
Avaliação da qualidade de concentrados de hemácias em um Banco de Sangue privado de Goiânia, Goiás

Assessment of the quality of the blood cells in a private Blood Bank from Goiânia, Goiás

Maísa Ribeiro¹, Keila Correa de Alcântara²

¹Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil; ²Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil.

Resumo

Objetivo – Avaliar o desempenho dos filtros utilizados para leucorredução de concentrados de hemácias (CH) e o impacto da filtração sobre a viabilidade celular do hemocomponente remanescente. **Métodos** – Estudo retrospectivo dos dados registrados pela gerência da qualidade do Banco de Sangue Hemolabor, Goiânia, no período de Janeiro de 2011 a Junho de 2012. Os parâmetros avaliados foram: quantidade de leucócitos residuais, hematócrito, hemoglobina, grau de hemólise e contaminação bacteriana do produto remanescente, considerando como referência de qualidade as normas preconizadas pela RDC 57/2010 da ANVISA e pela portaria 1353 do Ministério da Saúde. **Resultados** – Um total de 193 unidades de CH foram avaliadas, sendo 98 filtradas por filtro In Line do sistema Composelect® e 95 por filtro flexível BiOR 01 Plus BBS®, fabricados pela Fresenius Kabi AG®. Todas as unidades de CH apresentaram leucócitos residuais abaixo de 5×10^6 /un. 4% das amostras (8/193) apresentaram grau de hemólise maior que 0,8%. Quanto ao teor de hemoglobina, a mediana para o filtro In line foi de 58,74 g/un e do filtro Flex BBS, 68,70 g/un ($p < 0,05$). A mediana do valor do hematócrito para o filtro In line foi de 55% e 72% para o filtro flexível BBS ($p < 0,05$). A análise microbiológica evidenciou resultados positivos em apenas 3 amostras, provavelmente contaminadas durante a manipulação para os testes. **Conclusões** – Ambos os filtros demonstraram eficácia, pois apresentaram conformidade com os valores determinados pela legislação e preservação do conteúdo remanescente.

Descritores: Filtros; Controle de qualidade; Eritrócitos; Bancos de sangue

Abstract

Objective – To evaluate the performance of the white blood cell filters and its impact on the viability of the remaining blood components. **Methods** – Retrospective analysis of the data recorded by the quality control management of the Blood Service between January/2011 to June/2012. Residual leukocytes, haematocrit, haemoglobin, degree of hemolysis and bacterial contamination of the remaining product were evaluated taking as reference the quality standards established by ANVISA (Brazilian Health Surveillance Agency) and Brazilian Ministry of Health. **Results** – The data of 193 units of packed red blood cells (PRBCs) was evaluated, 98 had been filtered by In Line filter and 95 had been filtered by flex Bior BBS filter, Fresenius Kabi AG®. All units of PRBCs presented $< 5 \times 10^6$ /unit of residual leukocytes. 4% of the samples presented more than 0.8% of hemolysis. The median of hemoglobin for the In line® filter was 58.7g/un and 68.7g/un for the Flex BBS® filter ($p < 0.05$). The median haematocrit value for the In line® filter was 55% and for the Flex BBS® filter 72% ($p < 0.05$). Microbiological analysis showed positive results in 3 units of PRBCs due the contamination of isolated samples during manipulation for the tests. **Conclusions** – Both filters have proved to be effective according to the established parameters, and preserved the remaining contents.

Descriptors: Filters; Quality control; Red blood cell; Blood banks

Introdução

As primeiras práticas transfusionais são relatadas desde a antiguidade (Learoyd, 2006). Com o avanço tecnológico e científico, surgiu a possibilidade de fracionar o sangue total em seus hemocomponentes, permitindo um melhor aproveitamento para o paciente (Razouk; Reiche, 2004)¹.

