaminado. Este cenário se aplica não somente ao vírus em questão, mas também para diversas outras doenças emergentes (SHANDER, 2020).

Devido aos preocupantes motivos acima, soluções devem ser tomadas para melhor atendimento da população de pacientes. Portanto, a implementação do PBM (*Patient Blood Management* – Manejo de Sangue do Paciente) se torna uma medida importante tomada pela comunidade médica. O PBM é o gerenciamento e preservação clínica do sangue do paciente com a aplicação de conceitos médicos projetados para manter a concentração de hemoglobina, otimizar a hemostasia e minimizar a perda de sangue, aprimorando assim os resultados médicos e cirúrgicos dos pacientes (SPAHN, 2020).

Em um cenário de pandemia, tanto a grave limitação dos recursos de saúde disponíveis quanto a crescente escassez de doadores de sangue sustentam o fato de que a rápida implementação do PBM é o melhor caminho a seguir (SHANDER, 2020).

Uma técnica bastante eficiente baseada no PBM é a ANH (*Acute Normovolemic Hemodilution* - hemodiluição normovolêmica aguda). Trata-se de um processo em que um volume controlado de sangue do próprio paciente é removido antes do procedimento cirúrgico, seguido de substituição por cristalóides ou colóides. Em adultos, isso resulta em menor perda de eritrócitos e permite a reinfusão, quando

necessário no intra ou pós-operatório, de sangue autólogo rico em hemácias, plaquetas e fatores de coagulação (BARILE, 2017).

O conceito PBM foi endossado em 2010 pela Assembleia Mundial da Saúde por meio da resolução WHA63.12 e, no recente Quadro de Ação da OMS para promover o acesso universal a componentes sanguíneos seguros, eficazes e de qualidade garantida em 2020–2023, a implementação efetiva do PBM é listada como 1 de 6 objetivos (OMS, 2020). Contudo, apesar de numerosos ensaios clínicos randomizados demonstrarem resultados significativamente melhores para os pacientes tratados com PBM, a mudança prática ainda está muito atrasada, tendo em vista a utilização desta estratégia em maior foco nos países mais desenvolvidos (SPAHN, 2020).

#### **4.4 FONTES DE CONTAMINAÇÃO**

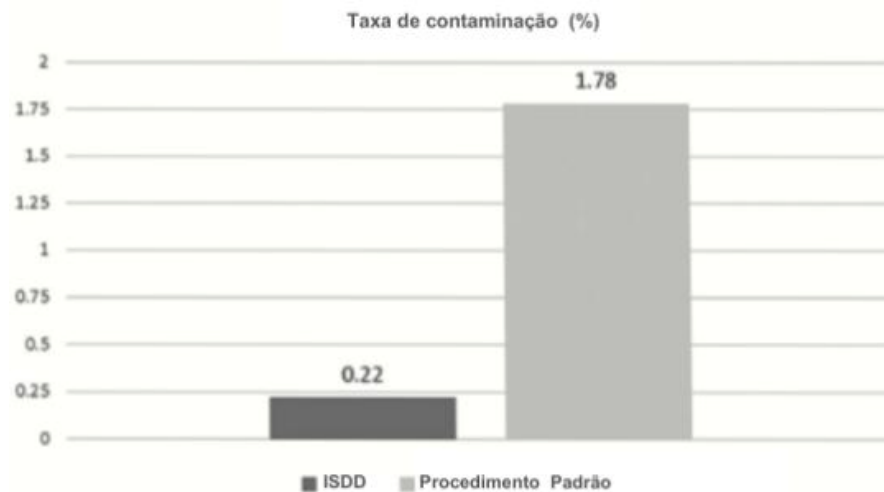
Desde o processo de coleta até o armazenamento das bolsas de sangue, são observadas diversas formas de como as bactérias podem ser introduzidas nos hemocomponentes. Dito isso, a identificação das fontes de contaminação nem sempre foi um processo fácil. A punção venosa para a coleta do sangue se tornou uma das principais fontes de contaminação bacteriana, onde a presença de êmbolo cutâneo pode abrigar organismos persistentes como *Staphylococcus spp.*, em um refúgio não afetado por soluções antissépticas. Outras fontes de contaminação que merecem atenção são os descartáveis utilizados no processo de coleta, o ambiente e o sangue doado por um doador portador de bacteremia assintomática (SJ WAGNER, 2004).

O longo tempo de armazenamento permite que mesmo um pequeno inóculo bacteriano se prolifere significativamente ao ponto de causar reações sépticas ao receptor da bolsa. A gravidade de reação depende de alguns fatores como a virulência e a carga bacteriana inoculada, assim como fatores relacionados ao próprio hospedeiro, como grau de depressão imunitário e/ ou uso concomitante de antibioticoterapia. Alguns sintomas de sepse transfusional se assemelham aos de uma reação transfusional hemolítica aguda e a uma lesão pulmonar aguda. Em geral, os sintomas emergentes incluem febre, vômitos, calafrio, diarreias, dispneia, taquicardia e alteração da pressão arterial, podendo evoluir para um quadro de choque ou até um colapso circulatório. (HAMERSCHLAK, 2014).

No Brasil, o Ministério de Estado da Saúde formulou regulamentações com o objetivo de garantir a qualidade e segurança tanto para o doador quanto para o receptor. Com isso, uma das diretrizes aplicadas foi a avaliação da contaminação microbiológica dos componentes sanguíneos celulares, utilizando-se amostragem igual ou superior a 1% da produção ou 10 unidades por mês. Contudo, pelo alto risco de contaminação microbiológica dos concentrados de plaquetas devido à sua condição de armazenamento, é recomendada a avaliação de contaminação microbiológica em 100% desta produção. Além disso, há também a recomendação do uso de um sistema de bolsa que possibilite o desvio do primeiro fluxo de sangue da doação, tendo como finalidade a redução do risco de contaminação bacteriana dos componentes sanguíneos (BRASIL, 2017).

Por demonstrar um alto potencial de diminuição de contaminação bacteriana, o desvio dos primeiros mililitros de sangue doado tornou-se uma excelente medida preventiva da pré-doação contra o risco de TTID (*transfusion-transmitted infectious diseases* - doenças infecciosas transmitidas por transfusão) (PRAX, 2019). Em um estudo foi avaliado a eficiência do desvio dos primeiros mililitros de sangue em conjunto com dois métodos diferentes de desinfecção da pele, apresentando uma taxa de 77% de diminuição das plaquetas contaminadas (MCDONALD, 2004). Em outro estudo mais recente foi avaliado o uso de um dispositivo que desvia e sequestra a porção inicial de 1,5 a 2 mL de sangue (ISDD) em comparação aos procedimentos padrões de flebotomia em casos de suspeita clínica de infecção grave. Dos 904 indivíduos participantes, pode ser observado na figura abaixo uma diminuição significativa na contaminação por hemocultura associada ao uso do dispositivo de desvio de amostra inicial SDD (do inglês, "initial specimen diversion device") (2/904 [0,22%]) em relação aos métodos padrões (16/904 [1,78%]). A sensibilidade e o tempo de detecção em ambos os métodos não apresentaram alterações (RUPP, 2017).

**Figura 2** - Taxa de contaminação bacteriana obtida por meio do uso do dispositivo de desvio inicial da amostra (ISDD) e do procedimento padrão de flebotomia.



Fonte: RUPP, 2017.

A figura acima mostra a ocorrência de contaminação bacteriana da hemocultura, trazendo uma relação entre a coleta de procedimento padrão (em cinza claro) e a coleta utilizando um dispositivo de desvio de amostra inicial, o ISDD (em cinza escuro). É possível observar que o procedimento padrão traz uma taxa de 1,78% de contaminação, enquanto o uso do dispositivo diminui esta taxa para apenas 0,22%.

