



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

ANDRÉA FERNANDA ORIGA

Avaliação do efeito centrífugo acumulado como parâmetro de programação de centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na produção de hemocomponentes a partir de bolsas quádruplas *Top and Bottom*

CAMPINAS

2019

ANDRÉA FERNANDA ORIGA

Avaliação do efeito centrífugo acumulado como parâmetro de programação de centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na produção de hemocomponentes a partir de bolsas quádruplas *Top and Bottom*

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Hemoterapia, na área de concentração Hemoterapia.

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCELO ADDAS CARVALHO

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA
ALUNA ANDRÉA FERNANDA ORIGA, E ORIENTADO PELO
PROF. DR. MARCELO ADDAS CARVALHO

CAMPINAS
2019

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

Or43a Origa, Andréa Fernanda, 1967-
Avaliação do efeito centrífugo acumulado como parâmetro de programação de centrifugas Sorvall® RC3BP+™ na produção de hemocomponentes a partir de bolsas quádruplas *Top and Bottom* / Andréa Fernanda Origa. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Marcelo Addas Carvalho.
Dissertação (mestrado profissional) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Centrifugação. 2. Buffy coat. 3. Metodologia. I. Carvalho, Marcelo Addas. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Evaluation of the accumulated centrifugal effect as a programming parameter of Sorvall®RC3BP+™ centrifuges in the production of blood components from *Top and Bottom* quadruple bags

Palavras-chave em inglês:

Centrifugation

Blood buffy coat

Methodology

Área de concentração: Hemoterapia

Titulação: Mestra em Hemoterapia

Banca examinadora:

Marcelo Addas Carvalho [Orientador]

Silvia Renata Cornelio Parolin Rizzo

Simone Cristina Olenscki Gilli

Data de defesa: 10-09-2019

Programa de Pós-Graduação: Hemoterapia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-5389-0663>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/9059984452271197>

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

ANDRÉA FERNANDA ORIGA

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCELO ADDAS CARVALHO

MEMBROS:

1. PROF. DR. MARCELO ADDAS CARVALHO

2. PROF^a . DR^a. SILVIA RENATA CORNELIO PAROLIN RIZZO

3. PROF^a . DR^a. SIMONE CRISTINA OLENSCKI GILLI

Programa de Pós-Graduação em Hemoterapia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 10/09/2019

AGRADECIMENTOS

Ao Hemocentro de Campinas/Unicamp pela oportunidade.

À Dr^a. Malu e Dr. Marcelo pelo comprometimento com a estruturação dos módulos componentes do Programa de Mestrado Profissional em Hemoterapia e pelo incentivo e a todos os professores, pela dedicação e conhecimento transmitido.

À minha família pelo apoio.

Ao Cícero pelas informações técnicas que me auxiliaram na decisão pelo tema deste trabalho.

À Dr^a. Malu pelo incentivo na fase de definição do tema desse trabalho.

À Regina pelas discussões valiosas, pela receptividade, disponibilidade e apoio durante toda a execução prática deste estudo.

Ao Nelson, Émerson, Valéria e Angélica que tão prontamente me auxiliaram com maior proximidade e frequência durante a fase prática e a todos os demais profissionais do processamento que, ao longo de todas etapas desse estudo, contribuíram de forma decisiva para viabilizá-lo.

À Thays, Leandro e demais profissionais da coleta, muito obrigado pelo suporte.

À Marcela e à Andréia pelo apoio, profissionalismo e compreensão quanto aos períodos de ausência durante as atividades teóricas do mestrado.

À Bruna e Karina (*in memoriam*) pelo apoio e troca de experiências.

À Daniela que me orientou tantas vezes e de forma assertiva em relação aos trâmites de documentação do programa de pós-graduação.

À Prof^a. Dr^a. Raquel Muller Gonçalves Lopes e ao Prof. Dr. Ivan de Lucena Ângulo pelo aceite em comporem a banca como membros suplentes.

Ao Dr. Marcelo, pelo apoio desde o início, pelos questionamentos e puxões de orelha, pela orientação sempre decisiva e observações pertinentes, pelo compartilhamento de experiências, sobretudo, pelo imenso exercício da paciência.

Às Prof^{as}. Dr^{as}. Sílvia Renata Cornélio Parolin Rizzo e Simone Cristina Olenski Gilli por todos os apontamentos, sugestões de melhoria e questionamentos que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho e para minha bagagem pessoal e profissional.

RESUMO

Introdução: A definição dos protocolos de centrifugação para o processo de produção de hemocomponentes é etapa fundamental na garantia da conformidade do processo, porém sujeita a variáveis que tornam difícil tanto o desempenho ciclo a ciclo na mesma centrífuga quanto a reprodução dos rendimentos obtidos. É possível minimizar o efeito dessas variáveis definindo como parâmetros de centrifugação a velocidade (RPM) e substituindo o tempo (min.) pelo efeito centrífugo acumulado (ECA) calculado pelas centrífugas Sorvall® RC3BP+™. **Objetivo:** Avaliar a utilização do ECA em protocolo alternativo para a programação de centrífugas Sorvall® RC3BP+™ (CS) na produção de hemocomponentes. **Materiais e Métodos:** O sangue total (450 ± 45 mL) foi coletado em bolsas quádruplas *Top and Bottom* (Fresenius Kabi, Brasil), centrifugado e separado em concentrado de hemácias pobre em leucócitos (CHPL), plasma fresco congelado (PFC) e concentrado de plaquetas *buffy coat single* (CPBCS) com uso de extratores (Compomat G5, Fresenius, Germany). Os ciclos de centrifugação foram comparados através da avaliação dos hemocomponentes produzidos em duas fases do estudo: Fase I qualificação funcional em quatro CS (X, XIII, XVI, XXV) com dois protocolos distintos definidos em RPM x tempo, cada um deles aplicado a duas das centrífugas (n=48; 12 unidades/CS) e Fase III (n=54; 18 unidades/CS) qualificação com ciclos definidos por RPM x ECA com protocolos idênticos aplicados a três CS em operação (X, XIII, XVI). Na fase II foram acompanhados ciclos de centrifugação (n=9) em centrífuga referência (X) para determinação dos valores de ECA utilizados na etapa III. **Resultados:** Na fase I, quando aplicada a forma tradicional de programação (RPM x tempo) os hemocomponentes obtidos mostraram perfis similares na inspeção de qualidade para a quase totalidade dos parâmetros avaliados, com exceção do volume no CPBCS ($p=0,0002$). Apesar das diferenças, o parâmetro atendeu ao padrão com 100,0% de conformidade. Na programação alternativa (RPM x ECA) foram observadas diferenças significativas ($p=0,0423$) para as contagens de leucócitos residuais no PFC e para o volume do CPBCS ($p = 0,0074$). A conformidade para esses dois parâmetros foi de 100,0% em todas as centrífugas. Demais requisitos da qualidade avaliados nas duas fases atenderam plenamente aos padrões com conformidades mínimas de 95,8% (Fase I) e de 94,4% (Fase III), ambas relacionadas à contagem de leucócitos no CHPL. **Discussão:** Neste estudo

os parâmetros da qualidade dos hemocomponentes produzidos em CS nas programações convencional e alternativa foram avaliados. As diferenças observadas em alguns parâmetros de inspeção podem ter outra origem que não o protocolo adotado. No entanto, não impactaram nos percentuais de conformidade, que se mantiveram elevados em ambas as abordagens. **Conclusão:** O uso do ECA associado à velocidade de centrifugação garantiu resultados similares ao formato tradicional de programação de centrifugas quanto ao atendimento aos percentuais de conformidade e permitiu a replicação de um único protocolo para todas as centrifugas de mesmo modelo, diminuindo assim tempo e recursos gastos na fase de qualificação de desempenho das centrifugas.

Palavras-chave: centrifugação, *buffy coat*, metodologia

ABSTRACT

Introduction: The definition of centrifugation protocols for the production of blood components is a critical step to ensure the compliance of the process, however it is subject to variables that hampers both the cycle to cycle performance on the same centrifuge and the reproduction of the yield obtained. The effect of these variables can be minimized by defining parameters such as centrifugation speed (RPM) and replacing the time (min.) by accumulated centrifugal effect (ACE) calculated by the Sorvall® RC3BP+™ centrifuge. **Objective:** To evaluate the use of ACE in an alternative protocol for the programming of Sorvall® RC3BP™ centrifuges (SC) in the production of blood components. **Materials and Methods:** Whole blood (450 ± 45 mL) was collected in Top and Bottom quadruple bags (Fresenius Kabi, Brazil), centrifuged and separated into leukocyte-poor red blood cell concentrates (LP-RCC), fresh frozen plasma (FFP) and buffy coat single platelet concentrates (BCPC) with the use of extractors (Compomat G5, Fresenius, Germany). The centrifugation cycles were compared through the evaluation of the blood components produced in two phases: Phase I study functional qualification in four SC (X, XIII, XVI, XXV) with two distinct protocols defined by RPM x time, each one of them applied to two of the centrifuges (n=48; 12 units/SC) and phase III (n=54; 18 units/SC) qualification with defined cycles per RPM x ACE with similar protocols applied to three SC in operation (X, XIII, XVI). In phase II, centrifuge cycles (n = 9) were followed in a reference centrifuge (X) to determine the ACE values used in stage III. **Results:** In phase I, when the traditional programming method (RPM x time) was applied, the blood components obtained displayed similar profiles in quality inspection for almost all of the parameters assessed, with the exception of the volume of BCPC (p=0.0002). Despite this difference, the parameter met the standards with 100.0% compliance. In the alternative programming (RPM x ACE) significant differences were observed (p=0.0423) for residual leukocyte counts in the FFP and the volume of BCPC (p = 0.0074). The compliance for these two parameters was 100.0% in all of the centrifuges. Other quality requirements assessed in the two stages fully met the standards with minimum compliance of 95.8% (Phase I) and 94.4% (Phase III), both related to the leukocyte count in LP-RCC. **Discussion:** In this study, the parameters of the quality of the blood components produced in SC in the conventional and alternative programs were evaluated. The differences observed in some inspection

parameters may have a different origin than the adopted protocol. However, they did not impact on compliance rates, which remained high in both approaches.

Conclusion: The use of ACE together with the centrifugation speed assured results similar to the traditional programming of centrifuges regarding the percentages of compliance and allowed the replication of a single protocol in all centrifuges of the same model, thus reducing time and resources spent on the performance qualification phase of the centrifuges.

Keywords: centrifugation, blood buffy coat, methodology

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Bolsas <i>Top Top</i> (TT) e <i>Top and Bottom</i> (TAB).....	20
Figura 2. Efeito centrífugo acumulado (ECA).....	27
Figura 3. Padrões de aceleração da centrífuga com diferentes cargas do rotor.	28
Figura 4. Esquematização das três etapas do trabalho.....	35
Figura 5. Valores do ECA no ciclo 1 de centrifugação.	55
Figura 6. Valores do ECA no ciclo 2 de centrifugação.	56
Figura 7. Composição percentual do ECA do ciclo 1 de centrifugação.	57
Figura 8. Composição percentual do ECA do ciclo 2 de centrifugação	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Caracterização das fases do estudo e amostragem.....	36
Tabela 2.	Parâmetros de inspeção, padrões e conformidades da Fase I.....	38
Tabela 3.	Programas de centrifugação utilizados na Fase I.....	40
Tabela 4.	Programas de centrifugação utilizados na Fase II.....	41
Tabela 5.	Parâmetros de inspeção, padrões e conformidades da Fase II.....	42
Tabela 6.	Programas de centrifugação utilizados na Fase III.....	43
Tabela 7.	Parâmetros de inspeção, padrões e conformidades da Fase III.....	45
Tabela 8.	Resultados do ST processado na Fase I do estudo.....	46
Tabela 9.	Resultados do CHPL na Fase I do estudo.....	47
Tabela 10.	Resultados do PFC processado na Fase I do estudo.....	48
Tabela 11.	Resultados do CPBCS processado na Fase I do estudo.....	49
Tabela 12.	Percentuais de conformidade para os parâmetros de inspeção dos hemocomponentes na Fase I do estudo.....	49
Tabela 13.	Resultados do CHPL e PFC na Fase II do estudo.....	51
Tabela 14.	Resultados do CPBCS na Fase II do estudo.....	51
Tabela 15.	Percentuais de conformidade para os parâmetros de inspeção dos hemocomponentes na Fase II do estudo.....	52
Tabela 16.	Valores de ECA em três momentos distintos do ciclo de centrifugação de centrífugas Sorvall® RC3BP+ durante a Fase II do estudo (ciclos definidos por RPM e tempo).....	54
Tabela 17.	Valores de ECA obtidos na Fase II do estudo para cada etapa dos ciclos de centrifugação.....	58
Tabela 18.	Resultados do ST na Fase III do estudo.....	59
Tabela 19.	Resultados do CHPL na Fase III do estudo.....	59
Tabela 20.	Resultados do PFC na Fase III do estudo.....	60
Tabela 21.	Avaliação das contagens de leucócitos obtidas no plasma na Fase III do estudo.....	61
Tabela 22.	Resultados do CPBCS na Fase III do estudo.....	62
Tabela 23.	Percentuais de conformidade para os parâmetros de inspeção dos hemocomponentes obtidos na Fase III do estudo.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACD	Solução anticoagulante com ácido cítrico, citrato e dextrose
ACE	<i>Accumulated centrifugal effect</i>
BC	<i>Buffy coat</i>
CS	Centrífugas Sorvall® RC3BP+™
CH	Concentrado de hemácias
CHPL	Concentrado de hemácias pobre em leucócitos
CP	Concentrado de plaquetas
CPD	Solução anticoagulante com citrato, fosfato e dextrose
CPBC	Concentrado de plaquetas <i>buffy coat</i>
CPBCS	Concentrado de plaquetas <i>buffy coat single</i>
FCR	Força centrífuga relativa
g	Força gravitacional terrestre
PRTC nº 05	Portaria de Consolidação nº 05 de 03 de outubro de 2017
PFC	Plasma fresco congelado
PPP	Plasma pobre em plaquetas
PRP	Plasma rico em plaquetas
RPM	Revoluções por minuto (velocidade de centrifugação)
SAG-M	Solução aditiva para preservação de hemácias composta de cloreto de sódio, adenina, glicose e manitol
SAP	Solução aditiva para preservação de plaquetas
ST	Sangue total
TAB	Bolsa <i>Top and Bottom</i>
TT	Bolsa <i>Top Top</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. PRODUÇÃO DE HEMOCOMPONENTES	16
1.2. MÉTODOS DE PRODUÇÃO DE HEMOCOMPONENTES	18
1.2.1. METODOLOGIA DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS.....	18
1.2.2. METODOLOGIA DO <i>BUFFY COAT</i>	19
1.2.2.1. BOLSAS QUÁDRUPLAS PARA REMOÇÃO DO <i>BUFFY COAT</i>	20
1.2.2.2. PRODUÇÃO DE HEMOCOMPONENTES COM USO DE BOLSAS <i>TOP AND BOTTOM</i> ...	21
1.2.3. PERFIL DA PRODUÇÃO PELA METODOLOGIA <i>BUFFY COAT</i>	22
1.3. CENTRIFUGAÇÃO	23
1.3.1. CENTRIFUGAÇÃO DIFERENCIAL.....	25
1.4. PROGRAMAÇÃO DE CENTRÍFUGAS	25
1.4.1. EFEITO CENTRÍFUGO ACUMULADO (ECA)	26
1.5. QUALIFICAÇÃO DE DESEMPENHO DE CENTRÍFUGA	28
1.6. CENTRÍFUGA SORVALL® RC3BP™ PLUS.....	31
1.6.1. MANUTENÇÃO PREVENTIVA DE CENTRÍFUGAS	32
1.7. VALIDAÇÃO DE PROCESSO	32
1.8. CONTROLE DE QUALIDADE DE HEMOCOMPONENTES	33
2. OBJETIVOS	33
2.1. GERAL	33
2.2. ESPECÍFICOS.....	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1. FASE I – AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DAS CENTRÍFUGAS COM CICLOS DEFINIDOS PELOS PARÂMETROS RPM X TEMPO	37
3.2. FASE II – IDENTIFICAÇÃO DOS VALORES DE EFEITO CENTRÍFUGO ACUMULADO DURANTE CICLOS DE CENTRIFUGAÇÃO PRATICADOS NA ROTINA.....	40
3.3. FASE III – QUALIFICAÇÃO DE DESEMPENHO DAS CENTRÍFUGAS COM CICLOS DEFINIDOS POR VELOCIDADE DE CENTRIFUGAÇÃO E EFEITO CENTRÍFUGO ACUMULADO (ECA).....	43
3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45
4. RESULTADOS	46
4.1. FASE I – AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DAS CENTRÍFUGAS COM CICLOS DEFINIDOS PELOS PARÂMETROS RPM X TEMPO	46

4.1.1. SANGUE TOTAL	46
4.1.2. CONCENTRADO DE HEMÁCIAS POBRE EM LEUCÓCITOS	46
4.1.3. PLASMA FRESCO CONGELADO	47
4.1.4. CONCENTRADO DE PLAQUETAS <i>BUFFY COAT SINGLE</i>	48
4.2. FASE II – IDENTIFICAÇÃO DOS VALORES DE EFEITO CENTRÍFUGO ACUMULADO DURANTE CICLOS DE CENTRIFUGAÇÃO PRATICADOS NA ROTINA.....	50
4.2.1. CONCENTRADO DE HEMÁCIAS POBRE EM LEUCÓCITOS E PLASMA	50
4.2.2. CONCENTRADO DE PLAQUETAS <i>BUFFY COAT SINGLE</i>	51
4.2.3. EFEITO CENTRÍFUGO ACUMULADO	53
4.3. FASE III – QUALIFICAÇÃO DE DESEMPENHO DAS CENTRÍFUGAS COM CICLOS DEFINIDOS POR VELOCIDADE DE CENTRIFUGAÇÃO E EFEITO CENTRÍFUGO ACUMULADO (ECA).....	58
4.3.1. SANGUE TOTAL	58
4.3.2. CONCENTRADO DE HEMÁCIAS POBRE EM LEUCÓCITOS	59
4.3.3. PLASMA FRESCO CONGELADO	59
4.3.4. CONCENTRADO DE PLAQUETAS <i>BUFFY COAT SINGLE</i>	61
5. DISCUSSÃO	63
6. CONCLUSÃO	68
7. REFERÊNCIAS	69
8. APÊNDICES	77

1. INTRODUÇÃO

1.1. Produção de hemocomponentes

Na hemoterapia atual, o sangue obtido no ato da doação (sangue total) não é disponibilizado nesse estado para transfusão, salvo bem definidas exceções. Suas frações (elementos celulares e plasmáticos) são separadas dando origem a diversos hemocomponentes: concentrados de hemácias e de plaquetas, plasma fresco congelado e crioprecipitado. Essa separação permite que condições adequadas de conservação (temperatura, plastificante da bolsa, soluções aditivas) sejam garantidas isoladamente para cada hemocomponente, preservando suas características físicas e funcionais e ampliando sua sobrevida. Essa estratégia possibilita então o uso racional do sangue, a redução do risco de reações transfusionais (oferecimento apenas dos elementos terapêuticamente necessários associados a baixos volumes), melhor gerenciamento dos estoques, vantagens logísticas e maior eficácia transfusional (1-3).

Durante muito tempo a reposição de plaquetas foi feita através da transfusão de unidades de sangue total (ST) e de concentrados de hemácias (CH) criando uma limitação à abordagem clínica. Nesses componentes a viabilidade das plaquetas ficava comprometida pelo tempo de acondicionamento das unidades em ambiente refrigerado. Além disso, a concentração plaquetária oferecida por transfusão era insuficiente para atingir doses terapêuticamente eficazes, levando à necessidade de transfusões de repetição e aos seus riscos associados (1). A utilização posterior do plasma rico em plaquetas (PRP) ainda impôs limitações pelas condições de armazenamento praticadas, que afetavam a viabilidade e sobrevida das plaquetas *in vivo* (4). A produção de hemocomponentes nos moldes como vemos hoje se tornou possível com o desenvolvimento e aprimoramento das bolsas plásticas, dos plastificantes especiais para armazenamento de plaquetas, dos anticoagulantes, das soluções nutritivas e das metodologias de preparação (5-7).

Uma das primeiras metodologias para a separação das plaquetas a partir do ST coletado com solução anticoagulante composta de ácido cítrico, citrato e dextrose (ACD) foi desenvolvida na década de 1950, quando o sangue ainda era coletado em frascos de vidro. O procedimento era trabalhoso e consistia de etapa inicial de sedimentação espontânea das hemácias (potencializada pelo uso de

dextran) e de centrifugações sucessivas para a concentração das plaquetas, nas quais o triton era empregado para a prevenção da agregação plaquetária (8). O concentrado de plaquetas obtido (CP) permitiu a oferta de maiores concentrações plaquetárias associadas a baixos volumes por dose transfusional e trouxe novos desafios à produção de hemocomponentes.

As soluções aditivas para preservação das plaquetas (SAP) tornaram-se disponíveis na década de 1980 permitindo maior recuperação de plasma no processo de produção dos hemocomponentes, melhores condições de armazenamento das plaquetas e redução quantidade de anticorpos anti-A e anti-B nas unidades produzidas (9).

Ao longo do tempo novas metodologias, insumos e equipamentos tornaram-se disponíveis. A evolução da produção meramente manual e trabalhosa para a automação iniciou-se com o surgimento dos equipamentos de conexão estéril e de extração como Compomat[®] (Fresenius) e Optipress[®] (Fenwal) na década de 1980 (10,11). A automação permitiu ganhos substanciais, independente da metodologia de produção utilizada, ao permitir melhor controle dos volumes de hemocomponentes extraídos em cada passo do processo, minimizando perdas, contribuindo para o incremento do teor de hemoglobina nas unidades de CH e para maior recuperação de plaquetas no CP. Outros ganhos importantes foram as reduções nos tempos de extração, a diminuição da dispersão entre as medidas (melhor padronização da produção) e a maior consistência de resultados conformes (10,12). Os avanços, em conjunto, deixaram a produção mais ágil e elevaram o patamar de qualidade dos hemocomponentes.

A automação de segunda geração representada pelos sistemas OrbiSac[®] (2003) e TACSI[®] (2007) ambos da Terumo BCT permitiu automação completa da produção de *pools* de plaquetas obtidos do *buffy coat* (13-15). Equipamentos introduzidos posteriormente como o Atreus[®] e o sistema Reveos[®] (Terumo) já permitem a completa automação de vários passos da produção dos hemocomponentes a partir do ST. A cada inovação, a qualidade dos hemocomponentes obtidos revelou-se equiparável ou superior à da produção manual, garantindo um processo com maior uniformidade (15,17).