O concentrado de hemácias (CH) é o hemocomponente mais utilizado na hemoterapia humana, cuja finalidade é aumentar a capacidade de transporte de oxigênio do sangue pelo aumento da concentração de hemoglobina (Hb) (Ferdinandi, DM; Ferdinandi, OH, 2009)². No entanto, a ocorrência de algumas reações biológicas observadas em pacientes submetidos à transfusão sanguínea tem sido associada à presença de leucócitos nos hemocomponentes alogênicos transfundidos (Serinoli *et al.*³, 2004; Leal, 2004)⁴.

Acredita-se que os leucócitos podem ser vetores de transmissão de agentes infecciosos (Espírito Santo *et*

*al.*⁵, 2001; Razouk, Reiche, 2004)¹ e que sua lise celular durante a estocagem pode comprometer a qualidade dos demais hemocomponentes (Bordin; Fabron Jr., 1997)⁶. Estudos mostram que a leucorredução dos hemocomponentes tem sido um recurso viável e eficaz na redução de ocorrência de incidentes transfusionais. No entanto, os filtros utilizados nesse procedimento devem ser capazes de remover pelo menos 99% dos leucócitos presentes no concentrado de hemácias para que os riscos associados a esta linhagem celular sejam diminuídos (Razouk; Reiche, 2004)¹.

Diante disso, a RDC 57 da ANVISA, de 16/12/2010, e a Portaria MS n° 1.353, de 13/06/2011, preconizam que sejam avaliados mensalmente a viabilidade dos eritrócitos leucodepletados, através de testes laboratoriais referentes à avaliação de alguns parâmetros utilizados pelo controle de qualidade, como hemoglobina, hematócrito, grau de hemólise, leucócitos residuais e contaminação bacteriana.

Objetivos

Pretendeu-se com este estudo avaliar o desempenho do filtro In Line, que é acoplado ao sistema Composelect WB® de bolsas, e filtro flexível BioR 01 plus BBS®, ambos fabricados pela Fresenius Kabi AG® uma empresa de origem Alemã, e utilizados no serviço de hemoterapia para leucorredução de concentrados eritrocitários e o impacto da filtração sobre a viabilidade celular do hemocomponente remanescente em um Banco de Sangue privado de Goiânia.

Objetivos específicos

Avaliar a qualidade dos filtros leucodepletos com relação à redução dos leucócitos presentes nos Concentrados de Hemácia (CH);

Analisar se nas amostras, após filtração, o volume de leucócitos residuais é compatível com o valor determinado pela RDC 57/2010 e pela Portaria nº 1.353 que regem os procedimentos técnicos hemoterápicos no Brasil;

Avaliar a viabilidade do conteúdo remanescente por meio de parâmetros de qualidade do CH: hematócrito, hemoglobina, porcentagem de hemólise e contaminação bacteriana.

Métodos

Atendendo Resolução 196/96, esta pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CoEP/UFG) da Universidade Federal de Goiás sob o parecer de número 182/2012.

Este estudo retrospectivo foi realizado a partir de um banco de dados secundários arquivados pelo setor do Controle de Qualidade, que estava sob responsabilidade do Banco de Sangue Hemolabor de Goiânia (GO). Foram incluídos dados das unidades terapêuticas de Hemácias obtidas a partir de bolsa quádrupla com filtro In Line (sistema Composelect WB®), que contém como solução preservadora o CPD (citrato de sódio, fosfato de sódio e dextrose) e solução aditiva SAG-Manitol (soro fisiológico, adenina, glicose e manitol), e dados do concentrado de hemácia leucorreduzido pelo sistema de filtro flexível BioR 01 plus BBS®, cuja solução preservadora é CPDA-1 (citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose e adenina), utilizadas para transfusão no período de Janeiro de 2011 a Junho de 2012.

Cento e noventa e três bolsas de Concentrado de Hemácias leucorreduzidos, foram analisadas, sendo 98 bolsas leucorreduzidas pelo sistema de filtro In Line obtido a partir da bolsa quádrupla e 95 bolsas leucorreduzidas pela técnica de filtragem com filtro flexível (BioR 01 plus BBS®).

