

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

**PAULO HENRIQUE GOMES ROLIM**

**DETERMINAÇÃO DE HEMOGLOBINA LIVRE NO PLASMA  
DOS CONCENTRADOS DE HEMÁCIAS DURANTE OS 42  
DIAS DE ARMAZENAMENTO**

**FORTALEZA  
2004**

PAULO HENRIQUE GOMES ROLIM

**DETERMINAÇÃO DE HEMOGLOBINA LIVRE NO PLASMA  
DOS CONCENTRADOS DE HEMÁCIAS DURANTE OS 42 DIAS  
DE ARMAZENAMENTO**

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

FORTALEZA  
2004

**PAULO HENRIQUE GOMES ROLIM**

**DETERMINAÇÃO DE HEMOGLOBINA LIVRE NOS CONCENTRADOS DE  
HEMÁCIAS DURANTE OS 42 DIAS DE ARMAZENAMENTO**

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

Aprovada em : \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

---

---

---

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus que me deu força e sabedoria para a realização desta monografia.

A meus pais e irmãos, pelo incentivo para prosseguir em direção a realização de meus ideais.

Aos mestres, que ao transmitirem seus ensinamentos, abrem nossos horizontes perante a descoberta do aprendizado.

A Dra. Eunice Bobô de Carvalho, pelo apoio, compreensão e dedicação na elaboração deste trabalho.

Ao Dr. Marcos Antônio da Silva, pelas sugestões e orientação no presente trabalho.

A Vicente de Paulo Mesquita, professor adjunto do Departamento de Estatística e Matemática Aplicada da universidade Federal do Ceará, pelo apoio na análise estatística.

Aos funcionários do Setor de Fracionamento, pelas informações e colaboração.

A todas pessoas do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará que contribuíram de forma direta ou indireta para o término desta monografia.

## SUMÁRIO

### Resumo

1. Introdução.....	06
1.1 Concentrados de Hemácias.....	08
1.2 Concentrados de Hemácias depletadas de Buffy-Coat.....	09
2. Materiais e Métodos.....	13
3. Resultados.....	15
4. Discussão.....	23
5. Conclusão.....	25
6. Referências bibliográficas.....	29

## RESUMO

Concentrados de Hemácias, são preparados a partir do sangue total, através da remoção de 200-250ml do plasma, ou podem ser coletados por aférese, ou seja o processo de coleta de um hemocomponente específico, através de um equipamento, com o apoio técnico de um hemoterapeuta. Os concentrados de hemácias são estocados entre 1 e 6<sup>o</sup>C, em uma variedade de diferentes soluções anticoagulantes/preservantes .

Os concentrados de hemácias depletados de Buffy-coat, são hemocomponentes derivados do sangue total por centrifugação e remoção do plasma e da camada leucoplaquetária, chamada de Buffy-coat, com subsequente ressuspensão de células em solução nutriente apropriada.

Foram analisadas 10 bolsas de concentrados de hemácias e 08 bolsas de concentrados de hemácias depletados de Buffy-coat, obtidas no setor de fracionamento do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará-HEMOCE, sendo analisadas a partir do 1<sup>o</sup> dia de coleta , durante os 42 dias de armazenamento, dia após dia, excetuando-se os finais de semana e feriados. Estes foram armazenados à 4<sup>o</sup>C ± 2<sup>o</sup>C, durante seus 42 dias de validade no setor de fracionamento do HEMOCE.

A análise feita durante os 42 dias de armazenamento, demonstrou que ao final destes 42 dias, houve uma elevação nos níveis de hemoglobina dos referidos hemocomponentes, sendo que a dosagem da concentração média de hemoglobina nos concentrados de hemácias no 1<sup>o</sup> dia foi de 0,012g/dL e ao final de 42 dias de armazenamento foi de 0,127g/dL. Já nos concentrados de hemácias depletados de Buffy-coat, a concentração média de hemoglobina livre foi de 0,016g/dL no 1<sup>o</sup> dia de análise e de 0,085g/dL no 42<sup>o</sup> dia de armazenamento, mostrando a elevação nos níveis de hemoglobina durante sua estocagem, mas ambos os hemocomponentes estão dentro do valor determinado pela Resolução de Diretoria Colegiada – RDC n<sup>o</sup> 343 de 17 de janeiro de 2003, a qual não deverá ser igual ou superior à 0,2g/dL.

## 1 INTRODUÇÃO

A evolução da hemoterapia pode ser dividida em 2 períodos: um, empírico que vai até 1900, e outro científico de 1900 em diante. Os povos primitivos untavam-se, banhavam-se, bebiam o sangue de jovens e bravos guerreiros para se beneficiarem de suas qualidades. Foi baseado neste conceito que se empregou o sangue de três jovens para dar vida ao Papa Inocêncio VIII. Experiência esta fadada ao insucesso por ser empírica. Richard Lower, publicou no (Philosophical Transactions de 17 de dezembro de 1666), um artigo que apresentava seus resultados sobre a transfusão de sangue animal para outro animal e em 22 de julho de 1667, Jean Denis, publicou na mesma revista relatos de transfusão de um animal para o homem. Um novo marco foi em 22 de dezembro de 1818, quando James Blundell relatou em Londres uma transfusão de sangue de um homem para outro. Houve sucessos, mas com grande número de insucessos.<sup>1</sup>

No período científico, assim que Landsteiner descobriu os grupos sanguíneos ABO, identificando seus antígenos e anticorpos, estavam estabelecidas a compatibilidade e a incompatibilidade entre os sangues dos indivíduos da espécie humana, dando portanto uma base científica à imunologia para o emprego do sangue como agente terapêutico. O primeiro serviço de transfusão de sangue, foi o Voluntary Service, em 1921 em Londres, sendo que no Brasil dos vários serviços que existiram, o STS (Serviço de Transfusão de Sangue) fundado por Rosa Martins, Heraldo Maciel, e Afonso C. Ratto Mereceu destaque.<sup>1</sup>

A terapêutica transfusional com componentes do sangue refere-se à transfusão da parte específica do sangue que o paciente necessita, opondo-se ao uso rotineiro de transfusão com sangue total. Esta atitude, não apenas conserva os estoques de sangue, uma vez que cada unidade doada pode beneficiar diversos pacientes, mas também permite que sejam transfundidas maior quantidade de um determinado componente que o paciente necessite.