#### 4.5 INCIDÊNCIA DE TRANSMISSÃO VIRAL

Nas últimas três décadas, foi documentada uma redução significativa no risco de transmissão principalmente do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e do Vírus da Hepatite C (VHC) através de hemocomponentes. Já em relação ao Vírus da Hepatite B (VHB), também houve uma redução no risco de infecção pós transfusional a partir da implementação de uma nova técnica de detecção no início dos anos 1970. Porém, essa queda não se mostrou tão significativa quando comparada aos outros vírus, devido à altíssima incidência da doença, totalizando mais de 300 milhões de indivíduos infectados no mundo todo (CASTELLI, 2007). Abaixo, segue uma tabela referente à incidência de infecções causadas pelos principais vírus transmitidos pelos hemocomponentes, incluindo os vírus citados e outros, como o Vírus T Linfotrópico Humano (HTLV), o Vírus do Nilo Ocidental (WNV) e o Citomegalovírus (CMV).

**Tabela 2** – Estimativa atual do risco relativo de infecções virais transmitidas por transfusão.

<b>Doença</b>	<b>Risco por unidade</b>
<b>HIV</b>	1 em 2 milhões
<b>VHC</b>	1 em 2 milhões
<b>VHB</b>	1 em 2 milhões
<b>WNV</b>	1 em 3 milhões
<b>CMV</b>	1 em 3 milhões
<b>HTLV-I/II</b>	1 em 3 milhões

Fonte: Adaptado de BUSCH, 2019.

#### **4.6 INCIDÊNCIA DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA**

A *Food and Drug Administration* (FDA) é uma importante fonte de dados quando o assunto é a transfusão sanguínea. Se trata de uma associação responsável por realizar credenciações em diversos países, tendo como objetivo proteger a saúde pública garantindo a segurança e eficácia de diversos fatores, incluindo produtos biológicos. Nos Estados Unidos, dados da FDA demonstram que, depois das reações hemolíticas, a contaminação bacteriana por transfusão foi a causa mais frequente de fatalidades entre os anos 1985 e 1999. Dentre 694 óbitos relacionados a hemoderivados, 77 foram causados por contaminação de bactérias, totalizando 11% das mortes relatadas (DODD, 2003).

Em relação ao Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), assim como os vírus da Hepatite B (VHB) e C (VHC), o risco de ocorrerem transfusões com concentrados de plaquetas (CPs) contaminados com bactérias é em média 50 a 250 vezes maior. Assim, a estimativa é de que 1 em cada 3.000 CPs podem causar sepse no receptor, enquanto 1 em cada 200.000 serão responsáveis por causar alguma doença viral (HYLLER et al, 2003; YOMTOVIAN, 2004).

Existe uma grande variação nos dados sobre a prevalência de contaminação bacteriana em hemocomponentes, principalmente em CPs, visto que ainda não foi estabelecido um índice de referência. Fatores que também interferem nesses números são o método de cultura aplicado, o tempo (em horas) de coleta da amostra

e o local de estudo. Ainda assim, uma revisão sobre o assunto demonstrou uma oscilação das taxas entre 0,08 e 0,8% de CPs contaminados (VASSALO e MURPHY, 2006). Abaixo, segue uma tabela referente.

**Tabela 3** – Estimativa atual do risco relativo de infecções bacterianas transmitidas por transfusão.

Doença	Risco por unidade
<b>Bactérias</b>	STR de plaquetas: 1 em 100.000

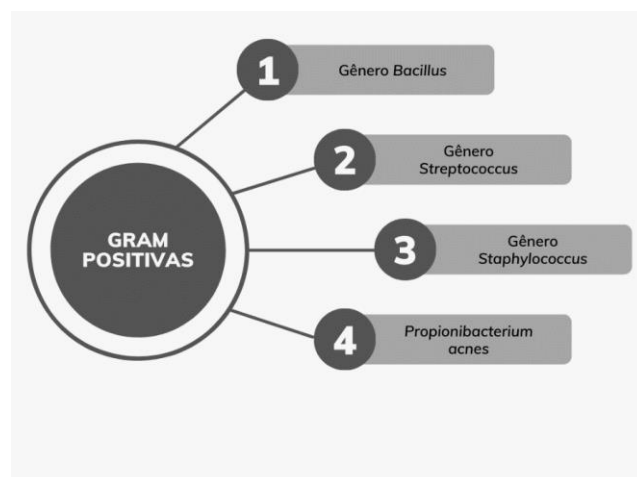
Fonte: Adaptado de (BUSCH, 2019)

#### 4.7 BACTÉRIAS IMPORTANTES NA CONTAMINAÇÃO DE PLAQUETAS

Considerando que a principal via de contaminação de CPs é a flebotomia precedida por uma desinfecção incompleta, as bactérias que obtêm destaque nesse cenário são as Gram positivas comensais da pele, em especial *Staphylococcus epidermidis* e *Bacillus cereus*. Estes seres costumam não crescer em uma temperatura de 1 a 6°C, mas sobrevivem e se multiplicam rapidamente em CPs armazenadas entre 20 e 24°C (BRECHER e HAY, 2005).

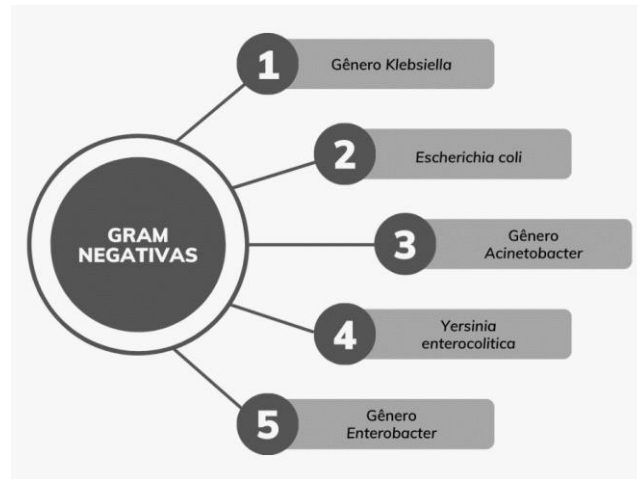
Aproximadamente 58% dos casos de contaminação plaquetária são causados por bactérias Gram positivas, seguidos de 32% em relação às Gram negativas, e apenas 10% quanto às demais bactérias (LEVY, 2018). As figuras 3 e 4 mostrarão uma lista das principais bactérias pertencentes aos grupos citados.

**Figura 3** - Listagem das principais bactérias Gram positivas causadoras de contaminação plaquetária.



Fonte: Adaptado de LEVY, 2018

**Figura 4** - Listagem das principais bactérias Gram negativas causadoras de contaminação plaquetária.



Fonte: Adaptado de LEVY, 2018

Em um estudo realizado para fins de vigilância relacionado a infecção bacteriana na transfusão, o microrganismo mais frequentemente identificado nas ITTs foi *Staphylococcus aureus* (38%), seguido por outras espécies deste gênero (22%), *Streptococcus viridians* (11%) e *Escherichia coli* (8%). O Vírus da Hepatite C foi o que mostrou maior destaque dentre os patógenos virais (HAASS, 2019).