1.2. Métodos de produção de hemocomponentes

A produção de hemocomponentes para fins terapêuticos pode ocorrer pela metodologia de aférese (coleta automatizada) ou por meio da coleta do sangue total (ST) e seu posterior fracionamento. Na produção de hemocomponentes a partir do ST emprega-se o processo de centrifugação diferencial, seguido da separação dos componentes com auxílio de extratores automatizados, sendo necessários um ou dois ciclos de centrifugação / extração de acordo com os hemocomponentes que serão produzidos (3).

No setor de processamento, é possível produzir hemocomponentes com perfis distintos de celularidade aliando as metodologias de produção disponíveis à seleção de bolsas para coleta (*sets* de coleta) que apresentem a configuração adequada ao tipo de produção desejada, com ou sem automação completa (1,15).

No entanto, as metodologias de produção devem ser adaptadas localmente para a garantia de que todos os hemocomponentes obtidos de uma mesma unidade de ST atendam aos padrões de qualidade especificados, sem comprometimento da viabilidade ao longo do armazenamento (6,18). Nesse contexto, a definição da metodologia utilizada na fase de processamento (programas e procedimentos) e o bom funcionamento dos equipamentos utilizados são essenciais (19).

Enquanto a produção de concentrado de hemácias (CH) e de plasma fresco congelado (PFC) envolve apenas um ciclo de centrifugação e um ciclo de extração, na produção conjunta de CH, concentrado de plaquetas (CP) e PFC dois ciclos de centrifugação e duas etapas de extração se intercalam (3).

1.2.1. Metodologia do Plasma Rico em Plaquetas

O método de produção de concentrado de plaquetas (CP) utilizando o plasma rico em plaquetas (PRP) é um procedimento padrão de obtenção de hemocomponentes bastante difundido desde a introdução das bolsas plásticas nos anos 1960, ainda bastante utilizado nos Estados Unidos, porém pouco expressivo atualmente na Europa (20).

A obtenção de CP pela metodologia do PRP consiste na coleta do sangue total (ST) em um conjunto de bolsas triplas com a aplicação inicial de centrifugação leve (*soft spin*) para sedimentar as hemácias e parte dos leucócitos e manter em

suspensão a maioria das plaquetas. O PRP é então extraído para uma bolsa satélite e o concentrado de hemácias (CH) permanece na bolsa principal. Logo após a extração, a bolsa com o PRP é submetida a uma centrifugação pesada (*hard spin*) que resulta na sedimentação e adesão das plaquetas ao plástico da bolsa. O plasma pobre em plaquetas (PPP) em seguida é extraído para uma bolsa satélite e o CP, após repouso de cerca de duas horas, é colocado em homogeneização para desagregação das plaquetas (3).

1.2.2. Metodologia do *buffy coat*

Na Europa, a preocupação com a contaminação leucocitária dos concentrados de hemácias (CH) e com a qualidade dos concentrados de plaquetas (CP), aliada à demanda crescente de plasma para processamento industrial, estimulou na década de 1990 a adesão a uma nova proposta de produção denominada metodologia *buffy coat* (BC) (20), introduzida posteriormente no Canadá em 2004 (21). Nos Estados Unidos essa metodologia teve pouca aceitação. Até a década de 1990 houve predomínio da produção de plaquetas a partir do PRP e a partir de então até a atualidade a coleta por aférese predomina (12).

Em 1979 a Cruz Vermelha da Finlândia, com o objetivo de obter leucócitos para a produção de interferon de origem humana, deu início ao processo de remoção da camada leucoplaquetária (*buffy coat*) formada após a centrifugação do sangue total (ST). Por meio da extração manual removia-se o plasma e na sequência o BC contendo cerca de 80% dos leucócitos. Os CHs resultantes permaneciam viáveis para transfusão. O uso regular desses concentrados de hemácias com contaminação leucocitária reduzida foi associado à diminuição dos episódios de reação transfusional (22).

O BC posteriormente revelou-se uma fonte excelente para a produção de CP com concentrações plaquetárias elevadas, menor contaminação leucocitária (20, 21) e menor incidência de reações transfusionais em comparação ao CP obtido do PRP (23).

A consolidação da metodologia do *buffy coat* incentivou a pesquisa de novas soluções para o aperfeiçoamento dessa produção, até então muito dependente da extração manual do BC, que ocasionava variabilidade significativa no perfil dos hemocomponentes obtidos. A introdução das bolsas *Top and Bottom*

(TAB) permitiu um melhor isolamento da camada de BC e viabilizou a introdução da extração automatizada (10,24-26).

Os concentrados de plaquetas obtidos do *buffy coat* (CPBC) podem ser produzidos de forma unitária (*single*) ou como *pools*. Estes últimos oferecem doses terapêuticas eficazes (27) e ao mesmo tempo permitem maior recuperação do plasma por meio de sua substituição por soluções aditivas (28).

1.2.2.1. Bolsas quádruplas para remoção do *buffy coat*

Inicialmente, na produção pela metodologia BC foram usadas as bolsas quádruplas *Top Top* (TT) (Figura 1A) que posteriormente foram substituídas pelas bolsas quádruplas *Top and Bottom* (TAB) (Figura 1B). O modelo TT limitou a remoção do BC ao processo manual e a mudança do design do set de coleta trazida com a bolsa TAB permitiu a associação do uso da automação nas fases de extração.

A contaminação leucocitária dos hemocomponentes mostrou-se dependente da configuração da bolsa utilizada no processo, sendo inferior quando empregadas bolsas TAB que, associadas à automação, permitiram a produção e reprodutibilidade de hemocomponentes de qualidade elevada (29-31).

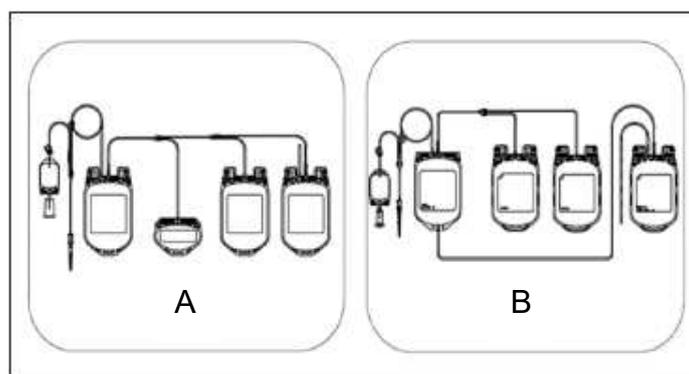


Figura 1. A) Bolsa *Top Top* (TT); B) Bolsa *Top and Bottom* (TAB).
Modificado de Cerelli 2005 (30).

A bolsa TAB (Figura 1B) é dotada de duas tubulações para extração de hemocomponentes, uma delas localizada em sua região superior (*top*) pela qual o plasma extraído é enviado para uma bolsa satélite e a outra tubulação localiza-se na região inferior (*bottom*) e permite o deslocamento do CHPL para outra bolsa satélite contendo solução aditiva para a preservação do CH por 42 dias (10).

A contaminação de leucócitos é menor no modelo de bolsa quádrupla TAB quando comparada ao modelo convencional TT em decorrência da adesão de leucócitos e plaquetas ao plástico da bolsa principal durante a centrifugação. No *set* convencional a bolsa principal armazena o concentrado de hemácias pobre em leucócitos (CHPL) e nela podem restar, aderidas ao plástico, quantidades variáveis de leucócitos, que contribuem para a elevação da concentração de leucócitos residuais. Nas bolsas TAB o CHPL é expresso para uma bolsa satélite e permanecem na bolsa principal o BC e os leucócitos e plaquetas aderidos ao plástico (30,32,33).

Quando a contagem de leucócitos do doador chega ao patamar de 7 a 8 x 10³/μL o risco do aparecimento de unidades de CHPL não conformes aumenta quando o modelo de bolsa utilizado é o TT, ao passo que para o modelo TAB essa correlação não foi observada (30).

1.2.2.2. Produção de hemocomponentes com uso de bolsas *Top and Bottom*

O sangue total (ST) é submetido a um ciclo inicial de centrifugação pesada ou *hard spin* que tem como objetivo promover a sedimentação de todos os tipos celulares (hemácias, leucócitos e plaquetas). Ao final do processo podem ser visualizadas três camadas distintas de componentes: as hemácias na parte inferior da bolsa, na região superior o plasma e entre ambas o BC contendo a maior parcela de leucócitos e de plaquetas. Em sequência à primeira centrifugação é realizada a extração tanto do plasma fresco congelado (PFC) quanto do CHPL com auxílio de um extrator automatizado. Desse processo resultam o PFC, o CHPL e o BC que fica retido na bolsa original de coleta (3).

O BC passa então por uma segunda etapa de centrifugação que tem como objetivo de sedimentar as hemácias e leucócitos e ao mesmo tempo manter a maior parte das plaquetas em suspensão no plasma (centrifugação leve). Na sequência o plasma é extraído para uma bolsa satélite dando origem ao concentrado de plaquetas *buffy coat single* (CPBCS). Na bolsa do BC, descartada ao final do processo de produção, ficam retidas as hemácias e a quase totalidade dos leucócitos. Alternativamente, os BC (4 a 6 unidades) podem ser associados em *pools* e submetidos à centrifugação leve para obtenção dos *pools* de plaquetas (3,32).

O BC padrão para a produção do CPBCS tem volume aproximado de 95 mL, hematócrito de 25% a 30% e fração plasmática de 65 mL (7,32) e retém cerca de 90% a 95% das plaquetas do ST, deixando o plasma com poucos elementos celulares (20). Devido ao perfil característico do BC, ocorre redução média de 12,7% da massa eritrocitária presente no ST, que pode significar na prática perda de 24 mL de hemácias (7,25). Essa perda pode ser reduzida por meio de ajustes nos protocolos de centrifugação e nos parâmetros de extração, permitindo recuperações mais expressivas aliadas ao atendimento aos parâmetros da qualidade (7,34).

1.2.3. Perfil da produção pela metodologia *buffy coat*

Os pontos positivos associados à metodologia *buffy coat* (BC) em comparação aos métodos convencionais de produção são a obtenção de hemocomponentes com baixas contaminações leucocitárias e consequente diminuição de aloimunização e de reações transfusionais; redução do aparecimento de micro agregados durante o armazenamento dos hemocomponentes; produção de concentrados de plaquetas a partir do BC (CPBC) com menor ativação das plaquetas em comparação à metodologia do plasma rico em plaquetas (PRP); aumento significativo na recuperação do plasma que pode ser quase que totalmente removido durante o processo de extração e concomitante preservação do concentrado de hemácias pobre em leucócitos (CHPL) em soluções aditivas como o SAG-Manitol (2,33,35).

A produção de plaquetas a partir do BC pode ocorrer na data da coleta do sangue total ou no dia seguinte, permitindo assim que o centro produtor organize seu processo produtivo de forma lógica, sem ampliação significativa dos turnos de trabalho e possa garantir a produção de CPBC dentro das necessidades locais, sem interferir na recuperação de FVIII:C, nas propriedades *in vitro* das hemácias e na recuperação de plaquetas (36). O melhor rendimento (*yield*) de plaquetas obtido na produção pelo BC pode ser explicado pelo pH levemente mais baixo do sangue coletado em CPD quando armazenado por 16 a 20 horas entre 20°C a 24°C e à melhor deformabilidade das hemácias a 22 °C, que favorecem a obtenção de uma camada de BC com maior concentração plaquetária e sem micro agregados (36,37).

Estudos indicam que nos CPBC armazenados por até 24 horas a 22°C tanto a recuperação de plaquetas quanto a qualidade das mesmas não é afetada

(38,39) e que CPBC produzidos com permanência dos BC sem agitação a $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por períodos de 3 a 24 horas, têm melhores recuperações de plaquetas quando comparados àqueles produzidos logo após a finalização do primeiro ciclo de centrifugação (1,36,38,40,41).

1.3. Centrifugação

A separação das partículas sólidas de uma solução pode acontecer naturalmente apenas sob a ação da força da gravidade terrestre (força g), em um processo denominado sedimentação espontânea (42). A velocidade de sedimentação espontânea (aceleração gravitacional) de uma partícula resulta somente da força gravitacional que age sobre ela. A dimensão dessa força é descrita pela segunda lei de Newton (Equação 1) (43).

$$F_g = ma \quad (1)$$

Equação 1. Segunda Lei de Newton. Onde: F_g = força gravitacional; m = massa da partícula; a = aceleração gravitacional.

Para diminuir o tempo necessário à separação de partículas e células de uma solução, a sedimentação pela força da gravidade pode ser substituída pela força centrífuga que é um campo gravitacional mais potente induzido artificialmente pelas centrífugas e hoje essencial no cotidiano da produção industrial, farmacêutica e também na produção de hemocomponentes.

A força centrífuga aplicada a uma partícula sólida presente em um líquido e submetida à movimentação radial pode ser calculada pela Equação 2 e medida em múltiplos da força da gravidade terrestre ($g = 9,81 \text{ m/s}^{-2}$) e é dependente da densidade da partícula, da velocidade imposta ao rotor e do raio do mesmo (42).

$$F_c = \frac{m v^2}{r} \quad (2)$$

Equação 2. Cálculo da força centrífuga. Onde: F_c = força centrífuga; m = massa; v = velocidade; r = raio (cm).

A forma da partícula também influi sendo que aquelas com formas arredondadas sedimentam mais facilmente. A equação de Stokes (Equação 3) descreve o movimento de uma esfera (célula) em um campo gravitacional permitindo o cálculo da sua velocidade de sedimentação e explica comportamentos importantes da velocidade de sedimentação das partículas, que é proporcional ao tamanho da partícula e à diferença de densidade entre a partícula e o meio; é zero quando as densidades da partícula e do meio são idênticas; diminui à medida que a viscosidade do meio aumenta e sofre incremento à medida que a força gravitacional aumenta (44,45).

$$V = \frac{gd^2(\rho_y - \rho_m)}{18\mu} \quad (3)$$

Equação 3. Equação de Stokes. Onde: V= velocidade de sedimentação; g = aceleração da gravidade; d = diâmetro da partícula; ρ_y = densidade da partícula; ρ_m = densidade do meio; μ = viscosidade do meio.

Nas centrífugas de sedimentação, o movimento circular dos braços do rotor ao longo do seu eixo gera uma força denominada força centrífuga relativa (FCR), responsável pela movimentação de partículas e células presentes em uma suspensão submetida à centrifugação. A movimentação é radial, deslocando partículas e células ao longo do eixo de rotação em direção ao fundo do recipiente no qual estão contidas, viabilizando a rápida separação entre os elementos (*pellet*) e a fase líquida da mistura (45).

A FCR calculada durante o ciclo de centrifugação e medida em múltiplos da força gravitacional terrestre (g) sinaliza a força aplicada apenas em um determinado momento do ciclo de centrifugação e pode ser calculada pela Equação 4 (46). Ela descreve e compara a intensidade dos campos gerados por diferentes tamanhos de rotores e diferentes velocidades de operação. Já a força centrífuga total (FCT) caracteriza toda a força aplicada no ciclo completo de centrifugação, em unidades força g x segundos (g·s) e pode ser calculada pela Equação 5 (46).

$$FCR = 11,18r \frac{(RPM)^2}{1000^2} \quad (4)$$

Equação 4. Cálculo da força centrífuga relativa. Onde: FCR = força centrífuga relativa; RPM = rotações por minuto (velocidade); r = raio do rotor (cm).

$$FCT = FCR \times t \quad (5)$$

Equação 5. Cálculo da força centrífuga total. Onde: FCT = força centrífuga total (g·s); FCR = força centrífuga relativa (x g); t = tempo em segundos (s).

1.3.1. Centrifugação diferencial

Em suspensões com misturas de partículas que diferem em densidade e tamanho a sedimentação das partículas acontece de forma heterogênea, seguindo um gradiente de velocidade que diminui à medida que as densidades e tamanhos diminuem. Ao se aplicar diferentes forças de centrifugação em ciclos sucessivos é possível concentrar ou manter em suspensão as partículas de interesse. Esse é o princípio da centrifugação diferencial (44).

Na produção de hemocomponentes pela metodologia *buffy coat* a separação celular resultante da centrifugação é influenciada por variáveis que se apresentam de formas distintas nos serviços de processamento como o volume do sangue total, força e tempo de centrifugação, temperatura, tempo de repouso do sangue total entre a coleta e o processamento, modelos e programas dos extratores automáticos e das centrífugas (32).

1.4. Programação de centrífugas

A quantidade de centrifugação necessária para uma dada separação pode ser medida em velocidade (rotações por minuto – RPM) e tempo (segundos), sendo essa forma de representação amplamente utilizada. No entanto, entende-se que não seja a forma mais adequada de medição, uma vez que não leva em consideração o raio do rotor da centrífuga. À medida que o raio aumenta ou diminui o mesmo acontece com a força centrífuga resultante da rotação, mesmo a velocidade sendo a mesma. (46).

Por existirem diferenças entre os rotores dos modelos de centrífugas do mesmo fabricante e entre as marcas do mercado, recomenda-se a utilização da força centrífuga relativa (FCR) e do tempo (segundos) como parâmetro de comparação da capacidade de sedimentação entre as centrífugas (46-48).

As conversões entre FCR e RPM podem ser obtidas facilmente com aplicação de equações (Equações 4 e 6) ou mesmo por meio de programas de conversão disponíveis na internet. No entanto, na maior parte das centrífugas tais conversões são efetuadas automaticamente.

$$RPM = 299,07 \sqrt{\frac{FCR}{r}} \quad (6)$$

Equação 6. Conversão da força centrífuga relativa (FCR) em rotações por minuto (RPM). Onde: FCR = força centrífuga relativa; r = raio máximo (cm); RPM = rotações por minuto (velocidade).

1.4.1. Efeito centrífugo acumulado (ECA)

É difícil transferir programas de centrifugação de uma centrífuga para outra com boa taxa de sucesso. O tempo e a velocidade ou força g definidos para os ciclos de operação são extremamente importantes, porém sabe-se que as fases de aceleração e desaceleração são variáveis que contribuem de forma considerável para o resultado final (49,50).

Podemos citar ainda outras variáveis importantes como o modelo do equipamento e a carga durante o ciclo (massa total colocada no rotor). Högman *et al.* (1982) (49) propuseram uma metodologia de transferência das condições de centrifugação de uma centrífuga para outra com o intuito de garantir a preservação das recuperações de plaquetas. Tal metodologia baseou-se no cálculo manual da força g total aplicada durante o ciclo completo de centrifugação e posteriormente foi usada por Raffaldoni e Ghessi (1986) (50) na comparação de ciclos de centrifugação entre modelos distintos de centrífugas.

Em 1982 Masse *et al.* (51) apresentaram uma proposta parecida à de Högman, também pautada na definição do programa de centrifugação pelo uso da força total aplicada ao ciclo de centrifugação para obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP), desconsiderando a desaceleração. Nessa proposta os cálculos manuais foram substituídos por um mecanismo acoplado à centrífuga, capaz de

calcular automaticamente a força g acumulada ao longo do tempo de centrifugação e de garantir sua reprodução em outros ciclos, pelo controle do tempo de centrifugação a partir da fixação da velocidade.

O efeito centrífugo acumulado (ECA), calculado pela função integral ($f\omega^2 dt$), é um número que expressa a força centrífuga total aplicada ao ciclo de centrifugação e pode ser usado para padronizar o efeito total da centrifugação. Ele mede a área sob a curva velocidade e tempo de centrifugação, do início ao final do ciclo, incluindo a contribuição significativa das fases de aceleração e desaceleração. Esse parâmetro de referência pode ser usado na melhoria do protocolo de centrifugação, com finalidade de melhorar a reprodutibilidade de resultados entre as centrífugas de mesmo modelo e entre os ciclos de um mesmo equipamento (46,52).

Na centrífuga Sorvall® RC3BP+ o cálculo do efeito centrífugo acumulado é feito pela função ACE™ (*accumulated centrifugal effect*). Uma vez selecionada essa função no painel de controle, a centrífuga calcula o efeito da velocidade em relação ao tempo (área cinza na Figura 2) e a duração da corrida é alterada para compensar as variações de aceleração existentes durante a fase de aceleração. As variações mencionadas podem ser atribuídas à carga imposta ao rotor e configuração do mesmo, às oscilações de tensão da corrente elétrica que afetam a potência do motor ou pequenas diferenças mecânicas, geradas inclusive pelo desgaste normal da centrífuga (Figura 3) (47,52).

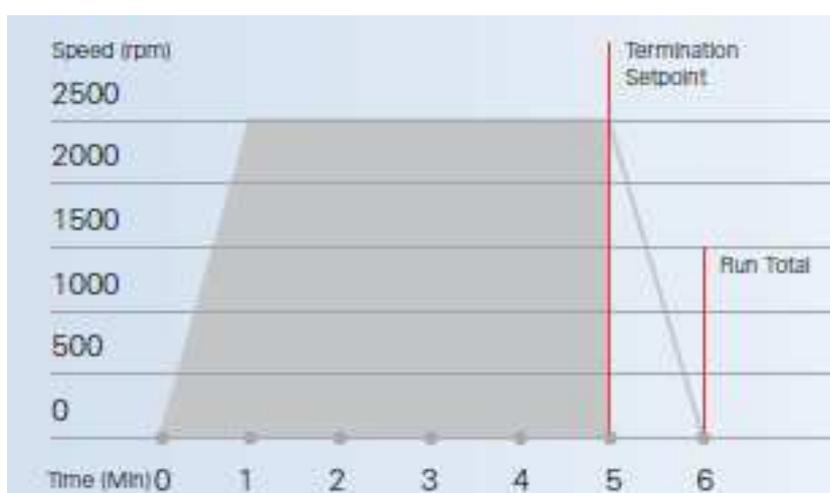


Figura 2. Efeito centrífugo acumulado ao final da fase de platô (área em cinza abaixo da curva) corresponde à força aplicada no ciclo de centrifugação até o final da fase de aceleração constante, não incluindo a desaceleração.