Uma unidade de sangue total pode ser processada através de uma série de métodos de centrifugação em concentrados de hemácias, plaquetas e plasma fresco congelado ou crioprecipitado.<sup>2</sup>

Concentrados de hemácias são obtidos através do processo de centrifugação do sangue total coletado e após removida a parte plasmática<sup>7</sup>, sendo utilizado principalmente para o aumento da capacidade de transporte de oxigênio e da massa eritrocitária.<sup>1</sup>

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos, anucleados, de megacariócitos, sendo seu período de vida em torno de 8 a 14 dias. Estas são removidas da circulação sanguínea pelos macrófagos.<sup>2</sup>

O plasma fresco congelado é obtido pela centrifugação de uma unidade de sangue total, proveniente de um único doador e congelado até 8 horas após a coleta, a uma temperatura inferior à  $-20^{\circ}\text{C}$ , sendo sua validade de 2 anos à  $-30^{\circ}\text{C}$  e um ano entre  $-20^{\circ}\text{C}$  e  $-30^{\circ}\text{C}$ .<sup>4</sup> O plasma fresco congelado é indicado para pacientes com sangramento acompanhado de deficiências múltiplas de fatores da coagulação (por ex. secundário a hepatopatias, CIVD - Coagulação Intravascular Disseminada) ou coagulopatia dilucional resultante da reposição transfusão maciça de sangue e volume.<sup>2</sup>

O crioprecipitado contém a fração de crioglobulina obtida pelo processamento do plasma fresco congelado. Contém uma porção maior de fator VIII, fator de Von Willebrand, fibrinogênio, fator XIII e fibronectina.

O plasma é utilizado na produção de vários hemoderivados, tais como: concentrado de fatores da coagulação; imunoglobulina e expansores de volume plasmático, que são tratados de forma a reduzir ou eliminar o risco de transmissão viral.<sup>6</sup>

Durante o processamento, a bolsa de sangue e todas as bolsas satélites e agulhas a ela conectadas, estão em sistema fechado, de modo a manter um ambiente totalmente estéril. Uma vez que todo o sistema de coleta de sangue é estéril, descartável e não pode ser reutilizado, é impossível que um doador venha contrair alguma doença através da doação.<sup>6</sup>

A transfusão de hemácias deve ser realizada para tratar ou prevenir uma iminente e inadequada oxigenação tecidual, com conseqüente hipóxia. É consenso que, para adultos, hemácias devem ser transfundidas para aumentar a capacidade de transporte de oxigênio em pacientes agudamente anêmicos. No entanto, pontos de vistas discordantes são expressos entre médicos clínicos e comitês de especialistas, quanto à definição do que se constitui estado de anemia de magnitude suficiente que necessite de correção.<sup>6</sup>

Historicamente, o "gatilho transfusional" adotado por muitos para indicar a transfusão de hemácias tem sido o valor de hemoglobina de 10g/dL, ou o valor de hematócrito de 30%. Essas medidas não fornecem indicação do verdadeiro déficit de hemácias, pois podem produzir estimativa inaccurada do volume de hemácias, volume plasmático e volume de sangue total.<sup>6</sup>

A decisão da realização da transfusão de concentrado de hemácias deve ser baseada em uma constelação de fatores clínicos tais como: idade do paciente, velocidade de instalação da anemia, volume intravascular e a presença de co-fatores fisiológicos que afetam a função cardiopulmonar e a circulação.<sup>6</sup>

### **1.1 Concentrados de Hemácias**

Os concentrados de hemácias são preparados a partir do sangue total, através da remoção de 200-250ml do plasma, ou podem ser coletados por aférese, ou seja, o processo de coleta de um hemocomponente específico, através de um equipamento, com apoio técnico de um médico hemoterapeuta. Quando da coleta apenas de hemácias do doador, o processo é chamado de hemaférese. Os concentrados de hemácias são estocados entre 1 e 6°C, em uma variedade de diferentes soluções anticoagulantes/preservantes. Essas soluções contêm quantidades e/ou tipos diferentes de agentes preservantes (por exemplo, tampão dextrose, adenina e manitol). Concentrados de hemácias estocados em CPDA-1 (citrato, fosfato, dextrose, adenina) têm entre 70 e 80% de hematócrito e podem ser estocados por até 35 dias. A estocagem destes em CPD (citrato, fosfato, dextrose) resulta em hematócritos similares aos obtidos em CPDA-1, mas

seu prazo de validade é de 21 dias e quando estocados não contêm plaquetas ou granulócitos funcionais. São indicados no tratamento da anemia em pacientes normovolêmicos que necessitem de um aumento da capacidade de transporte de oxigênio e de massa eritrocitária. As necessidades transfusionais de cada paciente devem ser baseadas em seu estado clínico e não em níveis pré-determinados de hematócrito ou de hemoglobina. <sup>2</sup>