As amostras para análise do controle de qualidade foram coletadas das bolsas em tubos de ensaio apropriados para realização dos testes devidamente identificados. Cada amostra foi obtida após ordenhar o segmento da bolsa cinco vezes e realizar homogeneização suave eficiente. Foram retirados aproximadamente 5 mL do segmento da bolsa para a realização dos testes

de quantificação da Hemoglobina, Hematócrito, número de leucócitos residuais e grau de hemólise e 0,5 mL do segmento da bolsa para bacterioscopia.

O sistema de detecção microbiana foi baseado no sistema Hemobac Trifásico® (Probac do Brasil) onde inoculou-se com seringa e agulha a amostra coletada do segmento da unidade eritrocitária no frasco de cultura, que foi incubado em estufa a 35°C ± 2°C, por 2 a 4 horas. O resultado foi expresso pela detecção de CO₂ produzido por eventual crescimento bacteriano, utilizando-se um indicador permeável a gases existente no fundo do frasco que altera a sua cor de acastanhada para rosa forte ou vermelho.

A determinação do hematócrito foi realizada em centrifuga de microhematócrito (Hemata Stat II – Separation Technology®) a 6000 rpm, durante 1 minuto.

A determinação da quantidade de hemoglobina em gramas por unidade transfusional eritrocitária (UTE) foi realizada por cálculo: $Hb(g/UTE) = Hb(g/dl) \times Vol(dl)$. Sendo o valor de Hb obtidos pelo aparelho de análise ABX MICROS 60 – Fabricado pela horiba abx®.

A determinação do grau de hemólise, em unidades de CH e sangue total foi realizada pela aplicação de fórmula matemática que emprega o hematócrito, hemoglobina extracelular e hemoglobina total do hemocomponente:

$$\% \text{ hemólise} = 100 - (Ht \times Hbe) \div Hb$$

Onde:

Ht = hematócrito (%)

Hbe = hemoglobina extracelular (g/dl)

Hb = hemoglobina total (g/dl)

Os valores para Hb extracelular, Hb total e Leucócitos residuais, expresso em número de células x10⁶, foram obtidos em aparelho eletrônico (ABX MICROS 60 – horiba abx®), sendo a Hb extracelular dosada a partir do sobrenadante produzido pela centrifugação à 5000 rpm por um minuto da amostra de CH diluída em água.

O teste estatístico Kruskal Wallis, permitiu comparar os dados para avaliar a eficácia da leucorredução e, conseqüentemente, a eficiência da técnica empregada. Os dados aqui obtidos permitiram avaliar a conformidade com o padrão exigido pela RDC 57/2010 e pela Portaria MS nº 1.353.

Resultados e Discussão

A qualidade dos filtros foi avaliada de acordo com o número de leucócitos residuais. Segundo a RDC 57/2010, as unidades de CH devem conter menos de 5 x 10⁶ leucócitos residuais. Das 193 unidades de CH avaliadas, a mediana de leucócitos residuais foi de 1,4 x 10⁶ com pequena variação de desempenho entre os filtros (Tabela 1).

Unidades de concentrado de hemácias leucorreduzido por filtro In Line do sistema Composelect WB® podem ser armazenadas de 35 a 42 dias, enquanto

Tabela 1. Parâmetros de avaliação da qualidade do concentrado de hemácias estratificados pelo tipo de filtro utilizado.