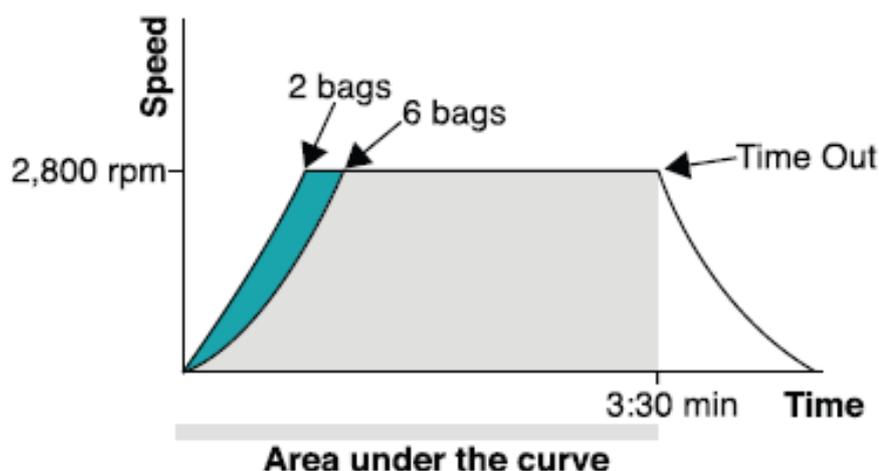


Figura 3. A curva velocidade x tempo indica os padrões de aceleração alcançados pela centrífuga com o rotor operando em dois extremos de carga (2 e 6 bolsas). Com duas bolsas a força aplicada é maior uma vez que a velocidade programada é atingida mais rapidamente e o tempo de duração do ciclo é fixo. Extraído de Downey H. (53).

Ainda de acordo com o fabricante Thermo Scientific “Ao contrário do ciclo, que é supervisionado através do tempo, a seleção do *ACE* oferece um tipo mais avançado e mais exato de supervisão do ciclo, no qual os resultados das separações, a capacidade de repetição dos ciclos e a confiabilidade dos resultados são melhorados” (47). O valor da integral pode ser calculado a partir da equação 7:

$$\int \omega^2 dt = \omega^2 \int dt = \omega^2 \Delta t \quad (7)$$

Equação 7. Função integral utilizada no cálculo do efeito centrífugo acumulado (ECA). Onde: Δt = mudança no tempo (segundos); ω^2 = velocidade angular.

$$\omega^2 = 2\pi [n/60]$$

n = velocidade (RPM)

1.5. Qualificação de desempenho de centrífuga

Na rotina de produção de hemocomponentes, a etapa de testes realizada para identificar as melhores condições de operação dos ciclos de centrifugação que permitam a obtenção de hemocomponentes dentro dos padrões de especificação da qualidade é denominada qualificação de desempenho de centrífuga ou calibração funcional de centrífugas (3). É uma atividade conduzida pelo setor de processamento, com suporte do laboratório de controle de qualidade.

A força e a duração selecionadas para os ciclos de centrifugação afetam diretamente a recuperação de plaquetas no PRP, no BC e no CP. Interferem também no hematócrito do CH e no volume do PFC.

No processo de identificação das condições que permitam recuperações significativas de células e plasma nos componentes intermediários ou finais (CH / CP / PFC) a abordagem utilizada com frequência é a fixação arbitrária de uma das variáveis de centrifugação (RPM / FCR) e alterações também arbitrárias da outra (tempo). A avaliação do impacto de tais associações é feita por meio da coleta amostras ao longo das etapas de centrifugação, podendo incluir a avaliação de amostras dos doadores, do sangue total, dos componentes intermediários e dos hemocomponentes finais de acordo com o protocolo do serviço (3,52).

A avaliação dos dados gerados na análise das amostras: percentuais de recuperação de plasma e de células e o atendimento aos requisitos da qualidade permitem a identificação das melhores condições de centrifugação para o processo. Fixadas as condições para a primeira centrifugação a sistemática é repetida no sentido de definir o programa para o segundo ciclo.

Kahn *et al.* (1976) (53) propuseram a eficiência do procedimento de centrifugação como um parâmetro adicional nesse tipo de avaliação, definindo eficiência como o rendimento plaquetário dividido pelo tempo total do ciclo (somatória dos tempos de aceleração, velocidade máxima e desaceleração).

Na caracterização dos ciclos quando da incorporação de novos modelos de equipamentos ou novos processos o número de associações de condições possíveis, considerando-se as duas fases de centrifugação, pode ser elevado (53). Na fase dos testes das associações das variáveis de programação é comum a realização, para cada uma delas, de no mínimo dois ciclos de centrifugação com carga máxima do rotor e avaliação de pelo menos 12 unidades de hemocomponentes produzidos, para melhor caracterização dos resultados (5,49,53,54).

O fabricante Thermo Fisher Scientific recomenda alterações na velocidade na casa de 200 RPM ou incrementos ou decréscimos de 30 segundos nos ajustes dos programas de centrifugação (protocolos), até que a recuperação desejada para todos os produtos seja alcançada (52).

Em contraponto à escolha aleatória de perfis de centrifugação, Reiss e Katz (1976) (54) propuseram a variação simultânea das variáveis força e tempo com

aplicação da estratégia simplex (utilizada em química para a definição de experimentos) objetivando melhorar o processo de seleção dos parâmetros para os ciclos de centrifugação. Nela os resultados preliminares direcionam os valores que seguidamente serão utilizados como variáveis, eliminando a subjetividade / aleatoriedade dessa fase do processo. Essa abordagem, no entanto, teve pouca adesão na prática.

Algumas associações de força e tempo podem resultar em agressões ao componente produzido e redução de sua viabilidade e devem ser identificadas e evitadas. Um exemplo é a utilização de forças iguais ou superiores a 4000 g x 10 minutos na centrifugação do PRP para produção de concentrado de plaquetas (5).

As possibilidades de programação são variadas, diferem bastante entre os grupos de trabalho (53,55) e condições distintas de centrifugação podem resultar em altas recuperações de plaquetas e plasma. Recomenda que, ao selecionar um perfil de centrifugação dentre aqueles que apresentaram as mais altas recuperações de plaquetas, a opção seja feita pelo programa que incorpore o menor tempo combinado com a velocidade mais baixa e que gere contaminação aceitável de hemácias (3).

Apesar de ser uma etapa importante, a definição dos programas de centrifugação é em certa medida um processo de tentativa e erro (53), que invariavelmente necessita ser repetido para cada uma das centrífugas do centro produtor, pois na prática, nem sempre é possível reproduzir as recuperações desejadas assumindo os mesmos programas para todas as centrífugas do centro.

A incorporação de recursos disponíveis hoje nos softwares de alguns modelos de centrífugas (não valorizados ou mesmo desconhecidos pelos usuários) pode agregar melhorias ao processo de centrifugação (54), sendo um deles a função integral que calcula o efeito centrífugo acumulado (ECA), disponível nas centrífugas Sorvall RC3BP+.

Embora a utilização da integral não seja um recurso novo (49,51,56) notam-se mais recentemente referências à sua utilização em substituição à proposta clássica de programação de ciclos, com menção à maior facilidade de reprodução das condições de operação dentro do parque de equipamentos de um mesmo centro e entre centros diferentes, com potencial de preservar a qualidade dos hemocomponentes obtidos (21,30,52,57).

A reprodução bem sucedida de um mesmo programa de centrifugação em todas as centrífugas da área produtora, em tese, pode significar a redução tanto do tempo quanto de recursos investidos na qualificação de desempenho desses equipamentos, seja na implantação de novo processo produtivo, na tratativa de não conformidades ou após manutenções corretivas de impacto.

1.6. Centrífuga Sorvall® RC3BP™ Plus

A centrífuga Sorvall® RC3BP™ Plus (Sorvall RC3BP+) do fabricante Thermo Fisher Scientific é uma centrífuga de baixa velocidade, versátil, controlada por microprocessadores e muito utilizada em aplicações industriais e nas rotinas de processamento do sangue. Opera na faixa de temperatura de -10°C a +40°C e entre os limites de 300 e 5.000 RPM. Permite o alcance de FCR máxima de 7.277 x g (considerando o raio máximo) e a leitura de velocidade, feita por tacômetro eletrônico digital, tem sensibilidade de +/- 20 RPM. Apresenta nos modos *slow start* e *slow stop* 11 perfis distintos de aceleração e de desaceleração. Assim, permite melhor controle da ressuspensão celular durante a frenagem. Um comando adicional, o *step-mode run*, associa programas e permite aumentos gradativos da velocidade de centrifugação em estágios pré-programados, ampliando as possibilidades de programação (47).

O rotor H-6000A Sorvall RC3 BP+ tem raio máximo de 26,06 cm e é dotado de 06 caçapas móveis com capacidade máxima de 1000 mL cada uma, comportando no máximo 06 unidades de sangue total (ST). Permite, com uso de adaptadores especiais, o processamento de até 12 unidades de *buffy coat* (BC) por ciclo. Cada caçapa do rotor suporta carga máxima de 2.575 g quando completamente preenchida, considerando-se a somatória das massas da própria caçapa, do set de bolsas (incluindo filtros *in line*), das tubulações, dos discos de balanceamento e dos adaptadores utilizados (48).

Para garantir um bom processo de centrifugação, as bolsas de sangue devem ser inseridas adequadamente nos adaptadores e os conjuntos bolsa/adaptador precisam ser balanceados dois a dois para ajuste das massas (g) com o auxílio de discos de borracha de pesos diversificados. Para o correto balanceamento a diferença no par de adaptadores não deve exceder 10 gramas (47).

Na aquisição desse modelo de centrífuga ou a qualquer momento durante seu uso é possível adquirir um software adicional disponibilizado pelo fabricante (Software Centri-Log[®]) passível de interfaceamento com o sistema informatizado utilizado pelo centro produtor. Esse software permite a rastreabilidade dos hemocomponentes processados em um mesmo ciclo de centrifugação do equipamento, além de capturar eletronicamente dados dos ciclos como data, horário, velocidade e temperatura permitindo dessa forma a potencial identificação de desvios de operação (programação) ou de desempenho do equipamento auxiliando, portanto, na investigação de desvios identificados no processo de produção habitualmente de difícil identificação.

1.6.1. Manutenção preventiva de centrífugas

A manutenção preventiva das centrífugas deve ocorrer a intervalos regulares sugeridos pelo fabricante ou com periodicidade menor a critério do usuário e inclui a inspeção física e elétrica, a limpeza e o teste do equipamento (47).

A velocidade da centrífuga é controlada por um potenciômetro que aumenta ou diminui a voltagem fornecida ao motor e exige recalibrações periódicas.

1.7. Validação de processo

Entende-se como validação de processo a coleta e a avaliação de dados tomados em etapas distintas do ciclo de vida do processo e do produto, que temporalmente se estende desde a concepção inicial do processo de produção até a produção do produto para distribuição e que estabelece evidência científica de que um processo é capaz de entregar um produto de qualidade de forma consistente (58).

A qualificação de desempenho das centrífugas da área de processamento do sangue é uma das etapas essenciais da validação do processo de produção de hemocomponentes no qual a modalidade de validação mais utilizada é a concorrente, ou seja, aquela que acontece durante a rotina de produção, com avaliação dos produtos finais do processo (hemocomponentes).

1.8. Controle de qualidade de hemocomponentes

Uma vez validado um determinado processo de produção, a prática regular do controle de qualidade de hemocomponentes é a maneira de efetuar um segmento dos resultados da rotina de produção que permita a detecção e a correção de eventuais perdas de eficiência do processo, por meio da detecção de padrões não conformes nos hemocomponentes amostrados (3,59). A amostragem deve contemplar toda a diversificação de hemocomponentes produzidos em períodos predeterminados da produção e acontecer de forma rotineira ao longo dele.

Os resultados obtidos nas inspeções devem ser comunicados às áreas produtoras o mais brevemente possível, criando assim a oportunidade de uma avaliação crítica do desempenho do processo, capaz de permitir quando necessária, a tomada rápida de ações e a contenção de problemas.

No Brasil, a realização do controle de qualidade de hemocomponentes é obrigatória pela Portaria de Consolidação nº05 de 03 de outubro de 2017 (60), que define também aspectos pertinentes às amostragens, aos parâmetros da qualidade e aos percentuais de conformidade mínimos aceitáveis.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- Avaliar a viabilidade da aplicação do efeito centrífugo acumulado (ECA) por meio do uso da função ACE (*accumulated centrifugal effect*) recurso disponível nas centrífugas Sorvall® RC3BP+™ utilizadas no setor de Processamento do Hemocentro de Campinas/UNICAMP, como parâmetro de programação de ciclos de centrifugação na produção de hemocomponentes a partir de bolsas quádruplas *Top and Bottom* (TAB) em associação à velocidade de centrifugação.

2.2. Específicos

- Avaliar o perfil dos hemocomponentes produzidos a partir de bolsas quádruplas TAB durante a etapa final de qualificação de desempenho de centrífugas realizada com a proposta convencional de programação de ciclos (programas de centrifugação definidos por velocidade x tempo).

- Identificar, para cada centrífuga utilizada na produção de hemocomponentes a partir de bolsas TAB, os valores médios de ECA para os dois ciclos de centrifugação, por meio da extração de dados durante a rotina de processamento, com as centrífugas programadas com base nos parâmetros rotações por minuto (RPM) e tempo (minutos), conforme definição estabelecida na fase de qualificação de desempenho de centrífugas.
- Realizar a qualificação de desempenho das centrífugas utilizando os parâmetros RPM e ECA, com fixação dos mesmos programas de primeira e segunda centrifugação para todos os equipamentos, tomando como referência os valores de ECA obtidos de uma das centrífugas, definida como referência pela área de processamento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi realizado na Seção de Processamento e Distribuição do Hemocentro de Campinas / Unicamp no período de agosto de 2017 a abril de 2018 e teve como foco a programação dos ciclos de centrifugação de centrífugas Sorvall® RC3BP+™ para a produção de hemocomponentes a partir do sangue total coletado em bolsas quádruplas *top and bottom* (TAB) caracterizando-se por três etapas distintas com fluxos e casuísticas indicados na Figura 4 e Tabela 1, respectivamente.

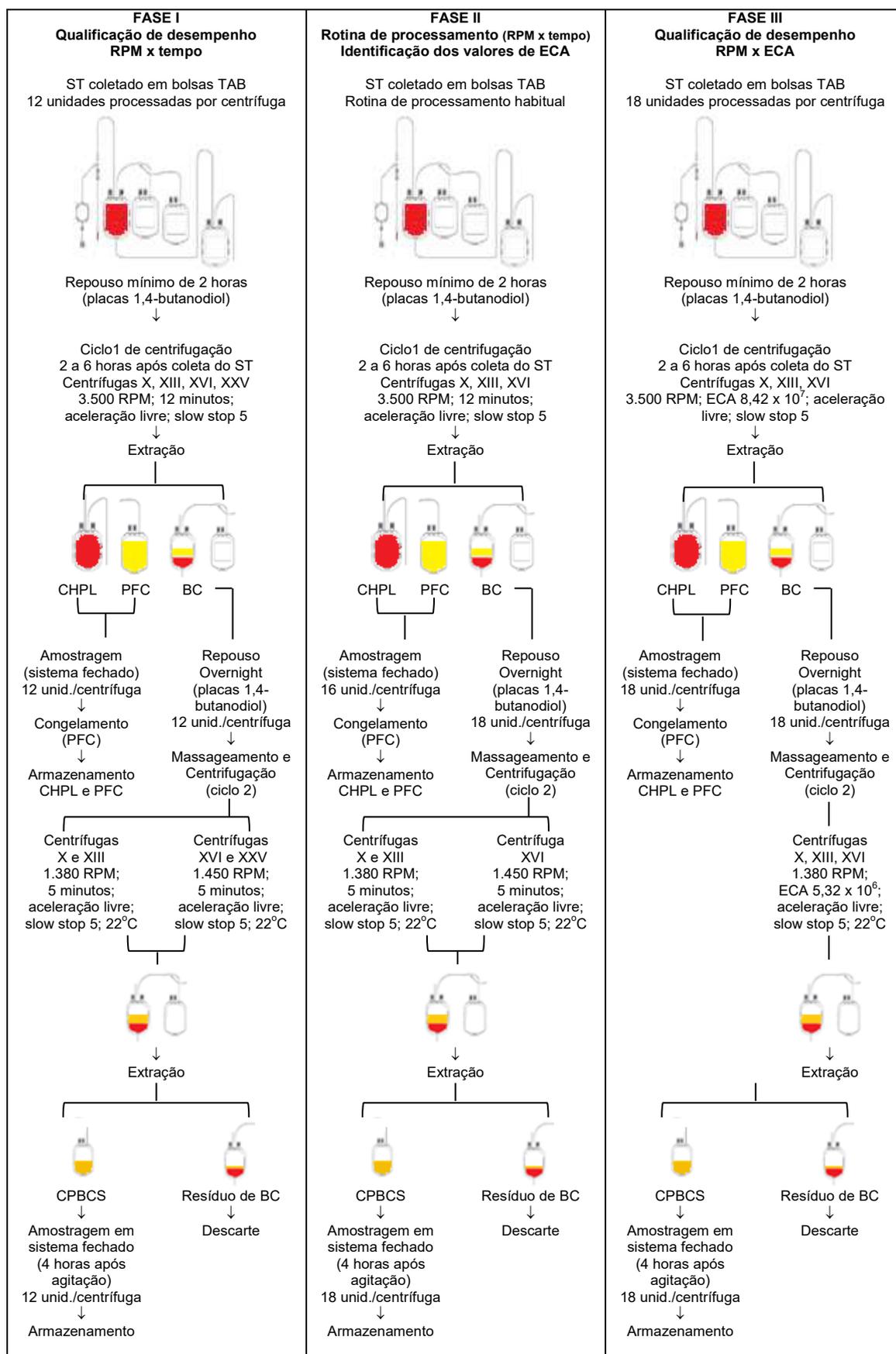


Figura 4. Esquematisação das três etapas do trabalho. Fase I: qualificação de desempenho de centrífugas com programa convencional (RPM x tempo); Fase II coleta e validação dos valores de ECA; Fase III: qualificação de desempenho com programa alternativo (RPM x ECA).

Tabela 1. Caracterização das fases do estudo e amostragem.

Fase	Caracterização	Amostragem por tipo de hemocomponente
I	Qualificação convencional (RPM x tempo)	12 unidades/centrífuga Total = 48 unidades
II	Identificação dos valores de ECA para os ciclos programados por RPM x tempo	16 unidades/centrífuga CHPL; PFC Total = 48 unidades
		18 unidades/centrífuga CPBCS Total = 54 unidades
III	Qualificação alternativa (RPM x ECA)	18 unidades/centrífuga Total = 54 unidades

As unidades de ST utilizadas foram coletadas nos diversos postos de coleta do Hemocentro de Campinas seguindo procedimentos padrão adotados na instituição. Volumes e tempos de coleta apresentaram-se conformes com os critérios para a produção de três hemocomponentes: concentrado de hemácias, concentrado de plaquetas e plasma fresco congelado. As amostragens foram feitas em sistema fechado e os hemocomponentes liberados para o estoque do processamento.

A qualificação de desempenho de centrífugas é um procedimento realizado periodicamente na rotina dos serviços de hemoterapia que coletam e processam o sangue para a obtenção de hemocomponentes para fins transfusionais. Sua realização é obrigatória e prevista na Portaria de Consolidação nº 05 de 03 de outubro de 2017 que define o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos no país, assim como a validação de processo e a realização do controle de qualidade dessa produção.

As metodologias de coleta e inspeção dos hemocomponentes deste estudo seguiram padronização do laboratório de controle de qualidade da instituição, sendo as mesmas utilizadas na rotina diária de controle de qualidade de hemocomponentes. Dessa forma, fica evidente que o presente estudo não utilizou experimentação com seres humanos, com animais e/ou patrimônio genético.

3.1. Fase I – Avaliação do desempenho das centrífugas com ciclos definidos pelos parâmetros RPM x tempo

O perfil dos hemocomponentes produzidos a partir do ST coletado em bolsas quádruplas *top and bottom* (Fresenius Kabi, Itapecerica da Serra, Brasil, ref. 018615) foi avaliado em quatro centrífugas Sorvall® RC3BP+™ (Thermo Fisher Scientific, Germany) da Seção de Processamento do Hemocentro de Campinas, durante a etapa de qualificação de desempenho de centrífugas, em agosto de 2017.

Os dados apresentados na Fase I são aqueles obtidos com o uso dos programas de centrifugação selecionados para cada equipamento ao final da qualificação de centrífugas e posteriormente adotados na rotina de processamento. Os ciclos de centrifugação foram definidos com base na velocidade (RPM) e no tempo (minutos) de centrifugação e houve o processamento de 12 unidades de ST e respectivos hemocomponentes em cada centrífuga, com coleta e análise de amostras dos CHPL, dos CPBCS e dos plasmas frescos congelados (PFC).

Foram obtidas informações dos hemocomponentes produzidos quanto à conformidade de atendimento aos requisitos de qualidade especificados no protocolo de qualificação da área (Tabela 2). A recuperação percentual de plaquetas nos concentrados de plaquetas *buffy coat single* (CPBCS) e a taxa residual de leucócitos nos concentrados de hemácias pobres em leucócitos (CHPL) e nos CPBCS foram calculadas adicionalmente para caracterização do processo de produção.

Tabela 2. Parâmetros de inspeção, padrões de qualidade e de conformidade definidos no protocolo utilizado na Fase I

	Parâmetro de inspeção	Padrão	Conformidade Esperada (%)
ST	Volume coletado (mL)	405 a 495	100,0*
	Tempo de coleta (min.)	≤ 12	
CHPL	Volume (mL)	s/p	≥ 75,0
	Leucócitos (x 10 ⁹ /U)	< 1,2	
	Hematócrito (%)	50 a 70%	
	Hemoglobina (g/U)	> 43,0	
PFC	Volume (mL)	≥ 150	≥ 75,0
	Leucócitos (x 10 ⁵ /mL)	< 1,0	
	Hemácias (x 10 ⁶ /mL)	< 6,0	
	Plaquetas (x10 ⁹ /mL)	< 50,0	
CPBCS	Volume (mL)	40 a 70	≥ 75,0
	Leucócitos (x 10 ⁸ /U)	< 0,5	
	Plaquetas (x 10 ¹⁰ /U)	≥ 5,5	

*Condição de inserção no estudo. s/p: sem padrão.

Para estimar a contagem de plaquetas no ST, foi efetuada a coleta de quatro mL de sangue do doador em tubo com K₃ EDTA (Vacuette, Greiner Bio-One), simultaneamente à coleta das amostras para os testes sorológicos e imunohematológicos. A triagem dos doadores foi realizada conforme critérios definidos na Portaria de Consolidação nº 05 de 03 de outubro de 2017 (PRTC nº 05) (60). Foi excluído deste estudo o ST coletado de doadores em uso de medicamentos que contraindicassem a produção de concentrado de plaquetas ou doadores sem doação prévia no serviço, portanto sem sorologia prévia. Também foram excluídas unidades de ST com tempo de coleta superior a 12 minutos, não utilizadas pelo serviço para a produção de CPBCS.