### **1.2 Concentrados de Hemácias Pobre em Leucócitos ou Concentrado de Hemácias Depletado de Buffy-Coat**

É um componente derivado do sangue total por centrifugação e remoção do plasma e da camada leucoplaquetária, chamada de Buffy-coat, com subsequente ressuspensão de células vermelhas em solução nutriente apropriada. O hematócrito do componente vai depender da natureza da solução aditiva e da quantidade restante de plasma. Não deve exceder à 70%. Cada unidade deve conter um mínimo de 43g de hemoglobina até a data da sua expiração. O concentrado de hemácias depletado de Buffy-coat, contém todos os componentes do concentrado de hemácias, exceto 10 à 30 mL, correspondente à camada leucoplaquetária. O conteúdo de leucócitos é menor que  $1,2 \times 10^9$  células por unidade e a média plaquetária contém menos que  $20 \times 10^9$  por unidade. <sup>7</sup>

A solução anticoagulante primária deve ser CPD. A maior parte das soluções aditivas contém cloreto de sódio, adenina, glicose, e manitol dissolvidos em água. Outros, contém citrato, manitol, fosfato e guanosina. O volume pode ser de 80 a 100ml. O processo deve começar assim que possível depois da doação, até um máximo de 3 dias, e ser completado no primeiro passo. Para a preparação do componente, o plasma e 20ml a 60ml da camada de Buffy-coat são separados das células vermelhas após centrifugação. <sup>7</sup>

Depois de misturado cuidadosamente à solução aditiva, as células vermelhas são armazenadas a uma temperatura de  $+2^{\circ}\text{C}$  a  $+6^{\circ}\text{C}$ . As mesmas condições de armazenamento são aplicadas ao sangue total às células vermelhas. A remoção do Buffy-coat durante a preparação do componente reduz a formação de microagregados. <sup>7</sup>

Os concentrados de hemácias de Buffy-coat são usados para reposição de perda sanguínea e para terapia da anemia de uma forma geral. Este hemocomponente difere-se do concentrado de hemácias pelo processo de deleucocitação e redução de plaquetas, de forma a evitar a liberação de citocinas, uma vez que a presença de substâncias bioativas derivadas de leucócitos e plaquetas nos hemocomponentes armazenados, causam a liberação destas citocinas, podendo ocasionar reação transfusional febril.<sup>8</sup> A leucofiltração de sangue total e Buffy-coat depletado, pré-armazenamento, podem reduzir o risco de complicações de infecção pós-operatória e melhoria da sobrevivência depois de cirurgia cardíaca por redução da imunomodulação.<sup>9,10</sup> O fator de necrose tumoral ( TNF- $\alpha$  ) é uma importante citocina de iniciação da resposta imune e resistência a infecção bacteriana.<sup>11,12</sup>

O sangue total e seus hemocomponentes são armazenados nas seguintes soluções anticoagulantes/ preservantes:

- CPD (citrato de sódio dihidratado - 2,63g, ácido cítrico monohidratado - 0,299g, dextrose monohidratada - 2,55g, bifosfato de sódio monobásico - 0,222g), Esta solução apresenta as seguintes características: impede a coagulação sanguínea como íon quelante do cálcio, é uma fonte de nutrição para as hemácias e atua ajustando o pH do meio. O período de armazenamento é de 21dias;
- CPDA-1 (citrato de sódio dihidratado - 2,63g, ácido cítrico monohidratado - 0,299g, dextrose monohidratado - 2,9g, bifosfato monobásico de sódio - 0,222g, adenina - 0,0275g). Apresenta as seguintes características: impede a coagulação sanguínea como íon quelante do cálcio, é fonte de nutrição para hemácias, ajusta o pH do meio, age como meio de sustentação para manter o nível de ATP nas hemácias; O período de armazenamento é de 35 dias.
- SAG-MANITOL (dextrose monohidratado - 0,900g, cloreto de sódio - 0,877g adenina - 0,0169g, D-manitol - 0,525g), apresentando as seguintes características: age como fonte de nutrição para hemácias e na sustentação para manter o nível de ATP nas hemácias, suporta a integridade da hemácia

para evitar a hemólise e ajusta a pressão osmótica. O período de armazenamento é de 42 dias.<sup>13</sup>

Existem vários parâmetros que influem na conservação dos glóbulos vermelhos:

- a) Bolsa plástica: qualidade do plástico (rugosidade); espessura da folha plástica; permeabilidade às trocas gasosas; relação superfície do recipiente/volume coletado.
- b) Temperatura: conservar estocado entre 4 à 6°C.
- c) Hematócrito: nos concentrados globulares os níveis deverão estar em torno de 70, 80 ou 90%
- d) Solução anticoagulante preservadora: pH em relação às soluções ACD-CPD. Adjunção de substratos: glicose, adenina, fosfato etc.
- e) A existência de leucócitos e plaquetas.

Em conclusão, as variações mais importantes em relação aos glóbulos vermelhos são: modificação do pH, queda do 2,3DPG e de ATP. Em consequência disto, haverá um aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio e, portanto, uma diminuição da sobrevivência das hemácias a serem transfundidas.<sup>14</sup>

São observadas, mesmo em condições normais de armazenamento, algumas lesões nos glóbulos vermelhos:

- a) Perda da forma discóide
- b) Esferocitose
- c) Diminuição da resistência osmótica
- d) Acantocitose
- e) Saída de Potássio
- f) Entrada de Sódio

As eventuais mudanças de tamanho, forma, volume, fragilidade, relação dos componentes químicos, podem causar alterações na funcionabilidade das hemácias, comprometendo o produto final a ser transfundido e resultando em exposição do paciente a um produto hemoterápico possivelmente ineficaz.

A hemácia, quando envelhecida, tem sua membrana destruída e libera a hemoglobina, a qual pode produzir efeitos tóxicos principalmente nos rins. Parte da hemoglobina é eliminada pelos rins e outra parte é absorvida pelo sistema retículo endotelial ou sofre efeitos do catabolismo intracelular.