#### 4.8 TESTES SOROLÓGICOS REALIZADOS NOS DOADORES

Conforme regulamentação técnica vigente, em prol de garantir a segurança dos receptores e avaliar a qualidade do sangue doado, o Serviço de Hemoterapia deve realizar obrigatoriamente testes de triagem sorológica para doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue, a fim de reduzir riscos de transmissão de doenças, sendo estes exames laboratoriais de alta sensibilidade a cada doação, com âmbito na detecção de marcadores para as seguintes infecções transmissíveis pelo sangue:



**Tabela 4** – Testes sorológicos realizados para cada doença da regulamentação técnica vigente.

<b>Doença</b>	<b>Fator de Detecção</b>
<b>Hepatite B</b>	Detecção do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBV) – HbsAg; detecção de anticorpos contra o antígeno do capsídeo do HBV – anti-HBc (IgG ou IgG + IgM); NAT;
<b>Hepatite C</b>	Detecção do anticorpo contra o vírus da hepatite C (HCV); detecção combinada de anticorpo + antígeno do HCV; NAT
<b>HIV I e II</b>	Pesquisa de anticorpo contra o HIV; detecção combinada do anticorpo contra o HIV + antígeno p24 do HIV; NAT
<b>HTLV I e II</b>	Pesquisa de anticorpo anti-HTLV I/II
<b>Sífilis</b>	Detecção de anticorpo anti-treponêmico ou não-treponêmico.
<b>Chagas</b>	Pesquisa de anticorpos anti- <i>Trypanosoma cruzi</i>

Fonte: Hematologia Básica: Fisiopatologia e Diagnóstico Laboratorial – 2013

Somente podem ser liberadas as bolsas com resultados não reagentes/negativos. O grupo de amostras que apresentarem resultado positivo deve ser desmembrado e suas amostras testadas individualmente para identificação do(s) agente(s) infeccioso(s) em questão, considerando a possibilidade de desmembramento cruzado (BRASIL, 2016).

#### **4.8.1 Sobre o método NAT**

Um problema que sempre se mostrou importante na biologia e na medicina modernas é a determinação qualitativa e quantitativa de ácidos nucleicos. A detecção de DNA e RNA de bactérias e vírus patogênicos pode ser essencial para a tomada de decisão a respeito de uma estratégia de tratamento adequada, porém não se trata de um processo fácil, considerando que as alterações nos níveis de ácidos nucleicos podem ser muito pequenas em diversas patologias, levando assim a uma concentração muito baixa desses compostos em amostras analisadas. Diante disso, os métodos de identificação utilizados devem ter baixos limites de detecção, sendo altamente sensíveis. Para um resultado mais preciso, é muito comum o uso desses métodos em associação com a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (BODULEV, 2020).

Atendendo esses requisitos citados, um teste que tem grande destaque é o NAT (do inglês “*nucleic acid amplification technology*”). Ele apresenta a capacidade de amplificar sequências específicas de ácidos nucleicos de um organismo, e sua alta sensibilidade permite a redução do período de janela imunológica de vírus importantes no processo transfusional como o HIV e o VHC. Com sua implementação, espera-se evitar até 197 contaminações por ano no Brasil (BODULEV, 2020).

E de acordo com a publicação do site Confederação Nacional de Municípios, no dia 13 de fevereiro de 2014, a realização do Teste de Ácido Nucléico (NAT) tornou-se obrigatória em todas as bolsas de sangue coletadas pelos bancos de sangue públicos e privados do país. Os bancos públicos brasileiros já utilizam o kit em 100% dos casos. O objetivo da utilização do método é de facilitar a identificação dos vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da hepatite C no sangue de doadores.

#### **4.9 MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA**

Dentre os diversos desafios na busca para combater a contaminação bacteriana de plaquetas, o principal seria a forma de armazenamento desses componentes, uma vez que a temperatura ambiente favorece o crescimento de organismos bacterianos. Outros fatores importantes a serem levados em consideração são o baixo número de bactérias inoculadas no momento da coleta, dificultando o processo de detecção no início do período de armazenamento, mesmo utilizando métodos de alta sensibilidade. Além disso, o curto prazo de validade das unidades de plaquetas e a diversidade de bactérias provenientes das diversas fontes de contaminação acabam exigindo um método robusto que seja capaz de detectar múltiplas espécies com diferentes padrões de crescimento, e que também apresente critérios de alta sensibilidade, especificidade e rapidez (PALAVENCINO, 2010).

Durante um longo período, os testes de medições de glicose, pH e exame microscópico foram importantes no papel da detecção de bactérias em CPs, onde foi observado que o crescimento bacteriano geralmente ocorre pelo metabolismo da glicose, assim como a produção de ácidos, resultando em uma diminuição tanto da concentração de glicose no meio, quanto dos valores de pH. Contudo, alguns estudos mostraram que estes indicadores não apresentaram eficácia no uso clínico devido à baixa sensibilidade, mesmo em casos de grandes números de bactérias presentes, sendo esta sensibilidade de apenas  $10^6$  e  $10^7$  UFC/ml. Assim, se tornam necessárias

novas tecnologias para a detecção de bactérias em plaquetas (BRECHER, 2005; PALAVECINO, 2010).

Dito isso, seguiu-se, em 2004, a Norma 5.1.5.1 da AABB, que estabeleceu que o banco de sangue ou serviço de transfusão deve possuir métodos para limitar e detectar a contaminação bacteriana em todos os componentes plaquetários (AABB, 2004). Já no Brasil, a regulamentação dos serviços de hemoterapia é realizada pela Portaria de Consolidação nº 5, datada de 28 de setembro de 2017, que não preconiza a cultura em todas as amostras como triagem pré-transfusional, mas em apenas 1% da produção mensal ou em 10 unidades por mês (BRASIL, 2017).

Deve-se levar em consideração a grande importância do comportamento das bactérias no cenário de produção, armazenamento e uso de componentes transfusionais, pois o modo de replicação dos microrganismos nesses componentes pode se mostrar diferente em relação a outros meios de cultura microbiológicos (STORMER, 2014).

Embora atualmente haja uma variedade de sistemas automatizados e semiautomatizados, a *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA aprovou dois importantes sistemas de cultura para o controle de qualidade quanto à contaminação bacteriana: o sistema BacT/ Alert e o sistema eBDS (RIEDEL, 2006). As técnicas baseadas em cultura dependem de algumas características das mudanças induzidas em um meio pelo crescimento de bactérias - geração de gás, produção de ácido - para obter um sinal. Eles exigem que as bactérias cresçam nas condições de cultura do teste e que a cultura seja continuada por tempo suficiente para permitir que o sinal seja gerado pelo crescimento de bactérias (MURPHY, 2011)

#### **4.9.1 Bact/ Alert**

O primeiro teste é um sistema automatizado de cultura líquida (BacT/ALERT; bioMérieux, Durham, NC) que utiliza frascos de caldo de meio de cultura com um sensor colorimétrico que muda de cor à medida que ocorre o aumento de CO<sub>2</sub> produzido pela proliferação bacteriana. Geralmente, um frasco aeróbico (e em alguns casos um aeróbico e um anaeróbico) é inoculado com 4 mL de produto plaquetário que tenha sido coletado em um prazo de pelo menos 24h (PALAVECINO, 2010).