O ST (densidade 1,053 g/mL) foi coletado com 63 mL de anticoagulante CPD (citrato-fosfato-dextrose), pesado para cálculo do volume e mantido após a coleta em placas resfriadoras de 1,4- butanodiol (CompoCool®, Fresenius Kabi, Germany) por no mínimo 2 horas após a coleta e depois desse período a temperatura ambiente (20°C a 24°C) até o processamento, realizado entre 2 a 6 horas da coleta.

O processamento foi feito nas seguintes condições de programação do primeiro ciclo de centrifugação (*hard spin*): 3.500 RPM; 12 minutos; slow stop 5. Quanto ao parâmetro de aceleração, não houve pré-seleção do modo *slow start* e a centrifugação aconteceu de acordo com a aceleração máxima alcançada pela centrífuga. Em cada etapa de centrifugação foram processadas 06 unidades de ST, completando a carga máxima da centrífuga.

Ao final da centrifugação as bolsas foram processadas em extratores automáticos Compomat G5 (Fresenius Kabi, Germany) de forma a resultar na obtenção de BC com hematócrito e volumes médios de 30% e 120 mL, respectivamente. Foram adicionados aos concentrados de hemácias aproximadamente de 100 mL de solução nutritiva SAG-Manitol (SAG-M).

O CHPL (densidade 1,06 g/dL) e o PFC (densidade 1,02 g/dL) obtidos foram pesados para cálculo do volume e as amostras foram coletadas em sistema fechado conforme padronização do laboratório de controle de qualidade da instituição.

As unidades de BC obtidas foram mantidas entre 15 a 18 horas sobre placas de 1,4-butanodiol e processadas na manhã seguinte à doação após massageamento, respeitando as diferentes condições de programação do segundo ciclo de centrifugação (*soft spin*) adotadas para as diferentes centrífugas:

- Condição A → (CS X e CS XIII): 1.380 RPM; 5 minutos; slow stop 5
- Condição B → (CS XVI e CS XXV): 1.450 RPM; 5 minutos; slow stop 5

A centrifugação aconteceu de acordo com a aceleração máxima alcançada pela centrífuga, sem seleção do modo *slow start*. Os programas utilizados na Fase I para o ciclo 1 de centrifugação (processamento do ST para obtenção do CHPL, PFC e BC) e para o ciclo 2 (processamento do BC para obtenção do CPBCS) estão relacionados na Tabela 3.

Tabela 3. Programas de centrifugação utilizados na fase I

Fase	Ciclos	Centrífuga	Programação dos ciclos de centrifugação
I	<i>Hard spin</i> (Ciclo 1)	X, XIII, XVI, XXV	3.500 RPM; 12 minutos; aceleração livre; slow stop 5
I	<i>Soft spin</i> (Ciclo 2)	X, XIII	1.380 RPM; 5 minutos; aceleração livre; slow stop 5
I	<i>Soft spin</i> (Ciclo 2)	XVI, XXV	1.450 RPM; 5 minutos; aceleração livre; slow stop 5

Na inspeção do CHPL e do CPBCS foi utilizado o analisador hematológico Cell Dyn Emerald (Abbott, Illinois, USA) para obtenção das contagens de leucócitos e de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$), para a determinação do hematócrito (%) e para a dosagem de hemoglobina (g/dL). Resultados assinalados como não conformes para as contagens de leucócitos e de plaquetas foram confirmados em câmara de Neubauer nas seguintes diluições e áreas de contagem: 1:20/4mm² e 1:200/0,2mm², respectivamente. No plasma as contagens de leucócitos foram realizadas em câmara de Nageotte (diluição 1:5/volume contado: 7,5 μL). As contagens de hemácias e de plaquetas no PFC foram feitas em câmara de Neubauer, nas seguintes diluições e áreas de contagem: 1:5/9mm² e 1:5/0,2mm², respectivamente.

Durante a Fase I as etapas relacionadas aos processos de centrifugação e extração foram realizadas por dois profissionais da equipe de processamento, sendo um deles responsável pelas etapas de centrifugação e extração relacionadas ao ciclo 1 (*hard spin*) e o outro pelas etapas de centrifugação e extração associadas ao ciclo 2 de centrifugação (*soft spin*). As amostragens dos hemocomponentes, as análises e a avaliação dos resultados foram realizadas pela autora do trabalho.

3.2. Fase II – Identificação dos valores de efeito centrífugo acumulado durante ciclos de centrifugação praticados na rotina

No período de setembro a dezembro de 2017, durante a rotina normal de processamento, foi feita a identificação dos valores do efeito centrífugo acumulado (ECA) em cada centrífuga do estudo, totalizando 09 ciclos de produção de CHPL / PFC e 11 ciclos de produção de CPBCS não relacionados entre si, ou seja, derivados de diferentes unidades de ST. Nesses ciclos os programas de centrifugação utilizados para cada centrífuga foram os mesmos aplicados na Fase I

(Tabela 4). A centrífuga XXV foi excluída do estudo devido a sua remoção da rotina por problemas técnicos.

Tabela 4. Programas de centrifugação utilizados na Fase II

Fase	Ciclos	Centrífuga	Programação dos ciclos de centrifugação
II	<i>Hard spin</i> (Ciclo 1)	X, XIII, XVI	3.500 RPM; 12 minutos; aceleração livre; slow stop 5
II	<i>Soft spin</i> (Ciclo 2)	X, XIII	1.380 RPM; 5 minutos; aceleração livre; slow stop 5
II	<i>Soft spin</i> (Ciclo 2)	XVI	1.450 RPM; 5 minutos; aceleração livre; slow stop 5

A centrífuga XXV foi removida do estudo por apresentar problemas técnicos.

Durante o seguimento foram coletadas informações relacionadas aos valores de efeito centrífugo acumulado (ECA) em três momentos distintos dos ciclos 1 e 2 de centrifugação: a) ao final da fase de aceleração, ou seja, do início da aceleração até o alcance da velocidade definida na programação do ciclo; b) ao término da fase de platô, ou seja, do início da aceleração até a finalização da fase de platô, quando tem início a desaceleração após o tempo de centrifugação definido no programa ser atingido; c) ao final do ciclo, ou seja, desde o início da aceleração até a parada completa da centrífuga.

A coleta das informações nesses três momentos distintos dos ciclos permitiu a caracterização do efeito centrífugo acumulado (ECA) total aplicado a cada ciclo, além de permitir a análise isolada do ECA para as fases de aceleração (início da aceleração até início da fase de platô), platô (fase na qual a velocidade alvo, uma vez atingida, é mantida constante no valor definido na programação do ciclo até que o tempo definido para a centrifugação seja atingido) e desaceleração (do término da fase de platô até a parada completa da centrífuga).

Os valores de ECA foram obtidos da seguinte forma: após seleção do programa e início normal do ciclo de centrifugação a tecla da função ACE™ da centrífuga Sorvall® RC3BP+ foi pressionada uma vez para ativar a visualização dos valores de RPM e do efeito centrífugo acumulado, sem prejuízo às condições normais de operação do programa selecionado. A extração dos valores de ECA nos três momentos do ciclo definidos neste estudo foi feita pela transcrição direta dos valores apresentados no *display* da centrífuga. Ao término do ciclo e abertura da

tampa da centrífuga, foi feita a reversão da função de visualização pelo acionamento da tecla “*recall*” seguida da seleção do número do programa e finalizada com a tecla “*enter*”.

A coleta de dados de ECA foi realizada de forma a contemplar dias, turnos e equipes de profissionais distintos que atuam na área de Processamento e também variações de comportamento dos equipamentos.

Para validar os dados de ECA coletados durante a rotina de processamento foram obtidas informações dos hemocomponentes de cada ciclo quanto à conformidade de atendimento aos requisitos de qualidade especificados na Tabela 5. Para tanto, ao final de cada ciclo acompanhado para coleta de ECA foram selecionados aleatoriamente para avaliação 2 a 3 hemocomponentes, totalizando 16 inspeções de CHPL / PFC e 18 inspeções de CPBCS por centrífuga avaliada.

Tabela 5. Parâmetros de inspeção, padrões de qualidade e de conformidade definidos para a Fase II

	Parâmetro de inspeção	Padrão	Conformidade Esperada (%)
CHPL	Volume (mL)	s/p	≥ 75,0
	Leucócitos ($\times 10^9/U$)	< 1,2	
	Hematócrito (%)	50 a 70%	
	Hemoglobina (g/U)	> 43,0	
PFC	Volume (mL)	≥ 150	≥ 75,0
CPBCS	Volume (mL)	40 a 70	≥ 75,0
	Leucócitos ($\times 10^8/U$)	< 0,5	
	Plaquetas ($\times 10^{10}/U$)	≥ 5,5	

s/p: sem padrão

O não atendimento às conformidades mínimas esperadas para o processo de produção no período da avaliação foi definido como critério para invalidação dos dados de ECA obtidos. Para essa finalidade foram excluídas as contagens de células residuais no PFC que, por dados históricos institucionais pouco contribuiria nesse sentido, sendo os resultados das inspeções de CHPL e CPBCS de maior relevância.

A triagem dos doadores nessa fase foi realizada conforme critérios definidos na Portaria de Consolidação nº 05 de 03 de outubro de 2017 (PRTC nº 05) (60). A fase de produção dos hemocomponentes foi realizada pelos membros da equipe de processamento enquanto que a coleta e análise das amostras de hemocomponentes foram realizadas pela autora do trabalho seguindo a mesma padronização da Fase I.

3.3. Fase III – Qualificação de desempenho das centrífugas com ciclos definidos por velocidade de centrifugação e efeito centrífugo acumulado (ECA)

A fase III teve lugar de fevereiro a abril de 2018. Os ECAs médios ao final das fases de platô obtidos dos dois ciclos de centrifugação na centrífuga X (tradicionalmente usada como referência nas qualificações de desempenho) foram selecionados para compor a nova proposta de programação. Conforme orientação contida no manual da centrífuga, o ECA total (obtido na parada da centrífuga) não deve ser utilizado como parâmetro de programação, para evitar aplicação de força superior à desejada no ciclo, uma vez que a fase de desaceleração não é controlada pela centrífuga. O parâmetro velocidade da centrífuga em questão foi mantido para ambos os ciclos Tabela 6.

Tabela 6. Programas de centrifugação utilizados na fase III do estudo.

Fase	Ciclos	Centrífuga	Programação dos ciclos de centrifugação
III	<i>Hard spin</i> Ciclo 1	X, XIII, XVI	3.500 RPM; ECA $8,42 \times 10^4$; aceleração livre; slow stop 5
III	<i>Soft spin</i> Ciclo 2	X, XIII, XVI	1.380 RPM; ECA $5,32 \times 10^6$; aceleração livre; slow stop 5

Para estimar a contagem de plaquetas no ST, foi efetuada a coleta de quatro mL de sangue do doador em tubo com K₃ EDTA (Vacurette, Greiner Bio-One), simultaneamente à coleta das amostras para os testes sorológicos e imunohematológicos. A triagem dos doadores foi realizada conforme critérios definidos na Portaria de Consolidação nº 05 de 03 de outubro de 2017 (PRTC nº 05) (60). Foi excluído deste estudo o ST coletado de doadores em uso de medicamentos que contraindicassem a produção de concentrado de plaquetas ou doadores sem

doação prévia no serviço, portanto sem sorologia prévia. Também foram excluídas unidades de ST com tempo de coleta superior a 12 minutos que não utilizadas pelo serviço na produção de CPBCS.

O ST (densidade 1,053 g/mL) foi coletado com 63 mL de anticoagulante CPD (citrato-fosfato-dextrose), pesado para cálculo do volume e mantido após a coleta em placas resfriadoras de 1,4- butanodiol (CompoCool®, Fresenius Kabi, Germany) por no mínimo 2 horas após a coleta e depois desse período a temperatura ambiente (20°C a 24°C) até o processamento, realizado entre 2 a 6 horas da coleta.

Em cada etapa de centrifugação foram processadas 06 unidades de ST, completando a carga máxima da centrífuga. Foram avaliadas em cada centrífuga 18 unidades de ST e respectivos hemocomponentes. O processamento e a extração foram feitos de forma similar à Fase I, exceto quanto aos programas de centrifugação, que incorporaram o ECA médio da centrífuga X (obtido na Fase II) em substituição ao tempo de centrifugação.

Na Fase III as etapas relacionadas aos processos de centrifugação e extração foram realizadas por dois profissionais da equipe de processamento, sendo um deles responsável pelas etapas de centrifugação e extração relacionadas ao ciclo 1 (*hard spin*) e o outro pelas etapas de centrifugação e extração associadas ao ciclo 2 de centrifugação (*soft spin*). As amostragens, inspeções e avaliação dos resultados (Tabela 7) foram realizadas pela autora do trabalho e seguiram mesma padronização da fase I.

Tabela 7. Parâmetros de inspeção, padrões de qualidade e de conformidade definidos para a Fase III

	Parâmetro de inspeção	Padrão	Conformidade Esperada (%)
ST	Volume coletado (mL)	405 a 495	100,0*
	Tempo de coleta (min.)	≤ 12	
CHPL	Volume (mL)	s/p	≥ 75,0
	Leucócitos (x 10 ⁹ /U)	< 1,2	
	Hematócrito (%)	50 a 70%	
	Hemoglobina (g/U)	> 43,0	
PFC	Volume (mL)	≥ 150	≥ 75,0
	Leucócitos (x 10 ⁵ /mL)	< 1,0	
	Hemácias (x 10 ⁶ /mL)	< 6,0	
	Plaquetas (x10 ⁶ /mL)	< 50,0	
CPBCS	Volume (mL)	40 a 70	≥ 75,0
	Leucócitos (x 10 ⁸ /U)	< 0,5	
	Plaquetas (x 10 ¹⁰ /U)	≥ 5,5	

*Condição de inserção no estudo. s/p: sem padrão.

3.4. Análise estatística

Os dados relativos aos parâmetros de inspeção dos hemocomponentes gerados nas três fases do estudo foram avaliados quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk.

O teste exato de Fisher foi utilizado na comparação entre os percentuais de conformidade obtidos por parâmetro de inspeção em cada centrifuga durante as etapas do estudo.

Comparações múltiplas entre os perfis dos hemocomponentes obtidos de diferentes centrífugas em cada fase do estudo foram feitas por meio da análise de variância (ANOVA) para dados com distribuição normal, seguida do teste de Tukey para identificação dos grupos de resultados distintos entre si. O teste de Kruskal-Wallis (abordagem não paramétrica para múltiplas comparações) foi utilizado quando os dados não apresentaram distribuição normal mesmo após transformação logarítmica. Quando assinalada diferença significativa entre os conjuntos de dados a avaliação foi complementada com o teste de Conover-Iman com correção de Bonferroni, para identificar os grupos de resultados distintos entre si.

As análises estatísticas foram feitas com o software XLSTAT versão 2018.1. Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão do número de observações. Um valor de p inferior a 0,05 foi considerado significativo.

4. RESULTADOS

4.1. Fase I – Avaliação do desempenho das centrífugas com ciclos definidos pelos parâmetros RPM x tempo

4.1.1. Sangue Total

As unidades de sangue total (ST) processadas nas quatro centrífugas apresentaram perfil similar quanto ao volume e composição celular (Tabela 8). Todas as unidades foram coletadas em tempo inferior a 12 minutos, permitindo assim a produção de concentrado de hemácias pobre em leucócitos (CHPL), concentrado de plaquetas *buffy coat single* (CPBCS) e plasma fresco congelado (PFC).

Tabela 8. Comparação entre os perfis do ST coletado em bolsas TAB e processado em quatro centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase I do estudo.

Parâmetros do ST	Padrões	X n=12	XIII n=12	XVI n=12	XXV n=12	p
Volume coletado, mL	405 a 495	455 \pm 14	455 \pm 9	456 \pm 10	458 \pm 5	0,7880
Volume anticoagulado, mL	s/p	516 \pm 14	518 \pm 9	519 \pm 10	521 \pm 5	0,7880
Plaquetas, x 10 ¹⁰ /U	s/p	9,6 \pm 2,1	11,1 \pm 2,0	11,2 \pm 1,3	10,8 \pm 2,0	0,1486
Leucócitos, x 10 ⁹ /U	s/p	26,6 \pm 5,2	26,0 \pm 5,3	30,5 \pm 5,5	29,4 \pm 6,0	0,1522

*Valores informados como média \pm desvio padrão. s/p (sem padrão definido).

4.1.2. Concentrado de hemácias pobre em leucócitos

O perfil de resultados dos concentrados de hemácias processados nas quatro centrífugas foi comparável para os valores de hematócrito (%) e de hemoglobina (g/U) como mostram os dados da Tabela 9. O volume médio do CHPL obtido na centrífuga XVI foi de 292 \pm 16 mL, superior àquele encontrado na produção das demais centrífugas (X, XIII e XXV), respectivamente de 285 \pm 11 mL, 279 \pm 13 mL e 280 \pm 16 mL, porém sem significância estatística.

A contagem de leucócitos residuais nos concentrados de hemácias foi

similar nas centrífugas XIII ($0,66 \pm 0,33 \times 10^9/U$), XVI ($0,65 \pm 0,33 \times 10^9/U$) e XXV ($0,64 \pm 0,38 \times 10^9/U$) e ligeiramente inferior na centrífuga X ($0,55 \pm 0,27 \times 10^9/U$), mas sem significado estatístico.

Tabela 9. Resultados do CHPL na qualificação de desempenho de quatro centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase I do estudo comparados entre si. Programa do ciclo 1 de centrifugação definido pelos parâmetros RPM e tempo*

Parâmetros do CHPL	Padrões	X n=12	XIII n=12	XVI n=12	XXV n=12	p
Volume, mL	s/p	285 ± 11	279 ± 13	292 ± 16	280 ± 16	0,1065
Leucócitos, $\times 10^9/U$	< 1,2	0,55 ± 0,27	0,66 ± 0,33	0,65 ± 0,33	0,64 ± 0,38	0,8349
Leucócitos, residual %**	s/p	20,7 ± 9,0	25,2 ± 10,4	21,3 ± 9,7	21,4 ± 9,8	0,6620
Hematócrito, %	50,0 a 70,0%	56,5 ± 2,3	56,6 ± 2,7	57,6 ± 2,0	56,5 ± 2,5	0,6273
Hemoglobina, g/U	> 43,0	53,9 ± 4,3	51,9 ± 5,1	55,4 ± 4,9	52,1 ± 5,6	0,2751
Plaquetas residuais, $\times 10^{10}/U$	s/p	0,08 ± 0,05	0,14 ± 0,09	0,13 ± 0,07	0,11 ± 0,08	0,2079

*Valores informados como média ± desvio padrão. **Residual de leucócitos (%) calculado em relação ao ST. s/p (sem padrão definido).

Programa de centrifugação:

1º ciclo de todas as centrífugas: 3.500 RPM; 12 minutos; aceleração livre; slow stop 5; 22°C

4.1.3. Plasma fresco congelado

As centrifugações realizadas na centrífuga X resultaram nas menores contagens de plaquetas residuais no plasma ($12,7 \pm 6,4 \times 10^6/mL$) enquanto que as maiores contagens foram obtidas na centrífuga XIII ($18,2 \pm 4,8 \times 10^6/mL$), contudo as diferenças observadas entre os resultados dessas duas centrífugas não foram estatisticamente significantes (Tabela 10).

Para essas mesmas duas centrífugas observou-se relação inversa quanto à recuperação de plaquetas no CPBCS, com as menores recuperações encontradas na centrífuga XIII ($68,2 \pm 5,0$ %) e as maiores na centrífuga X ($73,1 \pm 7,1$ %), mas também sem significância estatística.

Tabela 10. Resultados do PFC na qualificação de desempenho de quatro centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase I do estudo comparados entre si. Programa do ciclo 1 de centrifugação definido pelos parâmetros RPM e tempo*

Parâmetros do PFC	Padrões	X n=12	XIII n=12	XVI n=12	XXV n=12	p
Volume, mL	≥ 150	217 ± 19	224 ± 14	211 ± 22	217 ± 15	0,3806
Recuperação de volume, %	s/p	69,1 ± 1,9	70,6 ± 1,8	68,5 ± 3,2	70,1 ± 1,8	0,1125
Leucócitos, x 10 ⁹ /mL	<1,0	0,07 ± 0,08	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,04 ± 0,03	0,4397
Hemácias, x 10 ⁶ /mL	< 6,0	0,13 ± 0,10	0,11 ± 0,11	0,47 ± 0,82	0,07 ± 0,06	0,4150
Plaquetas, x10 ⁶ /mL	< 50,0	12,7 ± 6,4	18,2 ± 4,8	15,0 ± 4,0	16,2 ± 2,8	0,1410

*Valores informados como média ± desvio padrão. s/p (sem padrão definido).

Programa de centrifugação:

1º ciclo de todas as centrífugas: 3.500 RPM; 12 minutos; aceleração livre; slow stop 5; 22°C

4.1.4. Concentrado de plaquetas *buffy coat single*

Os volumes de CPBCS apresentaram diferenças significativas sendo superiores na centrífuga XVI (59 ± 3 mL) quando comparados aos volumes das centrífugas X, XIII e XXV, respectivamente de 55 ± 3 mL, 55 ± 2 mL e 53 ± 3 mL (Tabela 11). O valor médio de concentração de plaquetas também foi superior na centrífuga XVI em relação às demais, mas sem significado estatístico. A programação do segundo ciclo de centrifugação para esse equipamento divergiu daquela utilizada nas centrífugas X e XIII e poderia explicar a diferença entre os volumes, porém tal diferença se manteve na comparação com a centrífuga XXV, de programação idêntica. Ao avaliar os extratores utilizados após o ciclo 2 de centrifugação (2º ciclo) observou-se que as unidades processadas na centrífuga XVI foram fracionadas por um único equipamento enquanto que para as demais centrífugas houve a contribuição de pelo menos dois extratores durante a avaliação. Apesar da programação fixa dos extratores, particularidades de funcionamento do extrator em questão associadas às características de funcionamento da centrífuga XVI podem ter contribuído para a diferença de volume observada.

Tabela 11. Resultados do CPBCS na qualificação de desempenho de quatro centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase I do estudo comparados entre si. Programas do ciclo 2 de centrifugação definidos pelos parâmetros RPM e tempo*

Parâmetros do CPBCS	Padrões	X	XIII	XVI	XXV	p
		n=12	n=12	n=12	n=12	
Volume, mL	40 a 70	55 ± 3	55 ± 2	59 ± 3	53 ± 3	0,0002†
Leucócitos, x 10 ⁸ /U	< 0,5	0,28 ± 0,09	0,24 ± 0,08	0,29 ± 0,05	0,26 ± 0,08	0,4139
Leucócitos, residual %	s/p	1,05 ± 0,37	0,96 ± 0,38	0,98 ± 0,21	0,87 ± 0,15	0,5170
Plaquetas, x 10 ¹⁰ /U	≥ 5,5	7,0 ± 1,7	7,6 ± 1,5	7,8 ± 1,2	7,6 ± 1,6	0,5993
Plaquetas, recuperação %	s/p	73,1 ± 7,1	68,2 ± 5,0	70,2 ± 10,3	70,4 ± 6,4	0,9499

*Valores informados como média ± desvio padrão. **Residual de leucócitos (%) e recuperação de plaquetas (%) calculados em relação ao ST.

s/p (sem padrão definido).