A hemácia, no decorrer do seu envelhecimento, tem a sua principal função, que é a de transportar oxigênio dos pulmões para os tecidos, alterada, uma vez que necessita da energia obtida quando da transformação da dextrose do plasma em ácido láctico, com liberação de energia. A dextrose é consumida e o ácido láctico é produzido, ficando o plasma mais ácido. Todas essas alterações levam a perda de viabilidade das hemácias.<sup>10</sup>

Segundo a Resolução de Diretoria Colegiada – RDC, Nº 343, de 17 de janeiro de 2003, o método de preparação dos concentrados de hemácias deverão assegurar um nível de hemoglobina livre na solução sobrenadante inferior a 0,2g/dL.<sup>4</sup> Acima deste valor o hemocomponente deverá ser descartado como hemolisado.

Este estudo, pretende avaliar o grau progressivo da hemólise, através da análise da concentração da hemoglobina livre no plasma, dos concentrados de hemácias e concentrados de hemácias depletados de Buffy-coat, processados no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, durante os 42 dias de armazenamento e com isto padronizar dentro deste serviço parâmetros próprios de forma a melhorar a avaliação das hemólises ocorridas nestes hemocomponentes, assim como avaliar a segurança destes hemocomponentes produzidos no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, garantindo sua conformidade com a RDC 343 de 17 de janeiro de 2003.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 10 bolsas de Concentrados de Hemácias e 08 bolsas de Concentrados de Hemácias depletado de Buffy-coat, obtidas no setor de fracionamento do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE.

Os Concentrados de Hemácias são preparados conforme o manual de Procedimento Operacional Padrão (POP) do centro de hematologia e hemoterapia do Ceará - HEMOCE.<sup>3</sup>

1. Colocar o sangue total para centrifugação usando o programa 3 (centrifugação leve, 2000 RPM, durante 7 minutos e 35 segundos à 22°C;
2. Após a centrifugação, retirar as bolsas com cuidado para não ressuspender e levar para o extrator de plasma;
3. Abrir o lacre da bolsa-mãe e deixar fluir todo o plasma visual para a outra bolsa interrompendo o fluxo com (clipe plástico) imediatamente depois que o concentrados de hemácias (CH) entrar no macarrão ;
4. Retirar a bolsa de CH do extrator e colocar a bolsa com Sag-manitol no extrator de plasma;
5. Abrir o lacre da bolsa satélite que contém o Sag-manitol, e deixar fluir todo o seu conteúdo para a bolsa que contém o CH;
6. Selar e separar a bolsa de CH;
7. Armazenar o CH em geladeira de conservação a 4°C ± 2°C.

Os Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat são preparados de acordo com o (POP) do centro de hematologia e hemoterapia do Ceará-HEMOCE.<sup>22</sup>

1. Centrifugar o sangue total utilizando o programa 4 (centrifugação pesada), 3500 RPM durante 8 minutos à 22°C.
2. Após a centrifugação , retirar a bolsa cuidadosamente da centrifuga e levar ao Compomat (aparelho utilizado para separar automaticamente a camada de plasma, o Buffy-coat rico em plaquetas e leucócitos e o Concentrado de Hemácias depletado de Buffy-coat).

A amostra foi analisada a partir do 1º dia da coleta das bolsas e seguida durante os 42 dias de armazenamento, dia após dia, excetuando-se os finais de semana e feriados. Foi retirada uma alíquota de 5mL dos concentrados de hemácias, após leve homogeneização da bolsa e em seguida efetuada a determinação da hemoglobina livre no plasma.

Estes componentes foram armazenados à  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , durante seus 42 dias de validade no setor de fracionamento.

A técnica utilizada na determinação da hemoglobina livre do plasma dos concentrados de hemácias, foi retirada tendo por base a referência da técnica que consta no Manual Técnico do Laboratório Labtest, gentilmente cedida por este.<sup>14</sup>

Os dados encontrados foram analisados de forma a obter valores de concentração de hemoglobina livre no plasma no decorrer dos 42 dias de armazenamento, dia após dia, dos hemocomponentes produzidos no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE.

### 3 RESULTADOS

Após a análise de 10 bolsas de Concentrados de Hemácias e 08 bolsas de Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat, durante os 42 dias de armazenamento, foram encontrados os seguintes resultados:

A concentração média diária de hemoglobina livre nos Concentrados de Hemácias nas 10 bolsas analisadas (**Tabela 1, Figura 1**), mostra um gradual aumento no valor da hemoglobina livre, sendo que há uma elevação mais acentuada a partir da 13ª análise, correspondendo ao 17º dia de armazenamento, mas até a 26ª análise, que é o 42º dia de armazenamento, não é ultrapassado o valor permitido pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 343 de 17 de janeiro de 2003, a qual preconiza que a concentração de hemoglobina livre não deverá ser igual ou maior à 0,2g/dL.

Nos Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat a concentração média diária de hemoglobina livre nas 08 bolsas analisadas, são um pouco inferiores até o 22º dia de armazenamento, demonstrando uma elevação gradual até a 20ª análise, correspondendo ao 29º dia de armazenamento, havendo uma elevação mais evidenciada a partir da 21ª análise, o 30º dia de armazenamento, até o 42º dia (**Tabela 2, Figura 2**), mas permanecendo abaixo do valor permitido pela RDC nº 343.