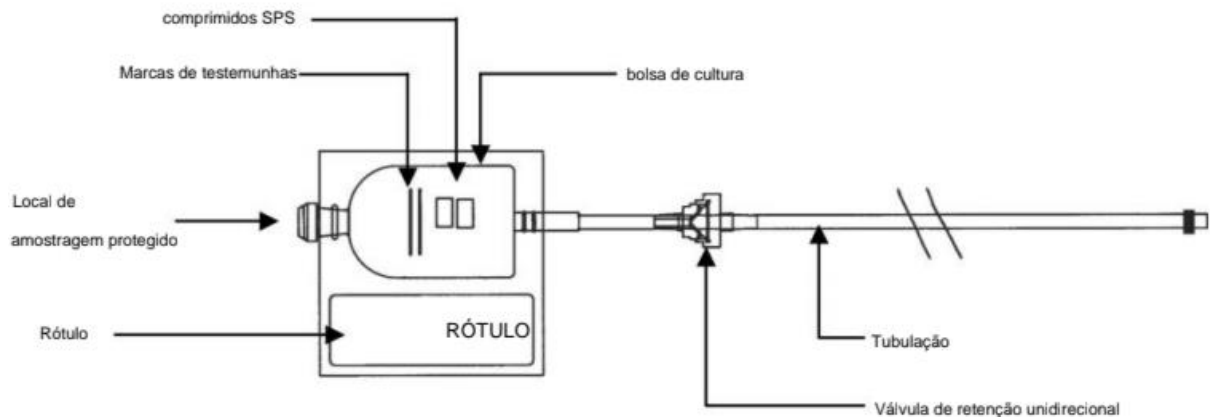
Todos os frascos inoculados são incubados por até 7 dias a 35-37 °C em uma unidade de incubação do sistema BacT/ALERT. No fundo de cada frasco está presente um sensor, o qual somente é separado do meio líquido por uma membrana permeável ao gás carbônico. Como o crescimento bacteriano ocorre devido a uma constante ativação metabólica dos microrganismos, o gás carbônico produzido consegue se difundir através da membrana, deslocando os íons de hidrogênio e causando acidificação do sensor, com uma mudança concomitante no espectro de emissão de um corante colorimétrico. A máquina monitora a taxa de mudança do sensor colorimétrico, onde a intensidade da cor é proporcional ao deslocamento da emissão do corante, ou seja, é proporcional a quantidade de gás carbônico dissolvido no meio de cultura. Os frascos marcados como positivos requerem validação por subcultura do frasco e da unidade original de plaquetas, sendo o isolamento da mesma espécie bacteriana de ambos um verdadeiro positivo. Uma cultura negativa sugere que o resultado do frasco foi um falso positivo, embora possa ocorrer auto esterilização (BRECHER, 2005; DUNNE, 2005; SCHMIDT, 2011).

No Brasil, o método de triagem mais utilizado para detecção de bactérias em concentrados de plaquetas é o BACTEC, o qual difere do Bact/Alert apenas pelo fato de utilizar um sensor fluorimétrico para a medição de níveis de CO<sub>2</sub>, ao invés do princípio de colorimétrica.

#### **4.9.2 eBDS**

O segundo sistema de cultura é o *Pall Bacterial Detection System* (eBDS) que faz a medição da redução na concentração de oxigênio resultante do crescimento bacteriano. Este sistema estará representado na Figura 5.

**Figura 5** - Representação do método eBDS



Fonte: MCDONALD, 2005.

Legenda: O sistema consiste em uma bolsa de amostragem descartável, uma incubadora e um analisador de oxigênio. A bolsa de cultura é conectada à tubulação de uma bolsa de plaquetas através de um dispositivo de conexão de tubulação estéril. Uma alíquota de 2–3 mL do concentrado de plaquetas, com redução de leucócitos, é transferida para a bolsa de cultura por gravidade, sem que haja a possibilidade de refluxo, uma vez que o sistema *Pall eBDS* apresenta uma válvula anti retorno no tubo de conexão entre ambas as bolsas. A bolsa cultura contém dois comprimidos, sendo que cada um contém caldo soja tripticase para promover a proliferação bacteriana, e sulfato de polianetol de sódio, que facilita o crescimento de organismos gram-negativos inibindo as enzimas lisossômicas plasmáticas e por antagonizar a ação das lipoproteínas retardadoras do crescimento normalmente presentes no plasma (BRECHER, 2005; MCDONALD, 2005, PALAVECINO, 2010).

Após o processo de inoculação da alíquota de plaquetas na bolsa de cultura, ambas são então separadas por um aquecedor selador, e a bolsa de cultura é incubada a 35 °C em agitação. Há um filtro no sistema que permite que as bactérias entrem na bolsa cultura enquanto evita que plaquetas e outros componentes celulares presentes contaminem a mesma. Após a incubação por 24 h, os níveis de oxigênio são medidos no analisador para obter um resultado de "aprovado" ou "reprovado". Uma diminuição na concentração de oxigênio para 19.5% ou menos é uma indicação de crescimento bacteriano (BRECHER, 2005; PALAVECINO, 2010).

#### 4.9.3 PGD

Há ainda métodos secundários de detecção rápida, como por exemplo o sistema *Pan General Detection* (PGD) o qual foi desenvolvido e licenciado pela FDA

para triagem de contaminação bacteriana de CPs. O princípio do teste baseia-se no rápido ensaio qualitativo para a detecção imunológica dos antígenos bacterianos como os lipopolissacarídeos (LPS) (para bactérias Gram-negativas) ou ácido lipoteicóico (LTA) (para bactérias Gram-positivas) por imunoprecipitação de fluxo lateral. Se destaca por ser o único teste aprovado pela FDA como uma medida de segurança no ponto de emissão imediatamente antes da transfusão de CPs, além de ser usado como um teste de controle de qualidade após a realização dos métodos baseados em cultura liberados pelo FDA descritos anteriormente (LEVY, 2018; PALAVECINO, 2010). Para as bactérias Gram-positivas a sensibilidade do ensaio demonstrou valores em torno de  $10^3$  - $10^4$  UFC/ mL e para as bactérias Gram-negativas os valores foram de  $10^3$  - $10^5$  UFC/mL, contudo, o limite de detecção para algumas cepas de Gram-negativas pode ser maior que  $10^6$  UFC/mL (STORMER, 2014).

#### **4.9.4 Comparação dos métodos de detecção**

Analisando os dois principais métodos de detecção bacteriana usados, Pall eBDS e Bact/Alert, alguns pontos podem ser observados. O Pall eBDS possui um sistema de amostragem fechado, com a finalidade de minimizar a contaminação exógena, a qual seria um fator determinante em resultados falsos positivos. Já o Bact/Alert, por não conter esse mesmo sistema fechado, acaba apresentando uma maior taxa desses resultados. Em relação a incubação, o sistema Pall eBDS requer um tempo mínimo de 24 horas para liberação de um resultado único, enquanto o sistema de detecção Bact/Alert requer um período total de 7 dias para a liberação dos resultados, além de que marcadores positivos necessitam ser submetidos a uma subcultura para a validação dos resultados (MCDONALD, 2005).

Outro fator que é importante ser levado em consideração é o limite de detecção. Referente ao Pall eBDS, o limite abrange desde 1 até  $5 \times 10^2$  UFC/mL, à medida que o limite mínimo de detecção do Bact/Alert é de 10 UFC/mL (ROOD, 2011). Esse fato acaba trazendo uma problemática para o segundo sistema citado.

Em um estudo anteriormente realizado pela Cruz Vermelha Americana foi modelada matematicamente a taxa de falsos negativos associada à amostragem inadequada de bactérias de baixa concentração, e demonstrou-se que a taxa de falsos negativos no Bact/Alert em uma unidade de baixa concentração inicial pode chegar a 50%. Com isso, o ajuste do volume de amostra para 8mL, mostrou um aumento de

54% na sensibilidade da cultura, diminuindo assim a incidência de resultados falsos negativos (PALAVECINO, 2010). Enquanto isso, o sistema Pall eBDS se demonstra eficiente com apenas 2 a 3 mL de amostra dos concentrados de plaquetas.