Programas de centrifugação:

2^o ciclo nas centrífugas X e XIII: 1.380 RPM; 5 minutos; aceleração livre; slow stop 5; 22°C

2^o ciclo nas centrífugas XVI e XXV: 1.450 RPM; 5 minutos; aceleração livre; slow stop 5; 22°C

† Diferença estatisticamente significante entre a centrífuga XVI e as demais (X, XIII e XXV).

Quando avaliados quanto aos padrões de conformidade definidos no protocolo de qualificação os critérios de conformidade foram todos atendidos (Tabela 12) não sendo observadas diferenças estatisticamente significantes entre eles.

Tabela 12. Percentuais de conformidade dos hemocomponentes obtidos na qualificação de desempenho de centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase I do estudo. Programas definidos por RPM e tempo.

		Conformidade esperada (%)	Conformidade obtida (%)				
			Centrífuga				
			X	XIII	XVI	XXV	Geral
			n = 12	n = 12	n = 12	n = 12	n = 48
CHPL	Leucócitos (x 10 ⁹ /U)	≥ 75,0	100,0	91,7	100,0	91,7	95,8
	Hematócrito (%)	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Hemoglobina (g/U)	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
PFC	Volume (mL)	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Leucócitos (x 10 ⁵ /mL)	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Hemácias (x 10 ⁶ /mL)	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Plaquetas (x10 ⁶ /mL)	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
CPBCS	Volume (mL)	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Leucócitos (x 10 ⁸ /U)	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Plaquetas (x 10 ¹⁰ /U)	≥ 75,0	91,7	100,0	100,0	100,0	97,9

Percentuais de atendimento aos requisitos de qualidade definidos no protocolo de qualificação.

Os percentuais de conformidade obtidos entre as centrífugas não foram estatisticamente significantes.

Considerando os critérios de qualificação de centrífugas, todas as unidades foram consideradas aprovadas com base nas condições de centrifugação testadas, embora prevalecessem programas distintos para o segundo ciclo de centrifugação (ciclo 2).

4.2. Fase II – Identificação dos valores de efeito centrífugo acumulado durante ciclos de centrifugação praticados na rotina

Os parâmetros de qualidade dos hemocomponentes produzidos a partir dos programas de centrifugação convencionais (definidos na Fase I) nas centrífugas CSX, CSXIII e CSXVI durante a rotina habitual de processamento foram comparados entre si e foi realizada a avaliação do percentual de conformidade aos parâmetros de inspeção definidos no protocolo de qualificação. A conformidade foi condição de aceite dos valores de ECA identificados na Fase II para a composição dos programas alternativos de centrifugação usados na Fase III. A CSXXV apresentou problemas técnicos e foi removida da rotina.

4.2.1. Concentrado de hemácias pobre em leucócitos e plasma fresco congelado

Apesar da contagem de leucócitos residuais do CHPL processado na centrífuga XVI apresentar menor valor ($0,48 \pm 0,35 \times 10^9/U$) quando comparado às demais centrífugas ($0,66 \pm 0,31 \times 10^9/U$ e $0,64 \pm 0,40 \times 10^9/U$ respectivamente centrífugas X e XIII) as diferenças observadas não tiveram significado estatístico (Tabela 13). Os volumes das unidades de PFC produzidas nos ciclos avaliados não mostraram diferenças entre si.

Tabela 13. Resultados de CHPL e de PFC obtidos durante a rotina de processamento em três centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase II do estudo comparados entre si. Ciclo 1 de centrifugação definido por RPM e tempo*

		Padrões	n	Centrífugas			p
				X	XIII	XVI	
CHPL	Volume (mL)	s/p		273 ± 20	265 ± 14	273 ± 19	0,3593
	Leucócitos (x 10 ⁹ /U)	< 1,2	16	0,66 ± 0,31	0,64 ± 0,40	0,48 ± 0,35	0,2775
	Hematócrito (%)	50,0 a 70,0		55,7 ± 3,3	54,4 ± 2,8	56,4 ± 3,8	0,2024
	Hemoglobina (g/U)	> 43,0		51,7 ± 6,7	49,0 ± 5,4	52,9 ± 6,8	0,2191
PFC	Volume (mL)	≥ 150	16	228 ± 22	237 ± 21	221 ± 24	0,1157

*Valores informados como média ± desvio padrão; s/p: sem padrão.

Programa de centrifugação:

1º ciclo de todas as centrífugas: 3.500 RPM; 12 minutos; aceleração livre; slow stop 5; 22°C.

4.2.2. Concentrado de plaquetas *buffy coat single*

As variações significativas de volume no CPBCS observadas entre a centrífuga XVI e as demais centrífugas durante a etapa final da qualificação (fase I) não ficaram evidentes no contexto da rotina, provavelmente pela diversificação de extratores usados. Os maiores valores médios de contagem de plaquetas foram obtidos com uso da centrífuga XIII ($8,7 \pm 2,6 \times 10^{10}/U$) enquanto que os menores valores foram associados à centrífuga XVI ($7,5 \pm 2,3 \times 10^{10}/U$), contudo sem significado estatístico (Tabela 14).

Tabela 14. Resultados de CPBCS obtidos durante a rotina de processamento em três centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase II do estudo comparados entre si. Ciclos 2 de centrifugação definidos por RPM e tempo*

		Padrões	n	Centrífugas			p
				X	XIII	XVI	
CPBCS	Volume (mL)	40 a 70		56 ± 4	56 ± 5	55 ± 5	0,5365
	Leucócitos (x 10 ⁸ /U)	< 0,5	18	0,24 ± 0,13	0,23 ± 0,15	0,18 ± 0,09	0,2038
	Plaquetas (x 10 ¹⁰ /U)	≥ 5,5		7,9 ± 2,2	8,7 ± 2,6	7,5 ± 2,3	0,4740

*Valores informados como média ± desvio padrão.

Programas de centrifugação:

2º ciclo nas centrífugas X e XIII: 1.380 RPM; 5 minutos; aceleração livre; slow stop 5; 22°C

2º ciclo na centrífuga XVI: 1.450 RPM; 5 minutos; aceleração livre; slow stop 5; 22°C

Analisando os mesmos dados sob o ponto de vista da conformidade mínima definida no protocolo de qualificação observamos atendimento quanto aos critérios de conformidade para todos os parâmetros avaliados (Tabela 15) sendo o menor valor de 83,3% para a contagem de plaquetas observado para a centrífuga XVI. Quando analisadas em conjunto, as contagens de plaquetas das três centrífugas (n= 54) mostraram perfil de 90,7% de conformidade. Não foi observada diferença significativa entre as centrífugas em relação aos percentuais de conformidade calculados para os parâmetros inspecionados.

Tabela 15. Percentuais de conformidade para os parâmetros de inspeção dos hemocomponentes na fase II do estudo. Programas de centrifugação definidos por RPM e tempo*

		Esperada	Conformidade (%)			
			Obtida			Geral
			X	XIII	XVI	
CHPL	Leucócitos ($\times 10^9/U$)	$\geq 75,0$	93,8	87,5	93,8	91,7
	Hematócrito (%)	$\geq 75,0$	93,8	93,8	93,8	93,8
	Hemoglobina (g/U)	$\geq 75,0$	87,5	87,5	87,5	87,5
PFC	Volume (mL)	$\geq 75,0$	100,0	100,0	100,0	100,0
CPBCS	Volume (mL)	$\geq 75,0$	100,0	100,0	100,0	100,0
	Leucócitos ($\times 10^8/U$)	$\geq 75,0$	94,4	94,4	100,0	96,3
	Plaquetas ($\times 10^{10}/U$)	$\geq 75,0$	94,4	94,4	83,3	90,7

Foram avaliadas 16 unidades de CHPL e de PFC em cada centrífuga, totalizando 48 unidades de cada hemocomponente e 18 unidades de CPBCS totalizando 54 unidades.

*Percentual de atendimento aos requisitos de qualidade definidos para a Fase II do estudo.

Sob o ponto de vista da conformidade do processo de produção (avaliação global dos hemocomponentes produzidos nas três centrífugas) os percentuais de conformidade foram de 100,0% para a produção de plasma (volume) e superiores a 90,7% para a produção de concentrado de plaquetas. Quanto à produção de CHPL um único parâmetro (hemoglobina g/U) ficou abaixo de 90,0% de conformidade valor de 87,5% mesmo assim sendo considerado conforme.

A identificação de um maior número de unidades com dosagem de hemoglobina (g/U) abaixo do padrão na fase II do estudo, quando feita comparação com as fases I e III, pode estar associada ao processamento de unidades de ST coletadas de doadores com hematócrito / hemoglobina próximos ao limite inferior de aceitação estipulado no protocolo e consequente perda de hemácias inerente ao

processo produtivo, devido à obtenção do *buffy coat*. Essa depleção é mais impactante nas unidades obtidas de doadores com hematócrito / hemoglobina mais baixos quando comparada àquela que ocorre com doadores cujos valores desses parâmetros situam-se em posição mediana a superior da faixa de aceitação, uma vez que a perda é uniforme dentro do processo. Também guarda relação com o volume de ST coletado.

4.2.3. Efeito centrífugo acumulado (ECA)

Durante o acompanhamento do primeiro ciclo de centrifugação não foi observada diferença entre os efeitos centrífugos acumulados registrados na fase de aceleração das centrífugas (Tabela 16). Quando registrados do início da aceleração até o final da fase de platô os valores de ECA da CSXVI: $8,47 \pm 0,02 \times 10^7$ apresentaram-se mais elevados que aqueles observados nas CSX: $8,42 \pm 0,03 \times 10^7$ e CSXIII: $8,44 \pm 0,04 \times 10^7$, tendo essa diferença significado estatístico (Tabela 16). Ao analisar o efeito acumulado durante todo o ciclo, tomado na parada completa da centrífuga (incluindo as fases de aceleração, platô e desaceleração) as diferenças entre as três centrífugas deixaram de ser significantes, sugerindo uma possível compensação exercida pela fase de desaceleração (Figura 5).

Tabela 2. Valores de ECA em três momentos distintos do ciclo de centrifugação de centrífugas Sorvall® RC3BP+™: ao final da aceleração, do início do ciclo ao término da fase de platô e do início do ciclo até a parada completa da centrífuga. Dados obtidos durante a fase II do estudo com ciclos definidos por RPM e tempo*

		ECA	Centrífugas			
			X	XIII	XVI	p
1º ciclo	Aceleração	$\times 10^{0r}$	0,58 ± 0,02 (0,58)	0,59 ± 0,02 (0,58)	0,58 ± 0,01 (0,58)	0,4830
CHPL / PFC	Platô	$\times 10^{0r}$	8,42 ± 0,03 (8,42)	8,44 ± 0,04 (8,45)	8,47 ± 0,02 (8,47)	0,0020†
	Parada da centrífuga	$\times 10^{0r}$	8,74 ± 0,04 (8,75)	8,75 ± 0,03 (8,76)	8,77 ± 0,01 (8,77)	0,0957
2º ciclo	Aceleração	$\times 10^{0b}$	0,44 ± 0,01 (0,44)	0,45 ± 0,01 (0,45)	0,54 ± 0,03 (0,52)	<0,0001†
CPBCS	Platô	$\times 10^{0b}$	5,32 ± 0,07 (5,35)	5,35 ± 0,05 (5,36)	5,86 ± 0,05 (5,87)	<0,0001†
	Parada da centrífuga	$\times 10^{0b}$	5,63 ± 0,07 (5,66)	5,66 ± 0,04 (5,67)	6,20 ± 0,06 (6,21)	<0,0001†

*Valores informados como média ± desvio padrão e (mediana) resultantes da avaliação de 09 ciclos de centrifugação por centrífuga na produção de CHPL/ PFC e de 11 ciclos por centrífuga na produção de CPBCS.

†Diferença estatisticamente significativa entre a centrífuga XVI e as demais centrífugas (X e XIII).

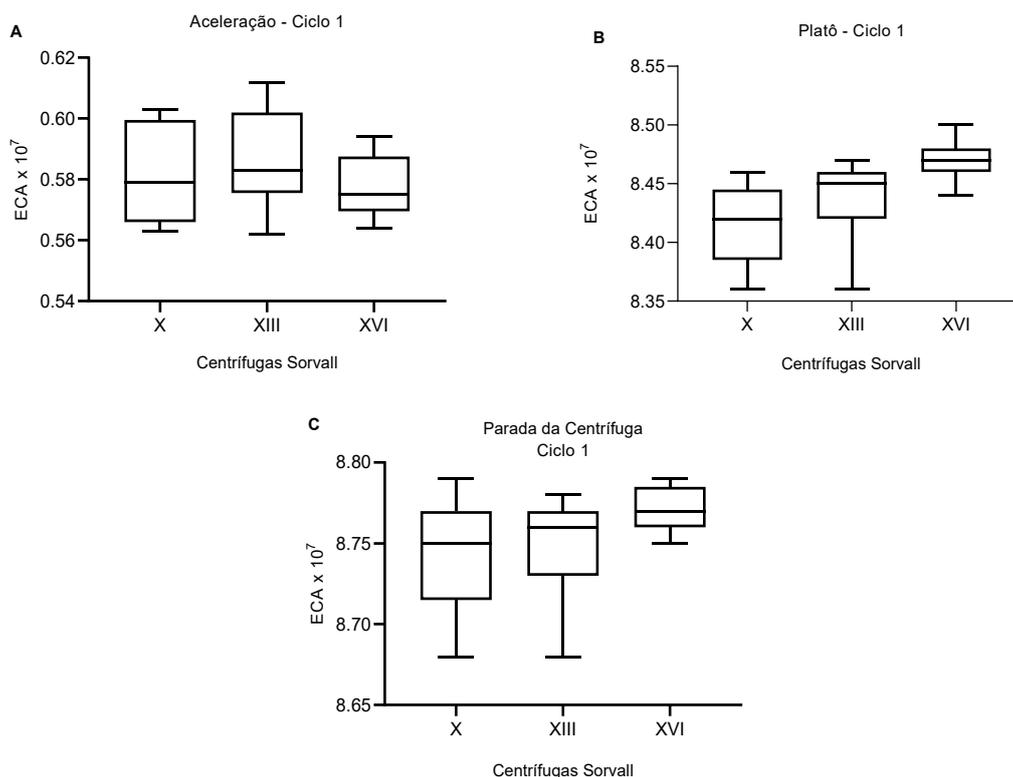


Figura 5. Valores do ECA ($\times 10^7$) correspondentes ao 1º ciclo de centrifugação ($n=09$). A) ECA da fase de aceleração livre desde o início do ciclo até alcance da velocidade definida no programa utilizado. B) ECA da fase de platô (valores acumulados do início do ciclo até final da fase de platô quando o tempo (min.) definido para o ciclo foi atingido. C) ECA obtido desde o início do ciclo até a parada da centrífuga, incluindo a fase de desaceleração (*slow stop 5*) iniciada após alcance do tempo programado para o ciclo.

Os dados de acompanhamento do segundo ciclo de centrifugação mostraram diferenças significativas entre o ECA da centrífuga XVI e as demais centrífugas (X e XIII) em todas as fases de avaliação (final da aceleração, final da fase de platô e na parada da centrífuga). Esses resultados já eram esperados uma vez que o ciclo da centrífuga XVI foi fixado com o mesmo tempo de centrifugação das demais unidades, porém com velocidade de 1.450 RPM, contra 1.380 RPM, definida para as centrífugas X e XIII (Tabela 16 e Figura 6).

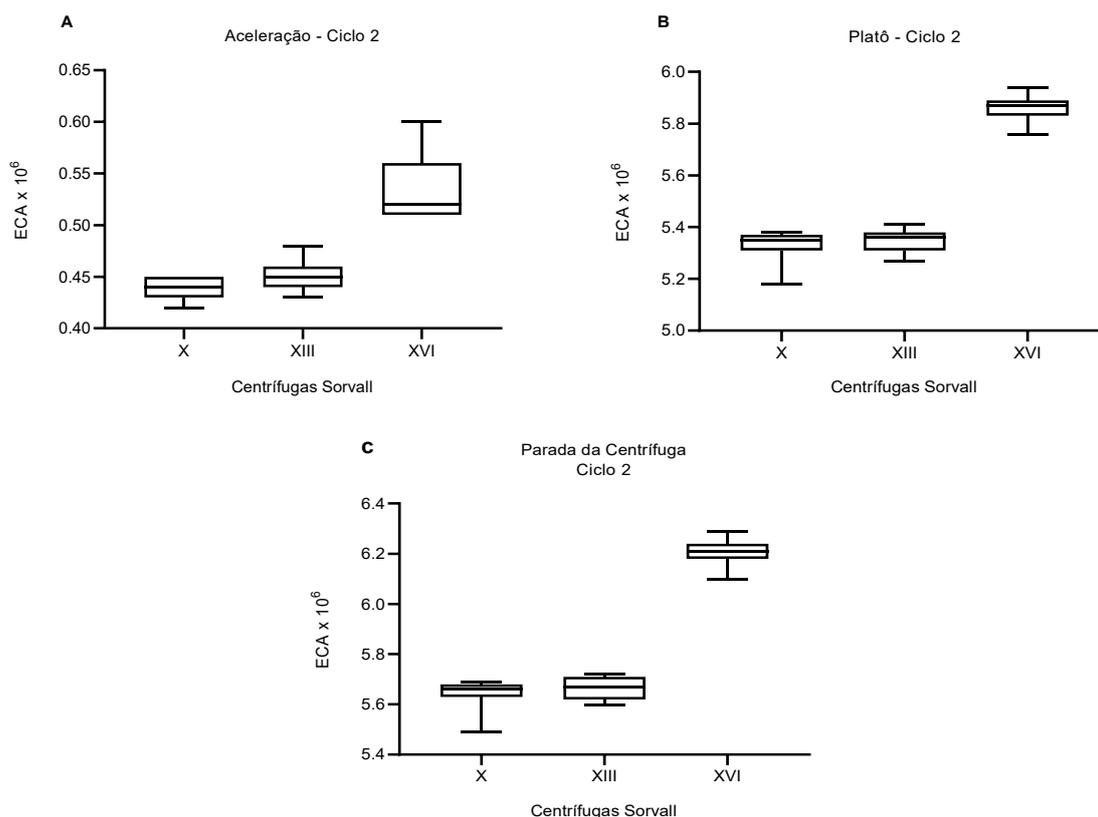


Figura 6. Valores do ECA ($\times 10^6$) correspondentes ao 2^o ciclo de centrifugação ($n= 11$). A) ECA da fase de aceleração livre desde o início do ciclo até alcance das velocidades definidas nos programas utilizados. B) ECA da fase de platô (valores acumulados do início do ciclo até final da fase de platô quando o tempo definido para o ciclo foi atingido. C) ECA obtido desde o início do ciclo até a parada da centrifuga, incluindo a fase de desaceleração (*slow stop 5*) iniciada após alcance do tempo programado para o ciclo.

Os valores de ECA coletados cumulativamente ao longo de três momentos dos ciclos de centrifugação permitiram a identificação das contribuições isoladas e associadas das etapas dos ciclos 1 e 2 e a caracterização da contribuição percentual de cada delas em relação ao efeito ECA total (Figuras 7 e 8).

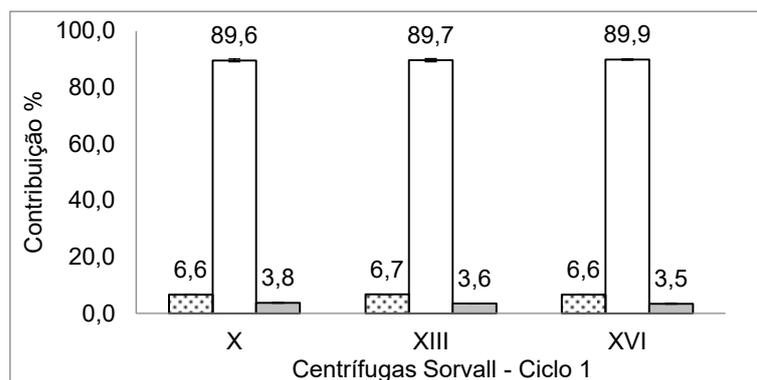


Figura 7. Percentual de contribuição isolada do ECA em três momentos do ciclo 1 de centrifugação: ▨ início da aceleração até alcance do valor de RPM definido para o ciclo; □ do início ao final da fase de velocidade constante □ início da desaceleração até a parada completa da centrífuga.

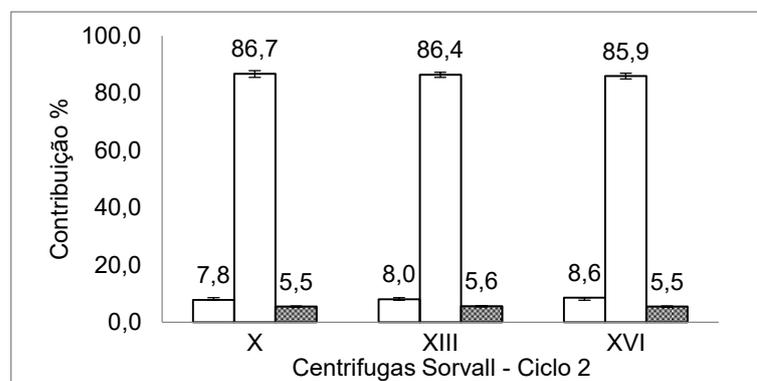


Figura 8. Percentual de contribuição isolada do ECA em três momentos do ciclo 2 de centrifugação: □ início da aceleração até alcance do valor de RPM definido para o ciclo; ▨ do início ao final da fase de velocidade constante: ▩ início da desaceleração até a parada completa da centrífuga.

Avaliando a contribuição isolada de cada uma das etapas da centrifugação na composição do ECA total do ciclo 1 foram verificadas diferenças significativas entre a centrífuga XVI e as demais centrífugas (X e XIII) em relação à fase de platô e entre todas as centrífugas na etapa da desaceleração (Tabela 17). Em relação ao ciclo 2 os p valores foram inferiores a 0,05 quando comparadas as contribuições isoladas de cada uma das etapas do ciclo para o ECA total, sempre entre a CSXVI e as CSX e CSXIII (Tabela 17).