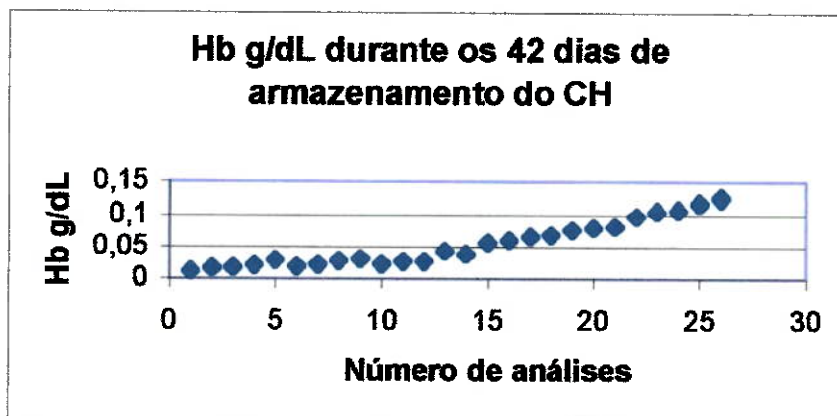
Fazendo uma comparação entre os concentrados de hemácias e os Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat se observa que, os valores de hemoglobina livre são equivalentes no 17º dia e 29º dia de armazenamento respectivamente. Há uma elevação mais acentuada nos concentrados de hemácias a partir da 15ª análise, correspondente ao 23º dia de armazenamento em relação a 21ª análise, 30º dia de armazenamento nos Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat, (**Tabela 3, Figura 3**), sendo que durante os 42 dias de armazenamento não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois tipos de hemocomponentes analisados para  $p \leq 0,01$ .

No anexo as tabelas 4 e 5 mostram o número de análises, dias de armazenamento, média diária, desvio padrão, valor mínimo e máximo da concentração de hemoglobina livre diária dos concentrados de hemácias e concentrados de hemácias depletados de Buffy-coat .

**TABELA 1 - Análise da Concentração Média Diária de Hemoglobina Livre em Concentrados de Hemácias (CH).**

<b>DIAS</b>	<b>[ ] Hb Livre em CH (g/dL)</b> <b>Média ± Desvio Padrão (n =10)</b>
1°	0,012 ± 0,0048
2°	0,017 ± 0,0039
3°	0,018 ± 0,0052
6°	0,022 ± 0,0079
7°	0,030 ± 0,0060
8°	0,020 ± 0,0055
9°	0,023 ± 0,0086
10°	0,029 ± 0,0087
11°	0,032 ± 0,0091
14°	0,024 ± 0,0107
15°	0,028 ± 0,0063
16°	0,028 ± 0,0063
17°	0,044 ± 0,0062
22°	0,039 ± 0,0198
23°	0,057 ± 0,0146
24°	0,061 ± 0,0184
27°	0,067 ± 0,0249
28°	0,070 ± 0,0141
29°	0,077 ± 0,0160
30°	0,081 ± 0,0145
31°	0,083 ± 0,0188
34°	0,099 ± 0,0155
35°	0,107 ± 0,0270
38°	0,109 ± 0,282
41°	0,119 ± 0,0324
42°	0,127 ± 0,0358

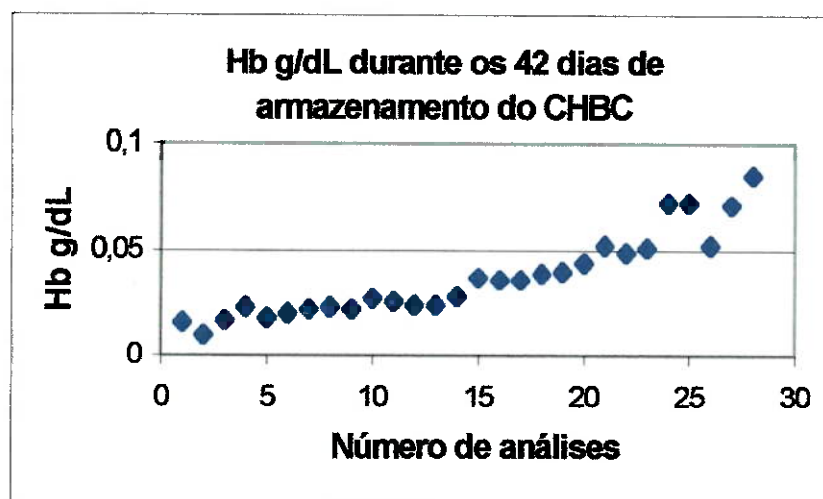
**[ ] = Concentração de Hemoglobina Livre em g/dL**



**FIGURA 1 - Concentração de Hemoglobina Livre presente no plasma dos Concentrado de Hemácias analisados durante os 42 dias de armazenamento.**

**TABELA 2- Análise da Concentração média diária de Hemoglobina Livre em CHBC**

<b>DIAS</b>	<b>[ ] Hb Livre nos CHBC (g/dL)</b> <b>Média ± Desvio Padrão (n = 08)</b>
1°	0,016 ± 0,0062
2°	0,010 ± 0,0026
3°	0,017 ± 0,0081
4°	0,023 ± 0,0103
7°	0,018 ± 0,0039
8°	0,020 ± 0,0090
9°	0,022 ± 0,0036
10°	0,023 ± 0,0040
11°	0,022 ± 0,0071
14°	0,027 ± 0,0075
15°	0,026 ± 0,0044
16°	0,024 ± 0,0056
17°	0,024 ± 0,0061
18°	0,028 ± 0,0047
22°	0,037 ± 0,0077
23°	0,036 ± 0,0085
24°	0,036 ± 0,0060
25°	0,039 ± 0,0103
28°	0,040 ± 0,0104
29°	0,044 ± 0,0102
30°	0,052 ± 0,0140
31°	0,049 ± 0,0159
32°	0,051 ± 0,0148
35°	0,072 ± 0,0246
36°	0,072 ± 0,0207
37°	0,052 ± 0,0197
39°	0,071 ± 0,0239
42°	0,085 ± 0,0295