Um último ponto que vale ser discutido é que o sistema Bact/Alert apresenta a possibilidade de detecção tanto de microrganismos aeróbios quanto anaeróbios, desde que sejam utilizados dois frascos de cultura com meios devidamente apropriados. Essa variação não é possível no sistema eBDS, o qual apenas detecta as bactérias aeróbias. No entanto, este fato não se classifica como um grande problema, uma vez que o número de reações transfusionais causadas por bactérias anaeróbias é extremamente baixo. Além disso, houve um caso no Canadá em que esse sistema detectou a presença de um anaeróbio facultativo em um CP, durante a rotina de triagem transfusional (MCDONALD, 2005).

É possível concluir que a implementação de ambos os sistemas de triagem citados tem o potencial de diminuir o risco de transmissão bacteriana por transfusão de sangue. No entanto, combinando os fatores de sensibilidade, rapidez e custo-efetividade, o sistema Pall eBDS se mostra a melhor escolha para uma rotina de testes pré-transfusionais.

Em relação ao método PGD, não é viável compará-lo com os outros dois métodos citados acima, pelo fato de se tratar de um rápido ensaio qualitativo para a detecção de antígenos bacterianos, além de apresentar princípios de detecção diferentes, e por ser considerado um teste secundário aos métodos baseados em cultura. Um ponto a se questionar é que, por apresentar resultado imediato, o curto período de crescimento bacteriano acaba sendo um fator limitante para resultados falsos negativos.

#### **4.10 MÉTODOS EM DESENVOLVIMENTO**

Apesar do investimento em medidas preventivas para a diminuição da taxa de contaminação bacteriana, como o método de desvio e antisepsia adequada, ainda houve a necessidade de desenvolver métodos capazes de realizar a detecção dos patógenos, bem como os sistemas automatizados baseados em cultura. Contudo, estes métodos empregados apresentaram desvantagens, incluindo a baixa sensibilidade e especificidade quando realizados precocemente, uma vez que o

crescimento bacteriano para níveis detectáveis geralmente requer um período a partir de 24 horas até vários dias, e devido a este lento crescimento e os baixos títulos bacterianos, os resultados obtidos frequentemente são falsos negativos (LEE, 2022; PALAVECINO, 2010).

Atualmente novas abordagens foram descritas na busca do aprimoramento das técnicas de detecção, sendo técnicas de biologia molecular muito atraentes para este fim. Um dos novos métodos de triagem para contaminação bacteriana é a reação em cadeia de polimerase (PCR), o qual se baseia na detecção da região 16S do rDNA, sendo esta região a mais conservada do DNA genômico das bactérias. Sua sensibilidade se mostrou ser o suficiente para testar CPs após um atraso inicial para permitir o crescimento bacteriano. Outra estratégia envolvendo a biologia molecular é o uso do PCR universal combinado com a tecnologia LFD (Lateral- flow dipstick – vareta de fluxo lateral). Este ensaio utiliza a amplificação de genes e a hibridização por um conjunto de sondas específicas marcadas como biotina e Fitc (isotiocianato de fluoresceína) na região conservada do alvo. Os anticorpos contra os compostos marcados nas sondas são então imobilizados na membrana de nitrocelulose LFD capturando o complexo sonda-amplicon, produzindo uma linha vermelha visível na membrana. De acordo com os resultados do grupo, o tempo total de análise da tecnologia LFD é de apenas cerca de 2 h, mas a sensibilidade varia dependendo da espécie bacteriana de 5 a  $10^4$ UFC/ml. (STORMER, 2014; ROOD, 2011, WANG, 2012.).

Inúmeras intervenções e esforços foram feitos por um longo período com o objetivo de reduzir as reações transfusionais sépticas e as fatalidades de transfusões envolvendo, principalmente, componentes plaquetários contaminados. Destas medidas pode se incluir a prevenção de contaminação durante a coleta e processamento, a realização de cultura de produtos plaquetários 24 horas após a coleta, testes de ponto de emissão, além de tecnologias de redução de patógenos (HONG, 2016).

No entanto, embora um progresso considerável tenha sido feito como, por exemplo, as altas sensibilidade analíticas dos sistemas de cultura, a transmissão de patógenos por transfusão continuou a ocorrer. Isso se deu principalmente devido a baixas concentrações bacterianas nos concentrados finais de plaquetas (estimadas



entre 1 e 10 UFC/saco) e seu lento crescimento. Também deve ser considerada a existência do risco de que o volume da amostra processada nos sistemas de cultura não contenha colônias bacterianas, embora os concentrados de plaquetas ainda estejam contaminados, resultando posteriormente em reações sépticas graves após a transfusão (SCHMIDT, 2011).

## **4.11 TRATAMENTO PARA INATIVAÇÃO DE MICRORGANISMOS**

### **4.11.1 Irradiação UVC de Concentrados de Plaquetas e Plasma**

O método de irradiação comum (utilizando raios ultravioletas) tem como foco principal a inativação de leucócitos presentes nos hemocomponentes. Esses leucócitos, se transfundidos em pessoas imunocomprometidas ou recém-nascidos, por exemplo, podem realizar expansão clonal e causar a chamada doença do enxerto contra o hospedeiro (BASU, 2014). Um microrganismo de importância nesse cenário, principalmente para indivíduos imunossuprimidos também, é o Citomegalovírus. Trata-se de um microrganismo cuja infecção pode acontecer em uma variedade de células, e acredita-se que sua transmissão esteja consideravelmente relacionada à reativação latente do vírus nos glóbulos brancos. Em hemocomponentes contaminados, ações como filtração e lavagem são comuns, com a finalidade de reduzir o número de leucócitos que possam conter o vírus latente. Apesar de se tratar de técnicas eficientes, atualmente não há evidências científicas que favoreçam uma estratégia única para impedir o risco de transmissão do CMV por meio de transfusão sanguínea (MAINOU, 2016). Dessa forma, a irradiação comum tem como objetivo minimizar o risco residual causado por leucócitos remanescentes, e assim evitar que doenças como essas se estabeleçam no receptor (BASU, 2014).

Em adição ao método de irradiação comum, existe o sistema *THERAFLEX UV-Platelets*, o qual esteve sendo avaliado quanto à sua eficácia e segurança. O processo é baseado na aplicação de luz UVC (200–280 nm) combinada com agitação intensiva (PICKER, 2013).

Os raios ultravioletas (UV) constituem uma região do espectro eletromagnético (100-400 nm), que pode ser sistematicamente dividida em três regiões espectrais diferentes, classificadas de acordo com seu comprimento de onda e energia. Nessa divisão, estão contidas a região UVA (315-400 nm), UVB (280-315 nm) e UVC (200-

280 nm), a qual é a mais energética. Além disso, dentre as três regiões espectrais UV citadas, a largura de banda UVC exibe um maior potencial na inativação de microrganismos, devido às suas fortes propriedades antivirais (SINGH, 2021).

Moléculas de DNA e RNA geralmente absorvem comprimentos de onda que variam entre 200 e 300 nm, com um pico de absorbância em 260 nm. Assim, a energia da luz ultravioleta no comprimento de onda de 254 nm (UV-C) é intensamente absorvida por ácidos nucleicos em células bacterianas, fúngicas e virais (SINGH, 2021).