Tabela 3. Valores isolados do efeito centrífugo obtidos na Fase II do estudo para cada etapa do ciclo de centrifugação (aceleração, platô e desaceleração), incorporação da somatória das fases de aceleração e platô e contribuição percentual em relação ao ECA total obtido ao final de cada ciclo.

	ECA	Centrífugas			p
		X	XIII	XVI	
Ciclo 1	Aceleração ($\times 10^7$)	0,58 \pm 0,02	0,59 \pm 0,02	0,58 \pm 0,01	0,4830
	Contribuição (%)	(6,6 \pm 0,2)	(6,7 \pm 0,2)	(6,6 \pm 0,1)	
	Platô ($\times 10^7$)	7,83 \pm 0,04	7,85 \pm 0,05	7,89 \pm 0,02	0,0010†
	Contribuição (%)	(89,6 \pm 0,5)	(89,7 \pm 0,6)	(89,9 \pm 0,2)	
	Desaceleração ($\times 10^7$)	0,33 \pm 0,01	0,31 \pm 0,01	0,30 \pm 0,02	<0,0001‡
Contribuição (%)	(3,8 \pm 0,1)	(3,6 \pm 0,1)	(3,5 \pm 0,2)		
Aceleração + Platô ($\times 10^7$)	8,42 \pm 0,03	8,44 \pm 0,04	8,47 \pm 0,02	0,0020†	
Contribuição (%)	(96,2 \pm 0,4)	(96,4 \pm 0,4)	(96,5 \pm 0,2)		
ECA Total ($\times 10^7$)	8,74	8,75	8,77		
		X	XIII	XVI	
Ciclo 2	Aceleração ($\times 10^6$)	0,44 \pm 0,01	0,45 \pm 0,02	0,54 \pm 0,03	<0,0001†
	Contribuição (%)	(7,8 \pm 0,2)	(8,0 \pm 0,4)	(8,6 \pm 0,5)	
	Platô ($\times 10^6$)	4,89 \pm 0,07	4,90 \pm 0,05	5,83 \pm 0,06	<0,0001†
	Contribuição (%)	(86,7 \pm 1,2)	(86,4 \pm 0,9)	(85,9 \pm 1,0)	
	Desaceleração ($\times 10^6$)	0,31 \pm 0,01	0,32 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	<0,0001†
Contribuição (%)	(5,5 \pm 0,2)	(5,6 \pm 0,2)	(5,5 \pm 0,2)		
Aceleração + Platô ($\times 10^7$)	5,32 \pm 0,07	5,35 \pm 0,05	5,86 \pm 0,05	<0,0001†	
Contribuição (%)	(94,5 \pm 1,2)	(94,4 \pm 0,8)	(94,5 \pm 0,8)		
ECA Total ($\times 10^6$)	5,63	5,66	6,20		

Valores informados como média \pm desvio padrão.

† Diferenças significativas entre a centrífuga XVI e as demais (X e XIII).

‡ Todas as centrífugas apresentaram diferenças significantes entre si (X, XIII e XVI).

4.3. Fase III – Qualificação de desempenho das centrífugas com ciclos definidos por velocidade de centrifugação e efeito centrífugo acumulado (ECA)

4.3.1. Sangue Total

Os resultados de volume do sangue total e das concentrações de plaquetas e de leucócitos no ST processado nas três centrífugas na fase III, com alteração dos parâmetros de centrifugação, foram equiparáveis (Tabela 18).

Tabela 48. Perfil do ST coletado em bolsas TAB e processado em três centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase III do estudo comparados entre si. Ciclos de centrifugação definidos por RPM e ECA*.

		Padrão	X n=18	XIII n=18	XVI n=18	p
ST	Volume coletado, mL	405 a 495	459 ± 13	454 ± 7	460 ± 12	0,2573
	Volume anticoagulado, mL	s/p	522 ± 13	517 ± 7	523 ± 12	0,2573
	Plaquetas, x 10 ¹⁰ /U	s/p	11,6 ± 2,2	10,8 ± 1,9	11,0 ± 2,5	0,5008
	Leucócitos, x 10 ⁸ /U	s/p	28,1 ± 5,2	28,2 ± 8,0	27,3 ± 5,3	0,8955

*Valores informados como média ± desvio padrão. s/p: sem padrão.

Programa de centrifugação:

1º ciclo: (3.500 RPM; ECA 8,42 x 10⁷; aceleração livre; *slow stop* 5; 22°C) padrão para todas as centrífugas.

4.3.2. Concentrado de hemácias pobre em leucócitos

A contagem de leucócitos das unidades de CHPL processadas na CSXVI (0,58 ± 0,27 x 10⁹/U) foi menor quando comparada aos valores obtidos com a CSX e a CSXIII, respectivamente 0,63 ± 0,38 x 10⁹/U e 0,64 ± 0,33 x 10⁹/U, mas sem significado estatístico. Demais parâmetros avaliados no CHPL mostraram resultados similares nas três centrífugas (Tabela 19).

Tabela 5. Resultados da avaliação de CHPL obtidos na qualificação de desempenho de três centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase III do estudo comparados entre si. Ciclo de centrifugação definido por RPM e ECA*.

		Padrão	X n=18	XIII n=18	XVI n=18	p
CHPL	Volume, mL	s/p	281 ± 18	279 ± 17	280 ± 19	0,9442
	Leucócitos, x 10 ⁹ /U	< 1,2	0,63 ± 0,38	0,64 ± 0,33	0,58 ± 0,27	0,9370
	Leucócitos residuais, %	s/p	22,7 ± 9,2	22,7 ± 9,2	21,1 ± 9,2	0,8781
	Hematócrito, %	50,0 a 70,0	56,2 ± 2,2	55,9 ± 2,8	57,4 ± 2,4	0,1726
	Hemoglobina, g/U	> 43,0	54,8 ± 5,8	53,6 ± 6,2	54,8 ± 6,1	0,7802
	Plaquetas residuais, x 10 ¹⁰ /U	s/p	0,11 ± 0,09	0,07 ± 0,05	0,07 ± 0,05	0,2120

Valores informados como média ± desvio padrão.

Programa de centrifugação:

1º ciclo: (3.500 RPM; ECA 8,42 x 10⁷; aceleração livre; *slow stop* 5; 22°C) padrão para todas as centrífugas.

4.3.3. Plasma fresco congelado

No PFC a avaliação simples das unidades quanto ao volume e também quanto à recuperação de volume em relação ao ST foi numericamente bastante próxima (70,3 ± 2,4%; 69,7 ± 2,9% e 69,7 ± 2,5% respectivamente, nas centrífugas

X, XIII e XVI) e sem significado estatístico.

Quanto às contagens de células residuais, para as plaquetas não houve diferença aparente. Os resultados observados para as contagens de hemácias entre as centrífugas X ($0,66 \pm 0,94 \times 10^6/\text{mL}$), XIII ($0,34 \pm 0,29 \times 10^6/\text{mL}$) e XVI ($0,37 \pm 0,33 \times 10^6/\text{mL}$), foram mais elevados para a centrífuga X em relação às demais, mas estatisticamente não significativos. Não foi observada contaminação uniforme de hemácias nas unidades obtidas da centrífuga X, com duas unidades mostrando picos de contaminação em ciclos distintos da produção. Essas diferenças podem estar associadas à retenção de hemácias em regiões da bolsa de ST na qual houve dobra do plástico durante o posicionamento da unidade no adaptador para a caçapa da centrífuga, gerando represamento de hemácias, que dessa forma não foram sedimentadas e no momento da extração seguiram para a bolsa com o plasma. (Tabela 20).

Tabela 20. Resultados obtidos do PFC na qualificação de desempenho de três centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase III do estudo comparados entre si. Ciclo de centrifugação definido por RPM e ECA*

		Padrão	X n=18	XIII n=18	XVI n=18	p
PFC	Volume, mL	$\geq 150,0$	223 ± 15	222 ± 19	219 ± 14	0,7243
	Recuperação de volume, %	s/p	$70,3 \pm 2,4$	$69,7 \pm 2,9$	$69,7 \pm 2,5$	0,7724
	Leucócitos, $\times 10^9/\text{mL}$	$< 1,0$	$0,17 \pm 0,21$	$0,10 \pm 0,10$	$0,05 \pm 0,03$	0,0050†
	Hemácias, $\times 10^6/\text{mL}$	$< 6,0$	$0,66 \pm 0,94$	$0,24 \pm 0,19$	$0,37 \pm 0,33$	0,2340
	Plaquetas, $\times 10^9/\text{mL}$	$< 50,0$	$18,7 \pm 6,4$	$19,5 \pm 5,4$	$20,8 \pm 6,1$	0,5834

*Valores informados como média \pm desvio padrão. s/p: sem padrão.

Programas de centrifugação:

1º ciclo: (3.500 RPM; ECA $8,42 \times 10^7$; aceleração livre; *slow stop* 5; 22°C) padrão para todas as centrífugas.

† Diferença estatisticamente significativa entre as centrífugas X e XVI.

Diferenças significantes foram identificadas somente entre as centrífugas X e XVI ($p = 0,005$) quando avaliada a contagem de leucócitos residuais: $0,17 \pm 0,21 \times 10^5/\text{mL}$ e $0,05 \pm 0,03 \times 10^5/\text{mL}$, respectivamente. Ao estimar o residual percentual de leucócitos em relação ao ST as diferenças persistiram (Tabela 21), mas não houve extrapolação quanto ao patamar máximo de contaminação leucocitária definido no protocolo de qualificação (Tabela 23). Uma vez que não foram identificadas diferenças para o mesmo parâmetro entre as CSXVI e CSXIII e que os dados que subsidiaram a proposta alternativa de centrifugação foram fornecidos

exatamente pela CSX, não foi possível associar esse resultado à uniformização do programa do ciclo 1 com uso da programação alternativa.

Tabela 21. Avaliação das contagens de leucócitos obtidas no plasma na fase III do estudo*.

		Centrífugas			p
		X n=18	XIII n=18	XVI n=18	
ST	Leucócitos, x 10 ⁸ /U	28,1 ± 5,2	28,2 ± 8,0	27,3 ± 5,3	0,8955
PFC	Volume, mL	223 ± 15	222 ± 19	219 ± 14	0,7743
	Leucócitos, x 10 ⁵ /mL	0,17 ± 0,21	0,10 ± 0,10	0,05 ± 0,03	0,0050†
	Leucócitos residuais, %	0,14 ± 0,19	0,083 ± 0,089	0,043 ± 0,027	0,0100†

*Valores informados como média ± desvio padrão.

† Diferença estatisticamente significativa entre as centrífugas X e XVI.

4.3.4. Concentrado de plaquetas *buffy coat single*

As diferenças encontradas na fase I quanto aos volumes de CPBCS entre a centrífuga XVI e as unidades X e XIII persistiram ($p = 0,0074$), desta vez sendo os menores volumes obtidos com a centrífuga XVI (51 ± 6 mL) e volumes equiparáveis para os CPBCS processados nas centrífugas X (56 ± 4 mL) e XIII (55 ± 3 mL) (Tabela 22). Apesar de apresentarem volumes menores, todos os CPBCS obtidos com a centrífuga XVI atenderam à faixa de aceitação preconizada no protocolo de qualificação (40 – 70 mL). As concentrações ($p = 0,9731$) e recuperações de plaquetas ($p = 0,4234$) e a concentração leucocitária ($p = 0,5984$) observadas nessas unidades foram similares àquelas obtidas com as outras centrífugas avaliadas (Tabela 22).

Tabela 22. Resultados obtidos do CPBCS na qualificação de desempenho de três centrífugas Sorvall® RC3BP+™ na fase III do estudo comparados entre si. Ciclo de centrifugação definido por RPM e ECA*.

		Padrão	X n=18	XIII n=18	XVI n=18	p
CPBCS	Volume, mL	40 a 70	56 ± 4	55 ± 3	51 ± 6	0,0074‡
	Leucócitos, x 10 ⁸ /U	< 0,5	0,16 ± 0,08	0,15 ± 0,05	0,22 ± 0,18	0,5984
	Leucócitos residuais, %	s/p	0,61 ± 0,33	0,56 ± 0,22	0,79 ± 0,54	0,5144
	Plaquetas, x 10 ¹⁰ /U	≥ 5,5	8,1 ± 1,6	7,9 ± 1,8	8,1 ± 2,5	0,8077
	Recuperação de plaquetas, %	s/p	69,5 ± 8,3	73,4 ± 8,9	72,8 ± 11,1	0,4234

*Valores informados como média ± desvio padrão. s/p: sem padrão

Programa de centrifugação:

2º ciclo: (1.380 RPM; ECA 5,32 x 10⁶; aceleração livre; *slow stop* 5; 22°C) padrão para todas as centrífugas.

‡ Diferença estatisticamente significativa entre a centrífuga XVI e as centrífugas X e XIII.

Na avaliação do percentual de conformidade de atendimento aos parâmetros da qualidade definidos no protocolo de qualificação, os plasmas produzidos atenderam plenamente aos critérios com 100,0% de conformidade para todos os parâmetros.

Os CHPL produzidos em todas as centrífugas atenderam aos critérios de conformidade estabelecidos com valores superiores a 90,0% (Tabela 23), exceto para a contagem de leucócitos (x 10⁹/U) observada na centrífuga X (88,9%).

Tabela 23. Percentuais de conformidade para os parâmetros de inspeção dos hemocomponentes produzidos na fase III com aplicação dos programas de centrifugação definidos por RPM e ECA.

		Conformidade Esperada (%)	Centrífugas			
			X n= 18	XIII n= 18	XVI n= 18	Geral n= 54
CHPL	Leucócitos, x 10 ⁹ /U	≥ 75,0	88,9	94,4	100,0	94,4
	Hematócrito, %	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Hemoglobina, g/U	≥ 75,0	100,0	94,4	100,0	98,1
PFC	Volume, mL	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Leucócitos, x 10 ⁵ /mL	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Hemácias, x 10 ⁶ /mL	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Plaquetas, x10 ⁶ /mL	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0
CPBCS	Volume, mL	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Leucócitos, x 10 ⁸ /U	≥ 75,0	100,0	100,0	94,4	98,1
	Plaquetas, x 10 ¹⁰ /U	≥ 75,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Percentuais de atendimento aos requisitos da qualidade definidos no protocolo de qualificação. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes.

Os concentrados de plaquetas *buffy coat single* produzidos nas centrífugas X e XIII alcançaram 100,0% de conformidade considerando-se todos os parâmetros avaliados. Na centrífuga XVI as conformidades foram de 100,0%, exceto para a contagem de leucócitos cujo valor foi de 94,4%. Para essa centrífuga uma unidade avaliada apresentou contagem de leucócitos superior ao padrão com resultado de $0,86 \times 10^8/U$. Considerando as três centrífugas de forma conjunta a contaminação de leucocitária no CPBCS alcançou o patamar de 98,1% de conformidade e dessa forma atendeu ao protocolo do estudo. No contexto geral da produção, os valores de conformidade encontrados mantiveram-se superiores a 90,0% indicando boa margem de aceitação para o processo de produção.

5. DISCUSSÃO

A produção de hemocomponentes é um processo de extrema importância no cotidiano das unidades hemoterápicas. No início dessa prática houve predomínio dos processos manuais e operador dependentes, sujeitos naturalmente e/ou tecnicamente a uma maior variabilidade, traduzida no perfil de conformidade dos hemocomponentes obtidos.

A introdução gradual da automação permitiu melhor controle dos processos e ganhos em produtividade. Ao mesmo tempo, viabilizou abordagens novas e tecnicamente mais complexas para obtenção de hemocomponentes com perfis distintos, capazes de atender demandas específicas identificadas pelos serviços de hemoterapia, relacionadas à população de pacientes atendidos.

As centrífugas de sedimentação modelo Sorvall® RC3BP+™ utilizadas na seção de produção de hemocomponentes do Hemocentro de Campinas/UNICAMP permitem ao usuário as programações habituais dos ciclos de centrifugação pela associação do tempo de centrifugação à velocidade (RPM) ou à força g. Essas duas formas de definição dos ciclos são as mais presentes nas descrições dos protocolos de centrifugação, mas não são suficientes para traduzir com exatidão a força aplicada aos hemocomponentes durante todo o ciclo de centrifugação.

Considerando-se a variabilidade biológica inerente ao ST enquanto matéria prima da produção de hemocomponentes a partir de bolsas TAB, há uma tolerância bioestatística ampla em relação aos percentuais de atendimento aos padrões da qualidade dos hemocomponentes, que permitem caracterizar um

processo produtivo como conforme quando o mesmo perfaz no mínimo 75,0% de atendimento aos padrões da qualidade por parâmetro avaliado. Essa faixa de aceitação foi adotada na legislação nacional PRTC nº 05 (60) sendo também preconizada na Europa (59). O protocolo de qualificação de centrífugas utilizado neste estudo considerou a mesma faixa percentual de conformidade da PRTC nº 05 para a aprovação da qualificação de desempenho das centrífugas. O tamanho amostral mínimo calculado para avaliação de variáveis qualitativas (parâmetro de inspeção classificado como conforme ou não conforme) com intervalo de confiança de 95% (60) foi de 12 unidades por equipamento, sendo a mesma casuística adotada na qualificação de centrífugas da área de processamento.

Na fase I desse estudo foram avaliados, na etapa final da qualificação de desempenho de centrífugas, os perfis dos hemocomponentes (CHPL, PFC e CPBCS) produzidos do ST coletado em bolsas TAB e processado em quatro centrífugas programadas com os parâmetros RPM x tempo (minutos). Do ponto de vista do controle de qualidade dos hemocomponentes obtidos em cada uma das centrífugas e também na avaliação incluindo todas as unidades processadas pelos equipamentos, houve atendimento pleno aos percentuais mínimos de conformidade estabelecidos no protocolo, sendo 91,7% o menor percentual de conformidade obtido e que correspondeu à contaminação leucocitária no CHPL.

Embora todos os volumes de CPBCS obtidos das centrifugações do BC com as programações em RPM x tempo tenham ficado dentro da faixa de aceitação, na CSXVI eles foram significativamente menores em relação àqueles obtidos das unidades centrifugadas nos demais equipamentos (CSX, CSXIII e CSXXV). Não foi possível estabelecer associação desse perfil com o programa utilizado no ciclo 2 pela CSXVI (aceleração livre; 1.450 RPM; 5 minutos; slow stop 5; 22°C) uma vez que ele também foi reproduzido na CSXXV gerando volumes similares aos das centrífugas X e XIII com outra versão de programação (aceleração livre; 1.380 RPM; 5 minutos; slow stop 5; 22°C).

Todas as unidades de ST centrifugadas na CSXVI foram submetidas à extração em um mesmo extrator automatizado enquanto que na extração das unidades oriundas das demais centrífugas houve a contribuição de dois equipamentos distintos ao longo do processo de obtenção dos hemocomponentes. É possível que as diferenças estejam ligadas às variáveis do processo relacionadas à intervenção humana, associadas ou não às nuances de operação dos equipamentos

(centrífugas e extratores). Não foi possível levantar junto à equipe da área de produção relatos da existência de ocorrências de impacto durante a fase de extração, fossem elas oriundas da manipulação das bolsas pelos operadores ou mesmo de funcionamento dos extratores (alertas) e dessa forma, avaliar a potencial contribuição dos mesmos nos resultados observados.

Na fase I foi possível caracterizar os volumes, a composição celular e a dosagem de hemoglobina dos hemocomponentes produzidos, identificar as não conformidades para os parâmetros de qualidade especificados no protocolo de qualificação das centrífugas e decidir pelo aceite ou rejeição do programa testado individualmente nos equipamentos. A somatória ($n = 48$) obtida entre os dados gerados nos ciclos realizados com os programas selecionados no conjunto de centrífugas permitiu uma boa estimativa do potencial das programações propostas.

Após a implantação dos programas em RPM x tempo (fase II) a variação entre os volumes dos CPBCS vista na fase I não se repetiu, sugerindo que as observações anteriores para este parâmetro possam ter sofrido influência de algum fator não claramente identificado, que não se reproduziu em mesma dimensão durante a rotina, caracterizada pela maior diversificação de operadores e extratores automáticos.

Os percentuais de conformidade geral para os parâmetros avaliados na produção, com conformidades mínimas no CHPL de 87,5% para a dosagem de hemoglobina (g/U) e de 93,8% para hematócrito (%), quando comparados aos dados inicialmente obtidos na etapa I de qualificação de desempenho das centrífugas (conformidades de 100,0% para os mesmos parâmetros), podem estar ligados à remoção padrão do BC e à maior variabilidade de tais parâmetros na população de doadores cujas unidades foram amostradas na fase II (25,0% dos doadores com hematócrito igual ou inferior a 40,0%) em comparação à fase I do estudo (20,8% dos doadores com hematócrito igual ou inferior a 40,0%). A interferência humana pode ter contribuído para a variabilidade visto que, nessa etapa, ao contrário das Fases I e II, ocorreu a participação integral de todos os profissionais da área de processamento. Adicionalmente, alterações do perfil de funcionamento dos equipamentos (centrífugas e extratores), decorrentes de perda de calibração ou desgaste natural também podem responder pelos resultados observados.

Os volumes do PFC e do CPBCS mantiveram atendimento de 100,0% aos padrões e para os demais parâmetros de inspeção o menor percentual de

conformidade obtido foi de 90,7% para a contagem de plaquetas no CPBCS, assinalando a boa reprodução do processo de centrifugação com os programas definidos na fase I.

Durante a fase II foram coletados os valores do efeito centrífugo acumulado gerados nos ciclos 1 e 2 de centrifugação em todas as centrífugas (exceto a CSXXV removida da rotina por problemas técnicos) e foi selecionada a centrífuga (CSX) como referência para a definição do ECA a ser disseminado nas demais unidades, pois é a centrífuga pela qual historicamente a área de processamento inicia as qualificações de desempenho. Supondo a utilização do ECA na qualificação de desempenho de centrífugas para um novo processo produtivo, ou seja, na condição de inexistência de parâmetros de centrifugação previamente conhecidos, os mesmos obrigatoriamente serão definidos em apenas um equipamento para replicação posterior nos demais.

Para a programação alternativa não foi adotado o valor integral de ECA obtido do início da centrifugação até a parada completa da centrífuga. Em seu lugar utilizou-se o ECA parcial que corresponde à força aplicada do início da centrifugação até o término da fase de platô, ou seja, até o início da desaceleração, que no programa tradicional acontece quando o tempo fixado para o ciclo é atingido. Tais valores parciais corresponderam a $96,2 \pm 0,4\%$ ($8,42 \pm 0,04 \times 10^7$) e a $94,5 \pm 1,2\%$ ($5,32 \pm 0,07 \times 10^6$) do efeito centrífugo total identificado nos ciclos 1 e 2, respectivamente. A etapa isolada de desaceleração foi desconsiderada para evitar a aplicação final de força superior ao ECA total inicialmente observado. O percentual de contribuição da desaceleração do ciclo 1 para o ECA total foi de $3,8 \pm 0,1\%$ e no ciclo 2 foi de $5,5 \pm 0,2\%$. Neste último, não diferiu em função da variação de programação que existiu entre as centrífugas na fase II.