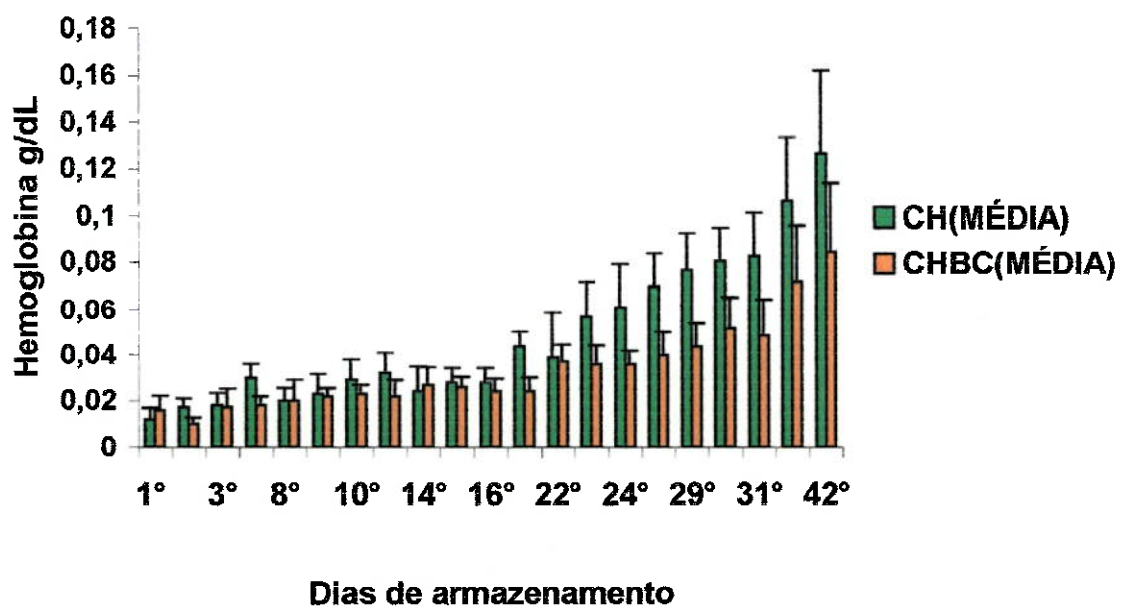
**FIGURA 2 – Concentração média diária de Hemoglobina Livre presente no plasma de Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat, analisados durante os 42 dias de armazenamento.**

**TABELA 3 – Comparação entre a concentração média e o desvio padrão dos Concentrados de Hemácias e Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat**

<b>DIAS</b>	<b>CH(MÉDIA) mg/dL</b>	<b>DP(CH)</b>	<b>CHBC(MÉDIA) mg/dL</b>	<b>DP(CHBC)</b>
1°	0,012	0,0048	0,016	0,0062
2°	0,017	0,0039	0,01	0,0026
3°	0,018	0,0052	0,017	0,0081
7°	0,03	0,006	0,018	0,0039
8°	0,02	0,0055	0,02	0,009
9°	0,023	0,0086	0,022	0,0036
10°	0,029	0,0087	0,023	0,004
11°	0,032	0,0091	0,022	0,0071
14°	0,024	0,0107	0,027	0,0075
15°	0,028	0,0063	0,026	0,0044
16°	0,028	0,0063	0,024	0,0056
17°	0,044	0,0062	0,024	0,0061
22°	0,039	0,0198	0,037	0,0077
23°	0,057	0,0146	0,036	0,0085
24°	0,061	0,0184	0,036	0,006
28°	0,07	0,0141	0,04	0,0104
29°	0,077	0,016	0,044	0,0102
30°	0,081	0,0145	0,052	0,014
31°	0,083	0,0188	0,049	0,0159
35°	0,107	0,027	0,072	0,0246
42°	0,127	0,0358	0,085	0,0295

CH= Concentrados de Hemácias; DP = Desvio Padrão;

CHBC= Concentrados de Hemácias Depletados de Buffy-coat



**FIGURA 3 – Comparação entre a concentração média de Hemoglobina Livre nos Concentrados de Hemácias e Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat. Os valores representam média  $\pm$  desvio padrão.**

## 4 DISCUSSÃO

O estudo das 10 bolsas de concentrados de hemácias e 08 bolsas de Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat, mostra que houve um aumento gradual na concentração média de hemoglobina livre no plasma durante os 42 dias de armazenamento nos dois hemocomponentes analisados, devido sempre ocorrer um aumento da fragilidade osmótica das hemácias quando o sangue é estocado por um longo período. De acordo com Beutler<sup>15</sup> isso ocorre devido a um grande acúmulo de lactato no interior das hemácias, tornando-as hipertônicas em relação ao plasma. Quando hemácias são preservadas e estocadas sob a forma de concentrados uma série de alterações ocorrem, pois apesar de serem anucleadas<sup>16</sup> nelas se realizam intensos e contínuos processos metabólicos. Dentre eles a glicólise é o mais importante processo metabólico que ocorre em hemácias, pois fornece energia necessária para que as hemácias mantenham a forma, a integridade de sua membrana e possam desempenhar funções vitais de troca de gases, transporte de íons através de sua membrana e manutenção da hemoglobina reduzida.