Ao ser absorvida, ela interrompe a transcrição e a replicação celular, levando à morte dos patógenos citados. Essa toxicidade é causada pela dimerização de pirimidinas (dímeros de timina) em moléculas de DNA, assim como a formação de dímeros de citosina-uracila em moléculas de RNA. A formação de dímeros de ciclobutano pirimidina (CPDs) resulta na desmontagem do DNA, um fenômeno que é capaz de bloquear o alongamento dos transcritos de ácido nucleico no material genético do patógeno, interrompendo a replicação celular e promovendo sua inativação. Vale ressaltar que esse processo não interfere na vida de componentes como hemácias, plaquetas e fatores da coagulação, uma vez que estes são desprovidos de ácidos nucleicos e, portanto, não realizam divisão celular (BLÁZQUEZ, 2019).

As plaquetas são então transferidas para um saco de irradiação permeável a UVC. A irradiação UVC é realizada usando um dispositivo especial de irradiação UVC, com as bolsas posicionadas frouxamente sobre uma placa de quartzo. Como a capacidade de redução de patógenos mostrou ser maior em  $\geq 100$  rotações por minuto (RPM), a placa é agitada a 110 RPM. Após a irradiação, as plaquetas são transferidas para seu recipiente de armazenamento final e estão prontas para transfusão sem processamento adicional (PICKER, 2013).

Os concentrados de plaquetas tratados com este sistema, após serem adicionados com altos títulos de vírus da hepatite C cultivados em cultura de células, mostraram que o patógeno foi suficientemente inativado (PICKER, 2013).

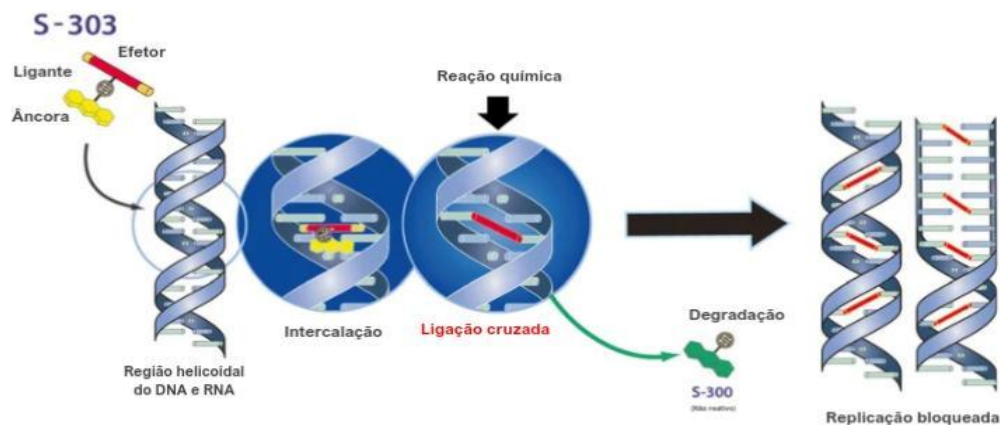
De acordo com uma matéria publicada pelo site LabNetwork no ano de 2022, atualmente no Brasil, a empresa Hemominas já é conhecida por implementar o

método de TRP (Terapia de Redução de Patógenos), aprovada anteriormente em outros lugares do mundo como Europa, Estados Unidos e Canadá. Essa técnica utiliza o mesmo princípio descrito na Irradiação UVC, onde o material genético do microrganismo é alterado, resultando na inativação do mesmo. Um fato interessante é que ela também possibilita a inativação de agentes endêmicos como Coronavírus, Dengue, Zika Vírus, Malária e Febre Amarela, além de aumentar a vida útil de concentrados de plaquetas para 7 dias. É possível afirmar então que esse procedimento aumenta a segurança do processo de transfusão, sendo principalmente relacionado à redução do risco de transmissão de bactérias através de CPs contaminados.

#### 4.11.2 O Sistema S-303 PRT para Sangue Total

O sistema Cerus emprega a Amustalina, um composto químico conhecido como S-303, que se intercala com os ácidos nucleicos do patógeno sem provocar ativação do material genético. A Figura 6 mostra como esse fenômeno interfere na divisão celular do patógeno.

**Figura 6** – Representação esquemática do método S-303 PRT (*Pathogen Reduction Technology* – Tecnologia de Redução de Patógenos) para glóbulos vermelhos.



Fonte: AUBRY, 2018

Legenda: O sistema usa o método efector de ligante frangível S-303 (FRALE), o qual inclui três principais componentes: uma âncora que se liga aos ácidos nucleicos, um grupo reativo de ácido nucleico (o efector) e um ligante hidrolisável. O composto FRALE tem como alvo os ácidos nucleicos, e à medida que ele se liga a este alvo, a porção efetora, composta de nitrogênio, provoca a reticulação do ácido nucleico. Esse processo leva ao impedimento da replicação celular e, conseqüentemente, à inativação do patógeno, diminuindo o risco de

septicemia pós transfusional. Após a reação, o material se decompõe em um produto não reativo carregado negativamente, o S-300, por meio de um processo influenciado pelo pH do meio. A adição de glutatona ao hemocomponente faz com que o S-300 seja capturado por essa substância, impedindo interações inespecíficas com proteínas, e facilitando assim a extinção de possíveis reações colaterais (AGBOR, 2016).

Após o processo descrito na imagem, a mistura inteira de glutatona com o hemoderivado é então transferida para um segundo recipiente para permitir o processo de redução do patógeno (cerca de 30 minutos) e a decomposição do S-303 em S-300 (de 6 a 18 horas). Após a centrifugação, o sobrenadante é removido e as hemácias tratadas são transferidas para seu recipiente de armazenamento final contendo solução aditiva para armazenamento por até 35 dias a  $4 \pm 2$  °C (PICKER, 2013).

Uma ressalva importante a se fazer é sobre o fato de que, apesar de se mostrar promissor, o sistema S-303 também traz algumas problemáticas, como por exemplo: alta manipulação da bolsa e conseqüente risco de contaminação com outros microrganismos, custo de realização elevado e aumento da mão de obra no banco de sangue. Vale ressaltar também que este método ainda está em processo de estudo para uma possível aplicação em bolsas de sangue total.

## 5. CONCLUSÃO

A transmissão de patógenos por meio do processo de transfusão sanguínea é algo que deve receber uma atenção significativa. Apesar de vários microrganismos estarem envolvidos neste cenário, incluindo os vírus, alguns índices ainda mostram que a maior taxa de óbitos após transfusão é causada por sepse bacteriana proveniente de contaminação de concentrados de plaquetas. Esse quadro pode ser agravado devido ao fato de a legislação não exigir que 100% das amostras doadas sejam submetidas a hemocultura, fazendo com que as bactérias sejam consideradas patógenos negligenciados.

Dito isso, ainda que algumas metodologias tenham sido empregadas no processo de triagem, como por exemplo o desvio dos primeiros mililitros de sangue, muitos métodos de cultura passaram a ser desenvolvidos e amplamente utilizados nos bancos de sangue, com o objetivo de detecção para redução da taxa de reação transfusional. Embora estes métodos de triagem para contaminação bacteriana apresentem alta sensibilidade e especificidade, muitos desafios permanecem para determinar a aplicabilidade destes testes, sendo um deles o tempo mínimo de crescimento para que se torne possível a detecção.

Diante dessas problemáticas, surge a necessidade de uma maior exploração do campo de tratamentos de hemocomponentes para inativação desses patógenos. Alguns métodos se encontram inclusos nesse meio, mas um dos mais promissores é a Irradiação UVC. Ela tem a capacidade de interromper a replicação celular e, se ajustada no comprimento de onda correto, afeta mais severamente os microrganismos como fungos, vírus e bactérias em comparação a proteínas e outras células do sangue. Apesar de ser uma tecnologia ideal para reduzir acentuadamente o risco de infecção bacteriana transmitida por transfusão e tratar o hemocomponente como um todo, atualmente no Brasil, poucos serviços de bancos de sangue aderiram a essa técnica de inativação de patógenos.