	Total (n=193) Mediana (Mín. – Max.)	Filtro In Line® (n=98) Mediana (Mín. – Max.)	BiOR Plus 01 BBS® (n=95) Mediana (Mín. – Max.)	VR
Leucócitos residuais (x 10 ⁶ /mm ³)	1,4 (0,0 – 5,1)	1,21 (0,0 – 5,1)	1,05 (0,3 – 4,9)	< 5
Teor de hemoglobina* (g/unidade)	61,9 a (40,6 – 80,8)	58,74 b (40,6 – 74,7)	68,70 (50,6 – 80,8)	> 40
Hematócrito (%)	63 (28,6 – 79,0)	55 (28,6 – 66,0)	72 (60,0 – 79,0)	**
Grau de Hemólise (%)	0,38 (0,0 – 1,45)	0,0 (0,0 – 1,0)	0,38 (0,0 – 1,45)	< 0,8
Controle Microbiológico (%)				
1	98,5 (0,0 – 98,5)	99 (0,0 – 99,0)	99,5 (0,0 – 99,5)	
2	1,5 (0,0 – 1,5)	1 (0,0 – 1,0)	0,5 (0,0 – 0,5)	

VR: valor de referência

a: n=190; b: n=95

*(p<0,05)

Os valores de p foram determinados pelo teste de KruskalWallis.

** VR para filtro In Line® = 50 – 70%; VR para filtro BiOR 01 Plus BBS® = 65-80%

*** VR para Controle Microbiológico = 1 significa negativo e 2 positivo

unidades filtradas por filtro flexível BioR 01 plus BBS® possuem tempo de estocagem de até 35 dias, o que pode explicar a observação de uma menor contagem de leucócitos residuais nas amostras filtradas por BioR 01 plus BBS®. Apesar disso, o sistema que utiliza filtro In Line (sistema Composelect WB®) possui a vantagem de eliminar a maior parte dos leucócitos antes que estes se degradem, pois o processo de filtração ocorre antes do fracionamento, ainda na bolsa de sangue total, o que ajuda a minimizar a presença de citocinas e contaminação bacteriana ou viral (Serinolli *et al.*³, 2004). No entanto, os parâmetros que interferem na viabilidade celular não foram investigados.

Tanto o filtro flexível BioR 01 plus BBS® quanto o filtro In Line® foram eficientes na leucorredução, pois 99,5% das amostras estavam conforme o estabelecido pela RDC 57/2010.

O grau de hemólise, o hematócrito e a concentração de hemoglobina foram os parâmetros utilizados para avaliar a viabilidade celular das unidades de CH. O valor de referência utilizado para o grau de hemólise foi < 0,8% da massa eritrocitária. Um total de 4% (8 amostras) dos CHs apresentaram grau de hemólise maior que 0,8%, sendo 87,5% destas (7 amostras) filtradas por filtro flexível BioR 01 plus BBS® (p<0,05).

Na literatura é descrito que a ocorrência de hemólise em concentrado de hemácias pode ser devido ao trauma mecânico provocado pela “ordenha” (mecanismo de homogeneização realizada no manguito durante o processamento e preparação da bolsa de CH) e por lesões

diretamente proporcionais ao tempo de estocagem. Alguns autores relatam que componentes com hematócrito mais alto e, conseqüentemente, maior viscosidade, são mais propensos a apresentar maior grau de hemólise do que os componentes com menor viscosidade, como o sangue total (Carvalho *et al.*, 2007)⁷. Isso explica os resultados obtidos, uma vez que as unidades de CH leucodepletadas por filtro flexível BioR 01 plus BBS® foram as que apresentaram maior grau de hemólise, provavelmente devido ao maior período de estocagem. Além disso, as unidades terapêuticas eritrocitárias leucorreduzidas por filtro In Line® podem ter apresentado menor grau hemólise por serem filtradas antes do processamento, ou seja, juntamente com sangue total, que é menos viscoso. Outro aspecto que deve ser considerado é a adição de solução de SAG Manitol às unidades de concentrado de hemácias leucodepletadas por filtro In Line®, o que reduz o hematócrito do componente final e, conseqüentemente, sua viscosidade, diminuindo os riscos de hemólise acentuada.