O metabolismo da glicose é feito em grande parte (90%) através da via anaeróbica (Ciclo de Embden-Meyerhof) e os (10%) restantes através da via aeróbica, o shunt das pentoses,<sup>16,17</sup> sendo que seus produtos finais do metabolismo se acumulam no plasma e vão causar efeitos indesejáveis. Destes destaca-se o aumento da acidez onde vai haver inativação de enzimas vitais para a glicólise, tendo como consequência há uma evidente depleção do ATP, causando uma mudança da forma de disco para esfera, dano na bomba de Sódio e Potássio, aumento da rigidez celular e diminuição da resistência osmótica.<sup>18,19</sup>

A análise da concentração média diária de hemoglobina livre no plasma de Concentrados de Hemácias durante os 42 dias de armazenamento, mostra uma elevação gradual no valor desta e um aumento relativamente maior a partir da 13ª análise, correspondente ao 17º dia de armazenamento, ocorrendo até o 22º dia, pequenas flutuações no valor crescente de hemoglobina livre,

provavelmente devido a erros na pipetagem de alguma amostra. Após o 22º dia há uma elevação linear do valor da hemoglobina livre nestes concentrados.

Os níveis da concentração de hemoglobina livre nos Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat, tem uma elevação no seu valor, mas são um pouco inferiores aos concentrados de hemácias, até o 22º dia de armazenamento, sendo que a partir do 30º dia, a concentração média diária de hemoglobina livre vai crescendo gradualmente, mais em níveis menores se comparado com o concentrado de hemácias. O processo de obtenção de Concentrado de Hemácias depletadas de Buffy-coat é mais eficaz na remoção da camada leuco-plaquetária, devido utilizar equipamento apropriado, com sensores que separam plasma, concentrados de hemácias, sendo que este processo evita o acúmulo de citocinas liberadas por leucócitos e plaquetas, impedindo assim efeitos de reações transfusionais não hemolíticas, ocorridas devido a imunomodulação.<sup>5,11,20</sup>

## 5 CONCLUSÃO

- Os valores de Hemoglobina Livre nos Concentrados de Hemácias e nos Concentrados de Hemácias obtidos por Buffy-coat ficaram dentro do parâmetro permitido pela RDC nº343 de 17 de janeiro de 2003 (Hemoglobina Livre menor que 0,2g/dL).
- A análise feita durante os 42 dias de armazenamento, demonstrou que ao final destes 42 dias, houve uma elevação nos níveis de hemoglobina dos referidos hemocomponentes, sendo que a dosagem da concentração média de hemoglobina nos concentrados de hemácias no 1º dia foi de 0,012g/dL e ao final de 42 dias de armazenamento foi de 0,127g/dL. Já nos concentrados de hemácias depletados de Buffy-coat, a concentração média de hemoglobina livre foi de 0,016g/dL no 1º dia de análise e de 0,085g/dL no 42º dia de armazenamento, mostrando a elevação nos níveis de hemoglobina durante sua estocagem, mas ambos os hemocomponentes estão dentro do valor determinado pela Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 343.
- Os valores de Hemoglobina Livre nos Concentrados de Hemácias foram relativamente maiores que nos Concentrados obtidos por Buffy-coat.
- A concentração média diária de Hemoglobina Livre nos Concentrados de Hemácias mostrou aumento gradual, mas a partir do 17º dia de armazenamento, esta tornou-se mais evidenciada, enquanto que nos Concentrados de Hemácias obtidos por Buffy-coat foi a partir do 30º dia de armazenamento em comparação aos concentrados de hemácias.
- A dosagem da concentração de hemoglobina livre no processo de produção e armazenamento nos Concentrados de Hemácias e Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat é um importante método para se avaliar o grau de hemólise dos referidos hemocomponentes e assegurar que eles estão dentro das especificações exigidas por lei, para os Bancos de Sangue. Com isto cada Hemocentro deve ter seu sistema de controle próprio adaptando-o as suas condições.

**Anexo**

**TABELA 4- Demonstração do número de análises, dias de armazenamento, concentração média de hemoglobina livre em Concentrados de Hemácias, desvio padrão, valor mínimo e máximo de hemoglobina livre.**

CH N° DE ANALISES	DIAS DE ARMAZENAMENTO	CH(MÉDIA) mg/dL	DP	VALOR MÍNIMO	VALOR MÁXIMO
1	1º	0,012	0,0048	0,006	0,023
2	2º	0,017	0,0039	0,011	0,025
3	3º	0,018	0,0052	0,012	0,031
4	6º	0,022	0,0079	0,012	0,040
5	7º	0,03	0,0060	0,023	0,040
6	8º	0,02	0,0055	0,010	0,027
7	9º	0,023	0,0086	0,013	0,044
8	10º	0,029	0,0087	0,020	0,050
9	11º	0,032	0,0091	0,020	0,050
10	14º	0,024	0,0107	0,010	0,040
11	15º	0,028	0,0063	0,020	0,040
12	16º	0,028	0,0063	0,020	0,040
13	17º	0,044	0,0062	0,030	0,050
14	22º	0,039	0,0198	0,010	0,060
15	23º	0,057	0,0146	0,040	0,070
16	24º	0,061	0,0184	0,030	0,080
17	27º	0,067	0,0249	0,030	0,120
18	28º	0,07	0,0141	0,040	0,010
19	29º	0,077	0,0160	0,050	0,120
20	30º	0,081	0,0145	0,060	0,120
21	31º	0,083	0,0188	0,050	0,100
22	34º	0,099	0,0155	0,070	0,120
23	35º	0,107	0,0270	0,070	0,150
24	38º	0,109	0,0282	0,060	0,150
25	41º	0,119	0,0324	0,070	0,159
26	42º	0,127	0,0358	0,076	0,174

CH= Concentrados de hemácias

DP= Desvio Padrão

**TABELA 5- Demonstração do número de análises, dias de armazenamento, concentração média diária de hemoglobina livre em Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat, desvio padrão, valor mínimo e máximo de hemoglobina livre.**