## REFERÊNCIAS

AABB – American Association of Blood Banks. Guidance On implementation of new bacteria and reduction standard. Bulletin 04-07. Bethesda, MD; 2004. AABB 2004.

AGBOR, Gabriel, et.al. **Tecnologia de redução de patógenos no sangue total e segurança do sangue na África Subsaariana: Uma revisão sistemática com discussão regional.** 2016. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5436399/>>. Acesso em: 25 mar. 2023.

ANDRETTA, Angélica; JUSTI, Amanda; GRANDO, Luciana; SIQUEIRA, Luciano. **Lesões de armazenamento durante a conservação de concentrado de hemácias.** 2017. Disponível em < <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/revistahupe/article/view/37630>>. Acesso em: 23 mar. 2023.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde.** Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final. 1. Ed. Brasília: Anvisa, 2010.

ARRUDA, A; FERREIRA, F, et al. Fatores das triagens pré-clínica e clínica que impedem a doação de sangue. **Brazilian Journal of Health Review.** Curitiba, v. 2, n. 6, p.5078 -5090, nov-dec. 2019.

AUBRY, Maite. **O tratamento com Amustalina (S-303) inativa altos níveis do vírus Chikungunya nos componentes dos glóbulos vermelhos.** 2018. Disponível em <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/vox.12626#pane-pcw-references>>. Acesso em 01 mai. 2023.

AZEVEDO, Maria Regina Andrade. **Hematologia Básica: Fisiopatologia e Diagnóstico Laboratorial.** 5. Ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2013.

BARILE, Luigi, et.al. **Hemodiluição Normovêmica Aguda Reduz Transfusão de Hemácias Allogênicas em Cirurgia Cardíaca: Revisão Sistemática e Metanálise de Ensaio Randomizados.** 2017. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27669554/>>. Acesso em: 12 jul. 2023.

BASU, D; KULKARNI, R. **Visão Geral dos Componentes do Sangue e sua Preparação.** 2014. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4260297/>>. Acesso em: 18 mai. 2023.

BECKERS, EAM. **Efeitos do teste bacteriano: quais os riscos remanescentes?.** 2007. Disponível em <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1751-2824.2007.00054.x>>. Acesso em: 30 nov. 2022.

BLÁZQUEZ, E, et.al. **A irradiação UV-C é capaz de inativar patógenos encontrados no plasma suíno coletado comercialmente, como demonstrado pelo bioensaio suíno.** 2019. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7130610/>>. Acesso em: 24 mar. 2023.

BODULEV, O L, et.al. **Técnicas de amplificação isotérmica de ácidos nucleicos e seu uso em bioanálise.**2020. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32093592/>>. Acesso em: 15 abr. 2023.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 5, de 28 de setembro de 2017. **Diário Oficial da União.** Poder Executivo, Brasília, DF, 2017. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/farmacia-popular%20old/legislacao/prc-5-portaria-de-consolida-o-n-5-de-28-de-setembro-de-2017.pdf/view>>. Acesso em 21 nov. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 158, de 14 de fevereiro de 2016. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2013.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão do Trabalho e da Educação na Saúde. Departamento de Gestão do Trabalho na Saúde. **Técnico em hemoterapia:** livro texto. 1. Ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia para o Uso de Hemocomponentes.** 2. ed. Brasília, DF, 2015.

BRECHER ME, Hay SN. **Contaminação bacteriana de componentes sanguíneos.** 2005. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC544173/>>. Acesso em: 30 nov. 2022.

BUSCH, Micheal, et al. **Prevenção de infecções transmitidas por transfusão.** 2019. Disponível em <<https://doi.org/10.1182/blood-2018-11-833996>>. Acesso em 01 ago. 2023.

CASTELLI, Damiano, et.al. **Infecções transmitidas por transfusão.** 2007. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1904179/>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

CONFEDERAÇÃO NACIONAL DE MUNICÍPIOS. **Teste Nat é obrigatório em todos os bancos de sangue do país.** Brasília, 2014. Disponível em: <<https://www.cnm.org.br/comunicacao/noticias/teste-nat-%C3%A9-obrigat%C3%B3rio-em-todos-os-bancos-de-sangue-do-pa%C3%ADs>>. Acesso em: 21 nov. 2023.

D'ALESSANDRO, Angelo; XIA, Yang. **Reprogramação Metabólica Adaptativa Eritrocitária sob Hipóxia Fisiológica e Patológica.** 2022. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8900923/>>. Acesso em: 19 mai. 2023.

- DODD, R Y. **Contaminação Bacteriana e Segurança Transfusional: Experiência nos Estados Unidos**. 2003. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12668181/>>. Acesso em: 28 abr. 2023.
- Dunne WM Jr, Case LK, Isgriggs L, Lublin DM. **Validação in house do sistema de hemocultura BACTEC 9240 para detecção de contaminação bacteriana em concentrados de plaquetas**. Transfusion. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15987359/>. Acesso em: 20 abr. 2023.
- GARCÍA-ROA, María, et.al. **Tempo de estocagem de hemácias e transfusão: prática atual, preocupações e perspectivas futuras**. 2017. Disponível em < Acesso em: 25 nov. 2022.
- GOMES, Yara M, et.al. **A importância da triagem sorológica pré-transfusional em receptores de sangue transfundido**. 2004. Disponível em <<https://www.scielo.br/j/rbhh/a/mHbRYPqBDBZH4nC8WJH3BFQ/?lang=pt>>. Acesso em: 30 nov. 2022.
- HAMERSCHLAK, Nelson; SARAIVA, João Carlos. **Hemoterapia e doenças infecciosas**. 1. Ed. Barueri, São Paulo. 2014.
- HAASS, Kathryn, et al. **Infecções transmitidas por transfusão relatadas ao National Healthcare Safety Network Hemovigilance Module**. 2019. Disponível em: <[Infecções transmitidas por transfusão relatadas ao National Healthcare Safety Network Hemovigilance Module - PMC \(nih.gov\)](#)>. Acesso em 23 nov. 2023.
- HEMOMINAS apresenta método que reduz transmissão de doenças via transfusão de sangue. **LabNetwork**, 2022. Disponível em <<https://labnetwork.com.br/noticias/hemominas-apresenta-metodo-que-reduz-transmissao-de-doencas-via-transfusao-de-sangue/>>. Acesso em: 21 set. 2023.
- Hong Hong , Wenbin Xiao , Hillard M. Lazarus , Caryn E. Good , Robert W. Maitta , Michael R. Jacobs; **Detecção de reações transfusionais sépticas a transfusões de plaquetas por vigilância ativa e passiva**. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-655944>>. Acesso em: 25 mai. 2023.
- HYLLER, C D, et.al. **Contaminação Bacteriana de Hemocomponentes: Riscos, Estratégias e Regulação: Sessão Educativa Conjunta ASH e AABB em Medicina Transfusional**. 2003. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14633800/>>. Acesso em: 25 abr. 2023.
- KALEMA, Jocelyne, et. al. **Contaminação bacteriana de hemoderivados para transfusão na República Democrática do Congo: monitoramento da temperatura, cultura qualitativa e semiquantitativa**. 2020. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7592166/>>. Acesso em: 30 nov. 2022.
- KLEINMAN, Steven, et.al. **Prevenção de Infecções Transfusionais Transmissíveis**. 2019. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30808637/>>. Acesso em: 22 abr. 2023.