Do total de 193 unidades de CH, 190 foram avaliadas quanto ao teor de hemoglobina, cuja mediana foi 61,9 g/unidade. Comparando o desempenho do filtro In Line® e flex BiOR 01 BBS®, a mediana da concentração de hemoglobina foi, respectivamente, 58,74 g/unidade para o filtro In Line® e 68,70 g/unidade para o filtro e flexível BiOR 01 plus BBS® (p<0,05).

A mediana do valor do hematócrito foi de 55% para o filtro In line® e 72% para o filtro flexível BioR 01 plus BBS® (Tabela 1). Aproximadamente 5% das unidades de CH filtradas pelo sistema In Line® apresen-

taram hematócrito abaixo do determinado pela legislação (<50%), sendo o valor máximo apresentado nessas unidades de 66%, enquanto 73,7% das unidades leucorreduzidas por filtro flexível BiOR 01 BBS® apresentam valores de hematócrito acima de 70%, sendo o valor máximo obtido de 79%. Essa diferença no hematócrito do CH filtrado pelo filtro In Line® e flex BiOR 01 BBS® pode ser explicada devido a adição de SAGManitol à solução conservante do componente final filtrado pelo sistema In Line®, que reduz o hematócrito por ser uma solução de maior osmolaridade que favorece a hemodiluição do concentrado de hemácias, funcionando como estabilizador da membrana eritrocitária (Tomczak *et al.*, 2010)⁸, enquanto as unidades de CH leucorreduzidas por filtro flex BiOR 01 BBS® são conservadas com CPDA1 sem adição de SAGManitol.

Os resultados mostraram que a maior concentração de hemoglobina está diretamente relacionada ao maior valor do hematócrito encontrado nas unidades filtradas pelo sistema flex BiOR 01 BBS®, que apresentaram maior grau de hemólise quando comparado com o sistema de filtro In Line®, que mostraram menores valores de Hemoglobina e hematócrito e menor grau de hemólise.

A contaminação bacteriana foi evidenciada em apenas 3 amostras (1,5%) dos CHs leucorreduzidos, sendo duas dessas amostras filtradas por filtro In Line® e uma filtrada por filtro flex BiOR 01 BBS®. Assim, 98,5% das amostras, que não apresentaram contaminação bacteriana, estavam de acordo com o parâmetro imposto pela RDC 57/2010.

As unidades leucorreduzidas por filtro In Line® que apresentaram resultado positivo para bacterioscopia mostraram crescimento bacteriano para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp.*, *S. coagulase* negativa e *Pseudomonas stutzeri*. Em uma nova bacterioscopia direta das unidades de origem dos CHs e dos frascos de cultura, os resultados foram negativos para as unidades de CH e positivos para amostras dos frascos de cultura.

A contaminação bacteriana pode acometer todos os hemocomponentes, podendo ocorrer ao longo do processo de doação pela antisepsia ineficaz do braço ou bacteremia do doador, no processamento devido à manipulação inadequada ou ainda durante a estocagem (Sousa Neto, 2010)¹⁰. Bactérias gram-negativas resistentes às temperaturas de refrigeração são os principais micro-organismos encontrados em casos de contaminação de bolsas de sangue (Brasil, 2007)¹¹. Uma vez que todos os procedimentos foram realizados com antisepsia e assepsia recomendadas e a colheita das amostras para realização do controle de qualidade foi realizada em câmara de fluxo laminar, podemos sugerir que a contaminação ocorreu durante o manuseio da amostra, apenas no frasco de cultura destinado ao controle de crescimento aeróbio (Cunha *et al.*, 2002)⁹.

Conclusão

O número de leucócitos residuais das unidades de CH leucorreduzidas foi considerado adequado como

determinado pela RDC 57/2010, demonstrando a qualidade de ambos os filtros testados.