Na avaliação prática da proposta alternativa de programação das centrífugas com os ciclos 1 e 2 definidos pelos parâmetros RPM x ECA (fase III) aplicados como padrão a todas as centrífugas, o perfil geral dos componentes produzidos entre os equipamentos não mostrou diferenças significativas, exceto para dois parâmetros de inspeção: a contagem de leucócitos no PFC e o volume no CPBCS.

Na avaliação dos resultados do PFC, apesar do atendimento de 100,0% aos parâmetros da qualidade, as contagens de leucócitos foram distintas entre as centrífugas CSX (maiores valores) e CSXIII (menores valores). Ao considerarmos os

percentuais residuais de leucócitos em relação ao conteúdo inicial presente no ST a diferença persistiu. A elevação dessa contagem não foi acompanhada pelo aumento das plaquetas, sugerindo ausência de relação direta com as condições de centrifugação e a contribuição variável de outros elementos de difícil mapeamento na resultante do processo de produção, dentre eles o desprendimento de leucócitos aderidos à parede da bolsa com o BC durante a extração do plasma.

A utilização do programa alternativo resultou na persistência das diferenças vistas na fase I para os volumes do CPBCS entre as mesmas centrífugas, porém desta vez com inversão do patamar dos resultados (CSXVI com menor volume que as demais). Não foi possível avaliar o impacto da mudança da programação na CSXXV (que compartilhou o mesmo programa aplicado à CS XVI na fase I) devido a sua remoção do processo de produção e dessa forma buscar elementos para associar o resultado à alteração do programa.

Tais observações, no entanto, reforçam a existência de um perfil de funcionamento particular para cada centrífuga, sedimentado ao longo da vida útil desses equipamentos, que dificulta em muitas ocasiões a reprodução satisfatória dos mesmos programas de centrifugação em todos os equipamentos de mesmo modelo levando, em ciclos definidos por RPM x tempo, à necessidade de customização dos programas para cada equipamento. Durante a fase II foi possível identificar padrões de comportamento distintos entre as centrífugas com relação à dispersão dos valores de ECA registrados durante o ciclo 1, com a CSXVI apresentando menor dispersão e a CSX maior variação.

Neste estudo não foram observadas diferenças relevantes na conformidade dos hemocomponentes produzidos pela metodologia do BC nas centrífugas Sorvall® RC3BP+™ avaliadas nas qualificações de desempenho de centrífugas, quando programadas com os parâmetros RPM x tempo e RPM x ECA. Em ambos os casos, ao avaliar os hemocomponentes produzidos pelo conjunto de centrífugas em cada fase do estudo as conformidades aos parâmetros de qualidade avaliados mantiveram-se superiores a 90,0%.

Aliada à automação, a incorporação do parâmetro ECA à rotina de programação de centrífugas Sorvall® RC3BP+™, ao permitir maior domínio sobre a reprodução da força centrífuga de fato aplicada durante os ciclos de centrifugação, pode contribuir para a minimização das não conformidades que resultem exclusivamente das variações nesses ciclos.

6. CONCLUSÃO

Nas centrífugas Sorvall® RC3BP+™ é possível, por meio de um comando especial, acompanhar os ciclos definidos por RPM e tempo já padronizados na rotina e extrair com facilidade os dados do efeito centrífugo acumulado aplicado ao longo deles, para utilização na programação alternativa RPM x ECA.

A programação dos ciclos com o parâmetro ECA é capaz de reproduzir padrões de conformidade similares àqueles observados com a programação tradicional (RPM x tempo) desde que mantidas a velocidade utilizada no programa convencional da qual se originou e também as modalidades tanto de aceleração quanto de desaceleração.

A programação alternativa proposta (RPM x ECA) permitiu que programas idênticos de centrifugação para o 1º e o 2º ciclos (ciclos 1 e 2) fossem reproduzidos com sucesso nas centrífugas avaliadas, sem a necessidade de retrabalho e portanto, em menor tempo de finalização da qualificação, ao contrário do vivenciado na experiência de programação tradicional (RPM x tempo).

Frente aos resultados obtidos, será proposta à área de Processamento e à Supervisão Técnica do Hemocentro de Campinas – UNICAMP a incorporação do parâmetro ECA em substituição ao tempo de centrifugação nas programações das centrífugas utilizadas na produção de hemocomponentes.

7. REFERÊNCIAS

1. Hardwick J. Blood processing. ISBT Science Series 2008; 3:148–176.
2. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 19th ed. Council of Europe, Strasbourg, France 2017.
3. American Association of Blood Banks (AABB). Technical manual. 17th ed. AABB Press, Bethesda, Maryland, 2011.
4. Baldini M, Costea N, Dameshek W, Limauro A. The Viability of Stored Human Platelets. *Blood* 1960 16: 1669-1692.
5. Slichter SJ, Harker LA. Preparation and storage of platelets concentrates I. Factors influencing the harvest of viable platelets from whole blood. *Br J Haemat* 1976; 34:395-402.
6. Moroff G, Holme S. Concepts about current conditions for the preparation and storage of platelets. *Transfus Med Rev* 1991; 1:48-59.
7. Heaton WAL, Rebullia P, Pappalettera M, Dzik WH. A comparative analysis of different methods for routine blood component preparation. *Transfus Med Rev* 1997; 11(2):116-129.
8. Minor AH, Burnett, L. Separation, concentration and transfusion of platelets from normal human blood. *Blood* 1952; 7: 693-699.
9. Gulliksson H. Additive solutions for the storage of platelets for transfusion. *Transfus Med* 2000; 10:257-64.
10. Högman CF, Eriksson L, Hedlund K, Wallvik J. The bottom and top system: a new technique for blood component preparation and storage. *Vox Sang* 1988; 55:211-7.

11. Hurtado C, Bonanad S, Soler MA, Mirabet V, Blasco I, Planelles MA, Miguel A. Quality analysis of blood components obtained by automated buffy-coat layer removal with a Top & Bottom system (Optipress ®II). *Haematologica* 2000; 85:390-395.
12. Pasqualetti D, Ghirardini A, Arista MC, Vaglio S, Fakeri A, Waldman AA, Girelli G. Blood component fractionation: manual versus automatic procedures. *Transf Apher Sci* 2004; 30:23–28.
13. Larsson S, Sandgren P, Sjödin A, Vesterinen M, Gulliksson H. Automated preparation of platelet concentrates from pooled buffy coats: in vitro studies and experiences with the OrbiSac system. *Transfusion* 2005; 45:743-751.
14. Lagerberg JW, Salado-Jimena JA, Löf H, Bonteloe IJ, Nielsen C, Verheggen C, Van Waeg G, Van Der Meer PF, De Korte D, Hansen MB, Knutson F. Evaluation of the quality of blood components obtained after automated separation of whole blood by a new multiunit processor. *Transfusion* 2013; 53:1798-1807.
15. Cid J, Mafnano L, Lozano M. Automation of blood component preparation from whole blood collections. *Vox Sang* 2014; 107:10-18.
16. Thomas S, Beard M, Garwood M, Callaert M, Van Waeg G, Cardigan R. Blood components produced from whole blood using the Atreus processing system. *Transfusion* 2008; 48:2515-2524.
17. Jurado M, Algora M, Garcia-Sanchez F, Vico S, Rodriguez E, Perez S, Barbolla L. Automated processing of whole blood units: operational value and in vitro quality of final blood components. *Blood Transfus* 2012; 10:63–71.
18. Solberg C, Moen P, Little C. Effect of centrifugation on the storage properties of platelets. *Vox Sang* 1988; 55: 97-103.

19. WHO guidelines on good manufacturing practices for blood establishments. In: WHO Technical Report Series, Geneva, World Health Organization, 2011.N^o. 961, Annex 04.
20. Vassalo RR, Murphy Scott. A critical comparison of platelet preparation methods. *Curr Opin Hematol* 2006; 13:323-330.
21. Levin E, Culibrk B, Gyöngyössi-Issa MIC, Weiss S, Scammell K, LeFresne W, Jenkins C, Devine, DV. Implementation of buffy coat platelet component production: comparison to platelet-rich plasma platelet production. *Transfusion* 2008; 48:2331-2337.
22. Oksanen K, Kekomaki R, Ruutu T, Koskimies S, Myllylä G. Prevention of alloimmunization in patients with acute leukemia by use of white cell-reduced blood components - a randomized trial. *Transfusion* 1991; 31(7):588-594.
23. Oksanen K, Ebeling E, Kekomäki R, Elonen E, Sahlstedt L, Violin L, Myllylä G. Adverse reactions to platelet transfusions are reduced by use of platelet concentrates derived from buffy coat. *Vox Sang* 1994; 67:356-361.
24. Pietersz RNI, Reesink HW, Dekker WJA, Fijen FJ. Preparation of leukocyte-poor platelet concentrates from buffy coats I. Special inserts for centrifuge cups. *Vox Sang* 1987; 53: 203-207.
25. van Rhenen DJ, Vermeij J, de Voogt J, Bernes JC, Payrat JM. Quality and standardization in blood component preparation with an automated blood processing technique. *Transfus Med* 1998; 8:319–324.
26. van der Meer PF, Pietersz RNI, Hinloopen B, Dekker WJA, Reesink, HW. Automated separation of whole blood in top and bottom bags into components using the Compomat G4. *Vox Sang* 1999; 76:90-99.

27. van Rhenen DJ, Gullikssony H, Cazenavez JP, Pamphilon D, Davis K, Flament J, Corash L. Therapeutic efficacy of pooled buffy-coat platelet components prepared and stored with a platelet additive solution. *Transfusion Medicine*, 2004, 14, 289–295.
28. Zhang JG, Carter CJ, Culibrk B, Devine DV, Levin E, Scammell K, Weiss S Gyongyossy-Issa MIC. Buffy-coat platelet variables and metabolism during storage in additive solutions or plasma. *Transfusion* 2008; 48:847-856.
29. Pietersz RNI, Dekker WJA, Reesink, WH. Comparison of a conventional quadruple-bag system with a 'top-and-bottom' system for blood processing. *Vox Sang* 1990; 59:205-208.
30. Cerelli E, Nocera M, Bartolomeo ED, Panzano P, Baricchi R. Effect of adhesive properties of buffy coat on the quality of the blood components produced with Top and Top and Top and Bottom bags. *Blood Transfus* 2015; 13:265-273.
31. Serinolli MI, Novaretti MCZ, Dorlhiac-Lacer PE, Chamone DAF. Estudo do método da extração da camada leucoplaquetária na produção de hemocomponentes – avaliação laboratorial. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2004; 26(3):167-176.
32. van Delden CJ, De Wit HJC, Sibinga CTS. Comparison of blood component preparation systems based on buffy coat removal: component specifications, efficiency and process costs. *Transfusion* 1998; 38:860-866.
33. Murphy S, Heaton WA, Rebullia P. Platelet production in the Old World-and the New. *Transfusion* 1996; 36:751-754.
34. Pietersz RNI, Dekker WJA, Reesink HA. Quality of red cell concentrates in relation to the volume of the buffy coat removed by automated processing in a Top and Bottom System. *Vox Sang* 1991; 60:148-150.

35. Prins HK, de Bruijn JCGH, Henrichs HPJ, Loos JA. Prevention of microaggregate formation by removal of 'buffy-coats'. *Vox Sang* 1980; 39: 48-51.
36. Pietersz RNI, de Korte D, Reesink WH, Dekker WJA, Van den Ende A, Loos JA. Storage of whole blood for up to 24 hours at ambient temperature prior to component preparation. *Vox Sang* 1989; 56:145-150.
37. Williamson JR, Shanahan MO, Hochmuth RM. The influence of temperature on red cell deformability. *Blood* 1975; 46: 611-624.
38. Boeri N, Saleun S, Pelissier E, Saleun JP, Aiach M, Rendu F. Influence of a 12-hour 22°C holding period for buffy coats on the preparation of platelet concentrates stored in plasma. *Transfusion* 1994; 34:881-886.
39. Eriksson L, Eriksson G, Högman CF. Storage of buffy coat preparations at 22°C in plastic containers with different gas permeability. *Vox Sang* 1997; 73:74–80.
40. Solberg C, Hansen JB, Little C. Centrifugation of very freshly donated blood may yield platelets unstable to storage in the new generation of containers. *Vox Sang* 1989; 56:25-31.
41. Rácz Z, Baróti C. Storage of platelet concentrates from overnight-stored blood and overnight-stored buffy coat: In vitro studies. *Vox Sang* 1995; 68: 160-163.
42. Koolman J, Roehm KH. *Color atlas of biochemistry*. 2th ed. Stuttgart, Germany: Thieme; 2005.
43. Walker J, David H, Robert R. *Fundamentals of physics*. 10th ed. Extended edition. Hoboken, NJ: Wiley; 2014.

44. Griffith, OM. Practical Techniques for Centrifugal Separations. Application Guide. Thermo Fisher Scientific 2010.
45. Majekodunmi, SO. A review on centrifugation in the pharmaceutical industry. Am J Biomed Eng 2015; 5(2): 67-78.
46. Pall Medical. Plasma optimization guide – Improving plasma yields from whole blood donations [Acesso em 14 maio 2017]. Disponível em: <http://www.pall.com/blood>
47. Thermo Fisher Scientific. RC 3BP Plus Instruction Manual. Thermo, Thermo Fisher Scientific, Langensfeld; 2010.
48. Thermo Scientific. H-6000A HBB-6 HLR-6 Instruction Manual. Thermo Scientific, Langensfeld Germany; 2010.
49. Högman CF, Johansson A, Bergius B. A simple method for the standardization of centrifugation procedures in blood component preparation. Vox Sang 1982; 43:266-269.
50. Raffaldoni E, Ghessi A. Contribution à la standardisation des méthodes de préparation des hémocomposants. Examen des caractéristiques opérationnelles de certaines centrifugeuses. Rev Fr Transfus Immunohematol 1986; 24(2):107-120.
51. Masse M, Blanchard R, Peters A. Centrifugeuses asservies par un intégrateur w 2 dt. Applications en transfusion sanguine. Rev Fr Transfus Immunohematol 1982; 25(4):413-421.
52. Downey H, Boujtitita N. Improving blood banking protocols using the Thermo Scientific RC3BP Plus™. Application Note: AN-LECFBBPROTOCOL-0508 [Acesso em 14 maio 2017]. Disponível em: <http://www.thermoscientific.com/centrifuge>

53. Kahn RA, Cossette I, Friedman LI. Optimum centrifugation conditions for the preparation of platelet and plasma products. *Transfusion* 1976; 16(2):162-165.
54. Reiss RF, Katz AJ. Optimizing recovery of platelet in platelet rich plasma by the simplex strategy. *Transfusion* 1976; 16(4):370-374.
55. Aster RH. What is the optimal method of preparing platelet suspensions for patients with thrombocytopenia? Is it indicated to determine the platelet groups before transfusing platelet suspensions? *International Forum. Vox Sang* 1972; 22:272-285.
56. Slinde E, Storetvedt H, Strand F, Flatmark T. A low-cost integrator for preparative ultracentrifuges. *Anal Biochem* 1974; 58:170-174.
57. Bontekoe J, Van Der Meer PF, Mast G, De Korte D. Separation of centrifuged whole blood and pooled buffy coats using the new CompoMat G5: 3 years experience. *Vox Sang* 2014; 107:140–147.
58. United States Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologics Evaluation and Research, Center for Veterinary Medicine. Guidance for Industry. Process Validation: General Principles and Practices. Current Good Manufacturing Practices; Rev.1 2011. [Acesso em 14 maio 2017]. Disponível em: <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm070336.pdf>
59. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 19th ed. Council of Europe, Strasbourg, France 2017.
60. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de consolidação nº5 de 03 de outubro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União. Brasília, 03 de outubro de 2017.

- 61 Callegari-Jacques, S. M. Bioestatística: princípios e aplicações. Porto Alegre: Artmed, 2003.

8. APÊNDICES

Apêndice 1. Perfil do ST processado na CSX na fase I do estudo.

Nº Bolsa	ST (mL) coletado	ST (mL) anticoagulado	HT Doador (%)	Plaq. Doador x 10 ³ /ul	Plaq. ST x 10 ¹⁰ /U	Leuc. Doador x 10 ³ /ul	Leuc. ST x 10 ⁸ /U
B344717025860*	431	494	41,8	179	7,7	6,6	28,5
B344717025872*	441	504	43,1	195	8,6	5,5	24,2
B344717025859*	469	532	40,5	158	7,4	4,0	18,8
B344717025865*	441	504	37,6	230	10,1	4,4	19,4
B344717025869*	450	513	40,6	95	4,3	5,0	22,5
B344717025870*	479	542	31,8	227	10,9	6,5	31,1
B344717025613	455	455	45,5	189	8,6	6,0	27,3
B344717025611	468	468	44,2	162	7,6	4,4	20,6
B344717025610	453	453	45,0	238	10,8	5,3	24,0
B344717025612	443	443	41,8	220	9,7	4,7	20,8
B344717025615	456	456	46,1	222	10,1	6,2	28,3
B344717025614	456	456	45,7	271	12,4	7,5	34,2
Média	453	485	42,0	199	9,0	5,5	25,0
Mediana	454	481	42,5	208	9,2	5,4	24,1
Desvio Padrão	14	34	4,1	47	2,1	1,1	4,9
% Conforme	100,0	*	*	*	*	*	*

Apêndice 2. Perfil do ST processado na CSXIII na fase I do estudo.

Nº Bolsa	ST (mL) coletado	ST (mL) anticoagulado	HT Doador (%)	Plaq. Doador x 10 ³ /ul	Plaq. ST x 10 ¹⁰ /U	Leuc. Doador x 10 ³ /ul	Leuc. ST x 10 ⁸ /U
B344717026756	436	499	38,2	264	11,5	5,2	22,7
B344717026757	461	524	40,7	273	12,6	6,9	31,8
B344717026758	453	516	45,0	251	11,4	5,5	24,9
B344717026759	453	516	45,3	174	7,9	5,2	23,6
B344717026763	450	513	48,2	266	12,0	7,6	34,2
B344717026767	456	519	45,2	175	8,0	5,9	26,9
B344717027806	454	517	47,0	301	13,7	4,5	20,4
B344717027807	456	519	46,8	261	11,9	6,5	29,6
B344717027809	462	525	43,3	244	11,3	3,8	17,6
B344717027812	473	536	43,9	181	8,6	6,9	32,6
B344717027814	457	520	47,9	246	11,2	4,6	21,0
B344717027493	453	516	38,7	301	13,6	5,9	26,7
Média	455	518	44,2	245	11,1	5,7	26,0
Mediana	455	518	45,1	256	11,4	5,7	25,8
Desvio Padrão	9	9	3,4	45	2,0	1,1	5,3
% Conforme	100,0	*	*	*	*	*	*

Apêndice 3. Perfil do ST processado na centrífuga CSXVI na fase I do estudo

Nº Bolsa	ST (mL) coletado	ST (mL) anticoagulado	HT Doador (%)	Plaq. Doador x 10 ³ /ul	Plaq. ST x 10 ¹⁰ /U	Leuc. Doador x 10 ³ /ul	Leuc. ST x 10 ⁸ /U
B344717026936	452	515	49,3	229	10,4	7,1	32,1
B344717026037	462	525	39,7	259	12,0	6,9	31,8
B344717026938	465	528	45,0	222	10,3	4,3	20,0
B344717026939	448	511	48,8	275	12,3	8,1	36,3
B344717026940	447	510	50,6	265	11,9	6,1	27,3
B344717026942	451	514	46,8	289	13,0	6,8	30,7
B344717028581	458	521	44,4	208	9,5	8,3	38,0
B344717028584	432	495	48,1	210	9,1	6,5	28,1
B344717028585	466	529	40,7	258	12,0	5,3	24,7
B344717028591	465	528	47,3	233	10,8	5,8	27,0
B344717028592	467	530	45,7	272	12,7	6,8	31,8
B344717028593	458	521	50,3	219	10,0	8,4	38,5
Média	456	519	46,4	245	11,2	6,7	30,5
Mediana	458	521	47,1	246	11,3	6,8	31,2
Desvio Padrão	10	10	3,5	28	1,3	1,2	5,5
% Conforme	100,0	*	*	*	*	*	*

Apêndice 4. Perfil do ST processado na centrífuga CSXXV na fase I do estudo

Nº Bolsa	ST (mL) coletado	ST (mL) anticoagulado	HT Doador (%)	Plaq. Doador x 10 ³ /ul	Plaq. ST x 10 ¹⁰ /U	Leuc. Doador x 10 ³ /ul	Leuc. ST x 10 ⁸ /U
B344717026982	448	511	43,0	255	11,4	6,2	27,8
B344717026983	462	525	49,2	190	8,8	6,0	27,7
B344717026984	457	520	52,7	262	12,0	7,3	33,3
B344717026992	465	528	40,8	281	13,1	8,1	37,7
B344717026993	457	520	46,6	173	7,9	4,5	20,6
B344717026997	462	525	48,2	170	7,8	5,8	26,8
B344717027700	458	521	46,2	274	12,5	7,1	32,5
B344717027693	463	526	47,6	218	10,1	7,2	33,4
B344717027694	452	515	46,2	294	13,3	8,6	38,9
B344717027696	456	519	44,4	217	9,9	4,8	21,9
B344717027697	450	513	42,5	283	12,7	6,5	29,3
B344717027699	461	524	47,2	212	9,8	4,9	22,6
Média	458	521	46,2	236	10,8	6,4	29,4
Mediana	457	520	46,4	237	10,8	6,4	28,5
Desvio Padrão	5	5	3,2	44	2,0	1,3	6,0
% Conforme	100,0	*	*	*	*	*	*

Apêndice 5. Perfil do PFC processado na centrífuga CSX na fase I do estudo.