KUNDRAPU, Sirisha<sup>2</sup>, et al. **Taxas de contaminação bacteriana e reação transfusional séptica associadas a componentes plaquetários antes e após a introdução da cultura primária: experiência em um Centro Médico Acadêmico dos EUA de 1991 a 2017.** 2020. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/trf.15780>>. Acesso em: 03 jul. 2023.

LEE, Jinyeop et al. **Deteção molecular de contaminação bacteriana no plasma usando enriquecimento à base de magnetismo.** 2022. Disponível em: < [Deteção molecular de contaminação bacteriana em plasma utilizando enriquecimento à base de magnetismo - PMC \(nih.gov\)](#)>. Acesso em: 29 abr. 2023.

LEVY, Jarrold H, et.al. **Contaminação bacteriana de plaquetas para transfusão: estratégias de prevenção.** 2018. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6204059/>>. Acesso em: 26 abr. 2023.

MAINOU, Maria, et.al. **Redução do Risco de Infecção por Citomegalovírus Transfusional: Revisão Sistemática e Meta-Análise.** 2016. Disponível em < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26826015/>>. Acesso em: 22 ago. 2023.

MANSFIELD, Elizabeth, et.al. **Regulação de Dispositivos de Diagnóstico in Vitro pela Food and Drug Administration.** 2005. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1876654/>>. Acesso em 10 abr. 2023.

McDonald, C P, Pearce, S., Wilkins, K., Colvin, J., Robbins, S., Colley, L., Taylor, J. e Barbara, J A J. 2005. **Pall eBDS: um sistema de deteção bacteriana aprimorado para triagem de concentrados de plaquetas.** 2005 Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.0958-7578.2005.00587.x>. Acesso em: 20 abr. 2023.

McDonald C P, Roy A, Mahajan P, Smith R, Charlett A, Barbara J A. **Valores relativos das intervenções de desvio e melhoria da desinfecção doador-braço para reduzir o risco bacteriano da transfusão de sangue.** 2004. Disponível em: <[Valores relativos das intervenções de desvio e melhoria da desinfecção doador-braço para reduzir o risco bacteriano de transfusão de sangue - PubMed \(nih.gov\)](#)>. Acesso em: 28 abr. 2023.

MOHAMMADI, T. **Contaminação Bacteriana de Concentrados de Plaquetas: Ferramentas Moleculares e Aplicação.** 2006. 140f. Tese (Doutorado em Medicina) - Universidade Livre de Amsterdã, Amsterdã, Holanda, 2006.

MURPHY, William; COAKLEY, Pauline. **Teste de componentes plaquetários para contaminação bacteriana.** 2011. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473050211000929?via%3Dihub>> . Acesso em: 20 abr. 2023.

Organização Mundial de Saúde. **Quadro de ação da OMS para promover o acesso universal a produtos sanguíneos seguros, eficazes e de qualidade garantida 2020–2023.** 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news->

[room/detail/19-02-2020-who-action-framework-to-advance-universal-access-to-safe-effective-and-quality-assured -produtos-sangue-2020--2023](#) . Acesso em 9 de abr. 2020.

Palavecino EL, Yomtovian RA, Jacobs MR. **Contaminação bacteriana de plaquetas**. Transfus Apher Sci. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19939734/>. Acesso em 17 abr. 2023.

PICKER, Susanne. **Métodos atuais para a redução de patógenos transmitidos pelo sangue: uma revisão abrangente da literatura**. 2013. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3729123/>>. Acesso em: 10 dez. 2022.

PRAX, Marcel; BEKEREDJIAN-DIN, Isabelle; KRUT, Oleg. **Triagem microbiológica de concentrados de plaquetas na Europa**. 2019. Disponível em: <[Triagem Microbiológica de Concentrados de Plaquetas na Europa - PMC \(nih.gov\)](#)>. Acesso em: 27 abr. 2023

RIEDEL, Stefan et al. **Comparação dos sistemas de hemocultura BACTEC 9240 e BacT/Alert para detecção de contaminação bacteriana em concentrados de plaquetas**. 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1489399/>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

ROOD, Ineke, et al. **Detecção e origem de bactérias em concentrados de plaquetas**. 2011. Tese (Doutorado em Medicina) – Universidade Livre de Amsterdã, Holanda, 2011.

ROOD, Ineke; PETTERSSON, Annika; SVELKOUL, Paulo; KORTE, Dirk. **Desempenho e adequação da reação em cadeia da polimerase para detecção precoce de bactérias em concentrados de plaquetas**. 2011. Disponível em: <[Desempenho e adequação da reação em cadeia da polimerase para detecção precoce de bactérias em concentrados de plaquetas - Rood - 2011 - Transfusão - Wiley Online Library](#)>. Acesso em: 29 abr. 2023.

Rupp ME, Cavalieri RJ, Marolf C, Lyden E. **Redução na contaminação por hemocultura através do uso de dispositivo de desvio de amostra inicial**. 2017. Disponível em: <[Redução da Contaminação por Hemocultura através do Uso de Dispositivo de Desvio Inicial de Amostra - PMC \(nih.gov\)](#)>. Acesso em 27 abr. 2023.

Savioli, ML; Santos, LD; Franco, AB, Myazi, LYL; Pereira, JK; Silva, RME; Santos, RBD; Aravechia, MG; Kutner, JM. **Triagem bacteriana de plaquetas em um serviço de hemoterapia de São Paulo**. 2022. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.880>>. Acesso em 03 jul. 2023.

SCHMIDT, Michael; SIREIS, Walid; SEIFRIED, Erhard. **Implementação de Métodos de Detecção Bacteriana na Triagem de Doadores de Sangue - Visão Geral de Diferentes Tecnologias**. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3190223/>>. Acesso em: 21 abr. 2023.

SHANDER, Aryeh. **Papel essencial do gerenciamento de sangue do paciente em uma pandemia: um apelo à ação.** 2020. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7173035/>>. Acesso em 11 jul. 2023.

SINGH, Harpreet, et.al. **Inativação de fotos baseada em UVC como ferramenta eficiente para controlar a transmissão do coronavírus.** 2021. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8238411/>>. Acesso em: 25 mar. 2023.

SOUZA, Nathália. **Dengue Transfusional: Estudo de Doadores de Sangue Durante uma Epidemia na Cidade de Barretos – SP no Ano de 2013.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. São Paulo. 2019.

SPAHN, Donat R, et.al. **Manejo do Sangue do Paciente: Eficácia e Potencial Futuro.** 2020. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32108683/>>. Acesso em: 10 jul. 2023.

Störmer M, Vollmer T. **Métodos diagnósticos para triagem de bactérias plaquetárias: situação atual e evolução.** 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3949613/>. Acesso em: 17 abr. 2023.

VASSALO, R R; MURPHY, S. **Uma Comparação Crítica dos Métodos de Preparo de Plaquetas..** 2006. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16888436/>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

Wagner SJ. **Infecção bacteriana transmitida por transfusão: riscos, fontes e intervenções.** 2004. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15078249/>>. Acesso em: 23 mar. 2023.

WANG, Jindong; WANG, Xiaohui, et al. **Um novo método novo, universal e sensível baseado em fluxo lateral para a detecção de contaminação bacteriana múltipla em concentrado de plaquetas.** 2012. Disponível em:<<https://doi.org/10.2116/analsci.28.237>>. Acesso em: 07 set. 2023.

YOMTOVIAN, R. **Contaminação bacteriana do sangue: lições do passado e roteiro para o futuro.** 2004. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14996205/>>. Acesso em: 27 abr. 2023.