<b>CHBC Nº DE ANÁLISES</b>	<b>DIAS DE ARMAZENAMENTO</b>	<b>CHBC(MÉDIA) g/dL</b>	<b>DP</b>	<b>VALOR MÍNIMO</b>	<b>VALOR MÁXIMO</b>
1	1º	0,016	0,0062	0,009	0,027
2	2º	0,010	0,0026	0,007	0,014
3	3º	0,017	0,0081	0,008	0,033
4	4º	0,023	0,0103	0,013	0,042
5	7º	0,018	0,0039	0,011	0,024
6	8º	0,020	0,0090	0,012	0,041
7	9º	0,022	0,0036	0,017	0,031
8	10º	0,023	0,0040	0,017	0,031
9	11º	0,022	0,0071	0,013	0,036
10	14º	0,027	0,0075	0,019	0,039
11	15º	0,026	0,0044	0,020	0,034
12	16º	0,024	0,0056	0,016	0,035
13	17º	0,024	0,0061	0,018	0,037
14	18º	0,028	0,0047	0,022	0,038
15	22º	0,037	0,0077	0,029	0,052
16	23º	0,036	0,0085	0,029	0,054
17	24º	0,036	0,0060	0,030	0,049
18	25º	0,039	0,0103	0,028	0,054
19	28º	0,040	0,0104	0,031	0,061
20	29º	0,044	0,0102	0,031	0,064
21	30º	0,052	0,0140	0,038	0,081
22	31º	0,049	0,0159	0,027	0,076
23	32º	0,051	0,0148	0,037	0,079
24	35º	0,072	0,0246	0,050	0,128
25	36º	0,072	0,0207	0,052	0,115
26	37º	0,052	0,0197	0,030	0,092
27	39º	0,071	0,0239	0,046	0,113
28	42º	0,085	0,0295	0,057	0,150

CHBC= Concentrados de Hemácias depletados de Buffy-coat

DP= Desvio Padrão

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- JUNQUEIRA, P. C. **O essencial da transfusão sanguínea**. São Paulo: Andrei, 1979.
- 2- TRIULZI, DARREL J. et al. **Terapêutica transfusional: manual para médicos**. 7. ed. Associação Americana de Bancos de Sangue, 2002.
- 3- CEARÁ. Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará- Hemoce. **Procedimento operacional padrão n. 546.4**. Fortaleza, [199-?].
- 4- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico para obtenção, testagem, processamento e controle de qualidade do sangue e hemocomponentes para uso humano. Resolução RDC nº 343. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 de Janeiro de 2003. Seção1.
- 5- ASEM- NPBI Produtos Hospitalares. **Leucodepleção em medicina transfusional**. São Paulo: Fundação PRÓ-SANGUE, [199-?]. 63f.
- 6- ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu; 2001.
- 7- GUIDE to preparation, use and quality assurance of blood components. 5<sup>th</sup> ed. Germany: Council Europe Publishing, 1999.
- 8- BOWDEN, R. A.; SLICHTER, S. J.; SAYERS, M.; WEISDORF, D.; CAYS, M.; SCHOCH, G.; BANAJI, M.; HAAKE, R.; WELK, K.; FISHER, L. A comparison of filtered leucocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after bone marrow transplant. **Blood**, v. 86, n. 9, p. 3598-3603, 1995.
- 9- JENSEN, L. S.; KISSMEYER-NIELSEN, P.; WOLFF, B.; QVIST, N. Randomised comparison of leucocyte-depleted versus buffy-coat-poor blood transfusion and complications after colorectal surgery. **Lancet**, v. 348, n. 9031, p. 841-845, 1996.
- 10-VAN DE WATERING, LM. et al. Leucocyte depletion reduces postoperative mortality in patients undergoing cardiac surgery. In: CONGRESS INTERNATIONAL SOCIETY OF BLOOD TRANSFUSION, 24., Japan. Abstract SY3DI-06.
- 11-MYNSTER, T. Effects of red cell storage and lysis on in vitro cytokine release. **Transfus. Apheresis Sci.**, v. 25, n. 1, p. 17-23, 2001.

- 12-BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Normas gerais de garantia de qualidade em unidades hemoterápicas. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 nov. 1995. Seção 1, p. 19785
- 13-CAMPOS, C. M. **Componentes e derivados do sangue para uso terapêutico**. Recife: Ed. Univ. UFPe, 1986.
- 14-CARL A. BURTIS, Ph.D., EDWARD R. ASHWOOD, M.D. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. P 2022-2025. Second Edition.
- 15-BEUTLER, E. et al. The osmotic fragility of erythrocytes after prolonged liquid storage and after reinfusion. *Blood*, 59 (6): p-1141-1147, June, 1982.
- 16-BEAL, R.W.; ISBISTER, J. P. The storage and use of whole blood: Management of acute haemorrhage. In: \_\_\_\_\_. **Blood component therapy in clinical practice**. Melbourne, Blackwell Scientific, 1985. chapt. 2, p. 12-19.
- 17-OLIVEIRA, H. P. Fisiologia do eritrócito – A hemoglobina porfirias eritropoéticas. In: \_\_\_\_\_. **Hematologia clínica**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1988. cap. 3, p. 61-77.
- 18-JUNQUEIRA, P. C. **O essencial da transfusão de sangue**. São Paulo: Andrei, 1979. p. 217-267, 297-348.
- 19-MOLLISON, P. L. The transfusion of red cells. In: \_\_\_\_\_. **Blood transfusion in clinical medicine**. London: Blackwell Scientific, 1983. cap. 4, p. 93-156.
- 20-MULLER, M. Prestorage WBC filtration of RBC units with soft-shell filters: filtration performance and impact on RBCs during storage for 42 days. **Transfusion**, v. 42, n. 2, p. 153, 2002.
- 21-CEARÁ. Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará- Hemoce. **Procedimento operacional padrão n. 546.8**. Fortaleza, [199-?].