As variações proporcionais encontradas no grau de hemólise, valor de hematócrito e hemoglobina, demonstraram que o conteúdo remanescente das unidades de CH leucorreduzidas por filtro In Line® são mais viáveis em relação ao concentrado remanescente das unidades de CH leucorreduzidas por filtro flexível BiOR 01 Plus BBS®, já que apresentam variação menor do grau de hemólise e valores mais próximos ao exigido pela RDC 57/2010. Essa diferença pode ser explicada pela adição de SAGManitol ao conservante nas unidades de CH leucorreduzidas por filtro In Line®.

Desta forma, ambos os filtros utilizados parecem demonstrar eficiência para realizar a leucorredução e conservar a viabilidade celular das hemácias remanescentes, nos parâmetros testados. No entanto, o filtro In Line®, utilizado em bolsas de sangue total pré-estoque, provou ser um mecanismo mais eficiente para efetuar a leucodepleção do concentrado de eritrócitos do que o filtro flexível BiOR 01 Plus BBS®, utilizado pós-estoque, sugerindo que as variações encontradas podem estar relacionadas ao tempo de estocagem das amostras e não à qualidade do processo de filtração.

O controle microbiológico foi considerado negativo para todas as unidades de CH estudadas, uma vez que os resultados positivos estavam possivelmente relacionados à contaminação durante o manuseio das amostras para realização dos testes do controle de qualidade.

Referências

1. Razouk FH, Reiche EMV. Caracterização, produção e indicação clínica dos principais hemocomponentes. Rev Bras Hematol Hemoter. 2004; 26(2):126-34.
2. Ferdinandi DM, Ferdinandi OH. Indicações transfusionais dos principais hemocomponentes e indicações do transplante de medula óssea (TMO). AC&T Científica. 2009. 1(1).
3. Serinolli MI, Novaretti MCZ, DorlhiacLacer PE, Chamone DAF. Estudo do método da extração da camada leucoplaquetária na produção de hemocomponentes – avaliação laboratorial. Rev Bras Hematol Hemoter. 2004; 26(3):167-76.
4. Leal J. Avaliação de um novo filtro flexível para leucorredução de concentrados eritrocitários. Rev ABO. 2004;(18).
5. Espírito Santo D, Nazário A, Tique S, Delgado G. Desleucocitação ineficaz nos Concentrados Eritrocitários provenientes de portadores de Hemoglobina S. ABO – Rev Med Transfus. 2001; (25):337.
6. Bordin JO, Fabron Jr A. Aplicação clínica de filtros leucocitários. Rev Assoc Med Bras. 1997;43(3):205-8.
7. Carvalho EB, Borges EL, Carlos LMB, Silva MAM, Magalhães SMM, Gomes FVBAF, *et al.* Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. Rev Bras Hematol Hemoter. 2007;29(2):149-52.
8. Tomczak ACTQ, Grilo KTM, Castro JM, Machado AMB, Leonard MSS, Nascimento AJ. Estudo de métodos laboratoriais para o controle de qualidade de unidades transfusionais eritrocitárias no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (Hemepar), Brasil. Rev Bras Hematol Hemoter., v. 32. 2010;32(1):209-14.

9. Cunha MLRS, Lopes CAM, Rugolo LMSS, Chalita LVAS. Significância clínica de estafilococos coagulase-negativa isolados de recém-nascidos. *J Pediatr.* 2002;78(4):279-88.

10. Sousa Neto AL, Barbosa MH. Incidentes transfusionais imediatos: revisão integrativa da literatura. *Acta Paul Enferm.* 2012; 25(1):146-50.

11. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Hemovigilância: manual técnico para investigação das reações transfusionais imediatas e tardias não infecciosas. Brasília: 2007.

Endereço para correspondência:

Maísa Ribeiro
Av. Anhanguera, 4931, Ed Baiocchi, ap 1201-B – Centro
Goiânia-GO, CEP 74043-010
Brasil

E-mail: maisaribeiro22@hotmail.com

Recebido em 5 de fevereiro de 2013
Aceito em 10 de julho de 2013