Nº Bolsa	Volume (mL)	Leucócitos		Hemácias x10 ⁶ /mL	Plaquetas	
		x10 ⁵ /mL	Residual %		x10 ⁶ /mL	Residual %
B344717025860	197	0,29	0,177	0,09	4,5	1,0
B344717025872	190	0,07	0,050	0,06	14,8	2,9
B344717025859	224	0,06	0,063	0,03	23,0	6,1
B344717025865	218	0,03	0,026	0,27	15,5	2,9
B344717025869	207	0,01	0,005	0,04	4,0	1,7
B344717025870	265	0,11	0,080	0,11	9,0	1,9
B344717025613	211	0,03	0,021	0,12	18,3	4,5
B344717025611	233	0,15	0,166	0,25	4,3	1,3
B344717025610	216	0,03	0,024	0,12	15,8	3,2
B344717025612	219	0,06	0,063	0,32	20,0	4,5
B344717025615	220	0,02	0,016	0,01	10,5	2,3
B344717025614	207	0,01	0,008	0,08	13,0	2,2
Média	217	0,07	0,06	0,13	12,7	2,9
Mediana	217	0,04	0,04	0,10	13,9	2,6
Desvio Padrão	19	0,08	0,06	0,10	6,4	1,5
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	100,0	*

Apêndice 6. Perfil do PFC processado na centrífuga CSXIII na fase I do estudo.

Nº Bolsa	Volume (mL)	Leucócitos		Hemácias x10 ⁶ /ml	Plaquetas	
		x10 ⁵ /ml	Residual %		x10 ⁶ /ml	Residual %
B344717026756	235	0,06	0,062	0,08	19,5	4,0
B344717026757	236	0,02	0,015	0,05	19,5	3,7
B344717026758	215	0,05	0,046	0,08	23,8	4,5
B344717026759	209	0,05	0,047	0,04	27,5	7,3
B344717026763	204	0,02	0,012	0,04	19,3	3,3
B344717026767	222	0,03	0,022	0,14	22,3	6,2
B344717027806	219	0,04	0,043	0,40	15,0	2,4
B344717027807	218	0,01	0,010	0,02	18,8	3,4
B344717027809	239	0,05	0,073	0,08	15,0	3,2
B344717027812	233	0,03	0,019	0,03	15,0	4,1
B344717027814	210	0,04	0,040	0,13	12,8	2,4
B344717027493	248	0,03	0,031	0,19	10,5	1,9
Média	224	0,04	0,035	0,11	18,2	3,9
Mediana	220	0,04	0,035	0,08	19,0	3,5
Desvio Padrão	14	0,02	0,020	0,11	4,8	1,6
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	100,0	*

Apêndice 7. Perfil do PFC processado na centrífuga CSXVI na fase I do estudo.

Nº Bolsa	Volume (mL)	Leucócitos		Hemácias		Plaquetas	
		$\times 10^5/\text{mL}$	Residual %	$\times 10^6/\text{mL}$	$\times 10^6/\text{mL}$	Residual %	
B344717026936	200	0,06	0,037	0,03	16,0	3,1	
B344717026037	248	0,30	0,234	2,22	10,8	2,2	
B344717026938	216	0,05	0,050	0,07	15,8	3,3	
B344717026939	200	0,07	0,040	0,53	15,5	2,5	
B344717026940	175	0,04	0,026	0,03	13,8	2,0	
B344717026942	219	0,01	0,010	2,18	10,3	1,7	
B344717028581	222	0,02	0,012	0,02	12,5	2,9	
B344717028584	188	0,02	0,013	0,05	9,8	2,0	
B344717028585	247	0,01	0,007	0,04	16,8	3,4	
B344717028591	210	0,09	0,067	0,12	18,5	3,6	
B344717028592	218	0,03	0,018	0,02	24,0	4,1	
B344717028593	192	0,01	0,007	0,35	16,0	3,1	
Média	211	0,06	0,043	0,47	15,0	2,8	
Mediana	213	0,03	0,022	0,06	15,6	3,0	
Desvio Padrão	22	0,08	0,063	0,82	4,0	0,7	
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	100,0	*	

Apêndice 8. Perfil do PFC processado na centrífuga CSXXV na fase I do estudo.

Nº Bolsa	Volume (mL)	Leucócitos		Hemácias		Plaquetas	
		$\times 10^5/\text{mL}$	Residual %	$\times 10^6/\text{mL}$	$\times 10^6/\text{mL}$	Residual %	
B344717026982	229	0,07	0,055	0,08	16,0	3,2	
B344717026983	204	0,10	0,074	0,21	14,0	3,3	
B344717026984	187	0,03	0,019	0,03	15,8	2,5	
B344717026992	244	0,01	0,009	0,09	13,5	2,5	
B344717026993	208	0,07	0,074	0,05	14,8	3,9	
B344717026997	212	0,03	0,021	0,06	16,0	4,3	
B344717027700	216	0,04	0,027	0,06	16,0	2,8	
B344717027693	211	0,02	0,013	0,01	15,8	3,3	
B344717027694	218	0,03	0,015	0,01	15,8	2,6	
B344717027696	221	0,03	0,034	0,17	15,3	3,4	
B344717027697	234	0,02	0,016	0,04	17,5	3,2	
B344717027699	217	0,03	0,032	0,06	24,5	5,4	
Média	217	0,04	0,032	0,07	16,2	3,4	
Mediana	216	0,03	0,024	0,06	15,8	3,2	
Desvio Padrão	15	0,03	0,023	0,06	2,8	0,9	
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	100,0	*	

Apêndice 9. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSX na fase I do estudo.

No Doação	Vol. (mL)	Leucócito x 10 ⁹ /U	Leucócito Residual (%)	HT %	Hb (g/U)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U
B344717025860	284	0,45	13,9	58,2	57,1	0,03
B344717025872	302	0,54	19,6	58,5	58,9	0,03
B344717025859	294	0,21	9,7	59,0	59,2	0,03
B344717025865	279	0,73	32,8	56,5	51,4	0,14
B344717025869	291	0,44	17,0	57,3	55,8	0,09
B344717025870	262	1,13	32,0	52,8	45,9	0,13
B344717025613	288	0,46	16,9	53,4	51,8	0,06
B344717025611	282	0,51	24,6	56,1	53,0	0,03
B344717025610	285	0,28	11,9	57,1	54,1	0,11
B344717025612	272	0,71	34,0	53,2	46,7	0,11
B344717025615	284	0,28	10,0	59,5	56,2	0,03
B344717025614	297	0,89	26,1	56,7	56,5	0,15
Média	285	0,55	20,7	56,5	53,9	0,08
Mediana	284	0,48	18,3	56,9	55,0	0,07
Desvio Padrão	11	0,27	9,0	2,3	4,3	0,05
% Conforme	*	100,0	*	100,0	100,0	*

Apêndice 10. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSXIII na fase I do estudo

No Doação	Vol. (mL)	Leucócito x 10 ⁹ /U	Leucócito Residual (%)	HT %	Hb (g/U)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U
B344717026756	256	0,82	36,1	51,5	43,0	0,18
B344717026757	272	1,33	41,9	54,5	47,5	0,08
B344717026758	283	0,40	15,9	57,0	53,8	0,11
B344717026759	296	0,53	22,6	59,5	57,2	0,09
B344717026763	290	0,55	16,1	58,9	55,6	0,03
B344717026767	285	0,57	21,2	57,8	54,4	0,09
B344717027806	285	0,66	32,1	57,5	53,8	0,17
B344717027807	282	0,48	16,2	58,7	54,4	0,17
B344717027809	275	0,47	26,6	54,9	49,1	0,38
B344717027812	284	1,14	34,8	57,3	53,1	0,11
B344717027814	288	0,14	6,8	59,1	57,5	0,12
B344717027493	254	0,86	32,3	52,0	42,8	0,10
Média	279	0,66	25,2	56,6	51,9	0,14
Mediana	283	0,56	24,6	57,4	53,8	0,11
Desvio Padrão	13	0,33	10,4	2,7	5,1	0,09
% Conforme	*	91,7	*	100,0	100,0	*

Apêndice 11. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSXVI na fase I do estudo.

No Doação	Vol. (mL)	Leucócito x 10 ⁹ /U	Leucócito Residual (%)	HT %	Hb (g/U)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U
B344717026936	304	0,30	9,5	59,7	60,8	0,18
B344717026037	262	1,13	35,4	54,4	45,9	0,10
B344717026938	298	0,42	20,9	56,2	55,7	0,18
B344717026939	295	0,59	16,3	60,0	57,6	0,18
B344717026940	321	0,99	36,4	59,9	62,5	0,13
B344717026942	290	0,17	5,7	59,0	57,6	0,14
B344717028581	283	1,02	26,8	57,7	52,6	0,25
B344717028584	291	0,76	26,9	57,0	53,5	0,06
B344717028585	266	0,45	18,3	54,7	47,9	0,03
B344717028591	295	0,30	10,9	58,5	57,0	0,21
B344717028592	296	0,74	23,3	55,3	54,8	0,09
B344717028593	308	0,98	25,6	58,8	59,0	0,03
Média	292	0,65	21,3	57,6	55,4	0,13
Mediana	295	0,67	22,1	58,1	56,4	0,14
Desvio Padrão	16	0,33	9,7	2,0	4,9	0,07
% Conforme	*	100,0	*	100,0	100,0	*

Apêndice 12. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSXXV na fase I do estudo

No Doação	Vol. (mL)	Leucócito x 10 ⁹ /U	Leucócito Residual (%)	HT %	Hb (g/U)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U
B344717026982	250	0,40	14,4	53,1	43,5	0,23
B344717026983	288	0,43	15,6	57,9	54,1	0,06
B344717026984	307	0,43	12,9	59,1	60,7	0,06
B344717026992	264	1,51	39,9	54,0	44,9	0,24
B344717026993	280	0,48	23,2	55,8	51,3	0,03
B344717026997	283	0,20	7,4	57,8	54,6	0,20
B344717027700	285	0,31	9,6	59,4	55,6	0,06
B344717027693	298	0,72	21,4	59,0	58,7	0,06
B344717027694	275	1,18	30,4	56,3	50,2	0,14
B344717027696	277	0,64	29,2	56,5	51,6	0,19
B344717027697	264	0,87	29,8	51,4	44,4	0,08
B344717027699	294	0,53	23,5	57,9	55,6	0,06
Média	280	0,64	21,4	56,5	52,1	0,12
Mediana	282	0,50	22,3	57,2	52,8	0,07
desvio padrão	16	0,38	9,8	2,5	5,6	0,08
% Conforme	*	91,7	*	100,0	100,0	*

Apêndice 13. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSX na fase I do estudo.

No Doação	Vol (mL)	Leucócitos x 10 ⁸ /U	Leucócitos Residuais (%)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U	Recup. Plt (%)
B344717025860	53	0,37	1,15	5,7	65,0
B344717025872	57	0,34	1,24	8,4	85,4
B344717025859	57	0,40	1,88	6,1	72,5
B344717025865	58	0,12	0,53	8,8	76,0
B344717025869	47	0,23	0,91	3,5	72,7
B344717025870	53	0,27	0,76	6,9	56,4
B344717025613	52	0,21	0,77	6,1	71,5
B344717025611	55	0,17	0,81	5,6	73,7
B344717025610	58	0,29	1,21	8,1	74,7
B344717025612	58	0,23	1,12	7,1	73,4
B344717025615	58	0,41	1,44	8,0	78,6
B344717025614	56	0,28	0,82	9,5	77,2
Média	55	0,28	1,05	7,0	73,1
Mediana	57	0,27	1,01	7,0	73,6
Desvio Padrão	3	0,09	0,37	1,7	7,1
% Conforme	100,0	100,0	*	91,7	*

Apêndice 14. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSXIII na fase I do estudo.

No Doação	Vol (mL)	Leucócitos x 10 ⁸ /U	Leucócitos Residuais (%)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U	Recup. Plt (%)
B344717026756	52	0,16	0,69	6,6	57,4
B344717026757	56	0,17	0,53	8,2	65,5
B344717026758	54	0,22	0,87	7,8	68,5
B344717026759	53	0,21	0,91	5,7	72,0
B344717026763	56	0,28	0,82	8,6	72,1
B344717026767	53	0,21	0,79	5,5	68,9
B344717027806	56	0,17	0,83	9,6	70,6
B344717027807	55	0,28	0,93	9,0	75,9
B344717027809	60	0,36	2,06	6,9	61,1
B344717027812	57	0,40	1,23	5,8	67,6
B344717027814	57	0,17	0,82	7,9	69,9
B344717027493	52	0,26	0,98	9,3	68,4
Média	55	0,24	0,96	7,6	68,2
Mediana	56	0,22	0,85	7,8	68,7
Desvio Padrão	2	0,08	0,38	1,5	5,0
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	*

Apêndice 15. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSXVI na fase I do estudo.

No Doação	Vol (mL)	Leucócitos x 10 ⁸ /U	Leucócitos Residuais (%)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U	Recup. Plt (%)
B344717026936	60	0,30	0,94	7,4	71,8
B344717026037	55	0,33	1,04	5,8	48,1
B344717026938	57	0,23	1,15	6,8	65,4
B344717026939	55	0,33	0,91	8,5	69,2
B344717026940	60	0,30	1,10	8,5	72,0
B344717026942	55	0,22	0,72	6,9	53,2
B344717028581	61	0,31	0,80	7,5	78,9
B344717028584	57	0,23	0,82	6,5	72,0
B344717028585	62	0,31	1,26	8,8	73,0
B344717028591	63	0,32	1,17	8,9	82,4
B344717028592	64	0,38	1,21	10,0	78,6
B344717028593	57	0,23	0,60	7,8	77,9
Média	59	0,29	0,98	7,8	70,2
Mediana	59	0,30	0,99	7,7	72,0
Desvio Padrão	3	0,05	0,21	1,2	10,3
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	*

Apêndice 16. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSXXV na fase I do estudo.

No Doação	Vol (mL)	Leucócitos x 10 ⁸ /U	Leucócitos Residuais (%)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U	Recup. Plt (%)
B344717026982	48	0,24	0,86	7,6	66,1
B344717026983	47	0,19	0,67	6,1	70,0
B344717026984	52	0,26	0,79	9,6	79,9
B344717026992	56	0,34	0,90	9,9	75,4
B344717026993	54	0,22	1,06	5,9	74,3
B344717026997	50	0,20	0,74	5,6	71,3
B344717027700	54	0,27	0,84	7,6	60,5
B344717027693	52	0,26	0,79	6,2	61,7
B344717027694	57	0,46	1,18	10,2	76,5
B344717027696	53	0,16	0,73	6,6	66,8
B344717027697	55	0,28	0,95	8,3	64,9
B344717027699	54	0,22	0,96	7,6	77,3
Média	53	0,26	0,87	7,6	70,4
Mediana	54	0,25	0,85	7,6	70,6
Desvio Pdrão	3	0,08	0,15	1,6	6,4
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	*

Apêndice 17. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSX na fase II do estudo

No Doação	Vol. (mL)	Leucócito x 10 ⁹ /U	HT %	Hb total (g/dL)	Hb (g/U)	ACE x 10 ⁶ Aceleração	ACE x 10 ⁷ Platô	ACE x 10 ⁷ Fim do ciclo
B344717032621	282	0,68	59,2	19,3	54,4	5,79	8,44	8,77
B344817015935	269	0,83	55,2	17,7	47,6	5,79	8,44	8,77
B345117004722	305	0,15	60,9	21,5	65,5	5,63	8,41	8,75
B344817016441	299	0,75	59,8	20,1	60,1	5,63	8,41	8,75
B344817016446	243	0,68	49,9	16,3	40,9	5,76	8,43	8,76
B344717033265	280	0,48	57,6	19,2	53,8	5,96	8,45	8,77
B344717033916	275	0,60	55,1	19,0	52,2	5,96	8,45	8,77
B345117004821	292	0,53	54,7	18,6	54,4	5,94	8,46	8,79
B345117004823	238	0,36	51,4	17,9	42,6	5,94	8,46	8,79
B344817016533	255	0,69	53,7	17,9	45,6	5,69	8,70	8,70
B344817016540	281	1,18	56,4	19,0	53,4	5,69	8,70	8,70
B345117004877	273	1,42	53,5	18,2	49,6	6,03	8,40	8,73
B344717035051	291	0,46	58,4	20,0	58,1	6,03	8,40	8,73
B345117004879	266	0,67	53,8	18,7	49,7	6,03	8,60	8,68
B344817016874	247	0,79	51,7	17,5	43,3	6,03	8,60	8,68
B344717041120	272	0,33	59,6	20,6	55,9	5,63	8,42	8,75
Média	273	0,66	55,7	18,8	51,7	5,85	8,49	8,74
Mediana	274	0,67	55,2	18,9	52,8	5,87	8,45	8,75
Desvio Padrão	20	0,31	3,3	1,3	6,7	0,16	0,10	0,04
% Conforme	*	93,8	93,8	*	87,5	*	*	*

Apêndice 18. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSXIII na fase II do estudo.

No Doação	Vol. (mL)	Leucócito x 10 ⁹ /U	HT %	Hb total (g/dL)	Hb (g/U)	ACE x 10 ⁶ Aceleração	ACE x 10 ⁷ Platô	ACE x 10 ⁷ Fim do ciclo
B344817015742	272	0,76	55,9	18,2	49,4	5,78	8,45	8,77
B344717032607	246	0,37	51,6	17,3	42,6	5,78	8,45	8,77
B344717032610	265	0,80	55,6	18,1	48,0	5,73	8,45	8,76
B345117004583	267	1,23	54,2	17,3	46,2	5,73	8,45	8,76
B344717034425	277	0,61	55,7	19,2	53,3	5,84	8,45	8,77
B344717034423	237	1,63	47,0	15,7	37,2	6,12	8,44	8,75
B344717033266	258	0,26	54,8	18,6	47,9	5,80	8,40	8,71
B344717033256	266	0,93	53,4	18,1	48,2	5,80	8,40	8,71
B345117004827	253	0,28	53,3	18,8	47,5	5,62	8,47	8,78
B345217011670	255	0,87	52,9	17,9	45,6	5,62	8,47	8,78
B344817016890	277	0,31	56,7	19,8	54,9	5,98	8,44	8,76
B344817016893	262	0,84	52,8	18,0	47,2	5,98	8,44	8,76
B344717035609	273	0,57	53,6	18,3	49,9	5,83	8,47	8,77
B344717035032	275	0,25	56,0	20,0	55,0	5,83	8,47	8,77
B344817020210	295	0,18	60,1	20,6	60,9	6,06	8,36	8,68
B344817020215	263	0,45	56,2	19,3	50,8	6,06	8,36	8,68
Média	265	0,64	54,4	18,5	49,0	5,85	8,44	8,75
Mediana	266	0,59	54,5	18,3	48,1	5,82	8,45	8,76
Desvio Padrão	14	0,40	2,8	1,2	5,4	0,15	0,04	0,03
% Conforme	*	87,5	93,8	*	87,5	*	*	*

Apêndice 19. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSXVI na fase II do estudo.

No Doação	Vol. (mL)	Leucócito x 10 ⁹ /U	HT %	Hb total (g/dL)	Hb (g/U)	ACE x 10 ⁶ Aceleração	ACE x 10 ⁷ Platô	ACE x 10 ⁷ Fim do ciclo
B344717032617	247	0,87	51,4	17,1	42,3	5,86	8,50	8,75
B344817015737	300	0,21	61,4	20,2	60,6	5,67	8,48	8,79
B344817015743	296	0,15	62,7	20,9	61,9	5,67	8,48	8,79
B344717033633	267	0,19	55,8	19,6	52,3	5,64	8,46	8,77
B344717033632	282	0,23	57,6	20,0	56,4	5,64	8,46	8,77
B344817016544	272	0,16	56,3	19,7	53,5	5,81	8,47	8,78
B344717033260	285	0,74	58,5	20,2	57,6	5,81	8,47	8,78
B345217011690	301	0,63	59,0	20,1	60,5	5,73	8,47	8,78
B345217011699	262	0,50	55,0	18,8	49,3	5,73	8,47	8,78
B345117004883	230	0,37	47,8	16,7	38,4	5,75	8,46	8,77
B344817016875	258	1,03	52,2	17,4	44,8	5,75	8,46	8,77
B344717035033	270	0,08	56,5	20,1	54,2	5,94	8,48	8,79
B344817016899	263	1,26	53,9	18,3	48,2	5,94	8,48	8,79
B345217013742	276	0,36	58,7	20,3	56,1	5,89	8,46	8,77
B344817020291	269	0,24	57,4	19,4	52,1	5,89	8,46	8,77
B344817020270	291	0,61	58,9	20,2	58,7	5,72	8,44	8,75
Média	273	0,48	56,4	19	52,9	5,78	8,47	8,78
Mediana	271	0,36	57,0	19,9	53,9	5,75	8,47	8,78
Desvio Padrão	19	0,35	3,8	1,3	6,8	0,10	0,01	0,01
% Conforme	*	93,8	93,8	*	87,5	*	*	*

Apêndice 20. Perfil do PFC processado nas centrífugas CSX, CSXIII e SCXXV na fase II do estudo.

Centrífuga X		Centrífuga XIII		Centrífuga XVI	
No Doação	PFC Vol. (mL)	No Doação	PFC Vol. (mL)	No Doação	PFC Vol. (mL)
B344717032621	196	B344817015742	223	B344717032617	250
B344817015935	238	B344717032607	266	B344817015737	185
B345117004722	205	B344717032610	279	B344817015743	190
B344817016441	207	B345117004583	250	B344717033633	252
B344817016446	257	B344717034425	210	B344717033632	210
B344717033265	230	B344717034423	267	B344817016544	213
B344717033916	206	B344717033266	223	B344717033260	198
B345117004821	206	B344717033256	237	B345217011690	192
B345117004823	250	B345117004827	228	B345217011699	235
B344817016533	277	B345217011670	238	B345117004883	250
B344817016540	214	B344817016890	225	B344817016875	253
B345117004877	230	B344817016893	252	B344717035033	214
B344717035051	224	B344717035609	236	B344817016899	235
B345117004879	238	B344717035032	222	B345217013742	225
B344817016874	244	B344817020210	204	B344817020291	225
B344717041120	225	B344817020215	236	B344817020270	202
Média	228		237		221
Mediana	228		236		220
Desvio Padrão	22		21		24
% Conforme	100,0		100,0		100,0

Apêndice 21. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSX na fase II do estudo.

No Doação	Vol mL	Leucócitos $\times 10^8/U$	Plaquetas $\times 10^{10}/U$
B344817015743	56	0,17	5,6
B345117004587	56	0,23	8,3
B344817015921	57	0,23	7,4
B344717032618	63	0,44	8,5
B344817015728	54	0,16	6,3
B344817015847	55	0,11	6,4
B345117004615	55	0,17	7,1
B344717016148	57	0,20	5,6
B344817016145	49	0,22	4,7
B345117004715	59	0,18	7,2
B344717034403	56	0,51	8,9
B344717034416	59	0,12	7,6
B344717034412	56	0,45	13,1
B344717035057	53	0,11	9,5
B344717035056	50	0,20	10,6
B345217013643	61	0,18	10,8
B344817020123	50	0,45	6,2
B345117005748	54	0,11	9,2
Média	56	0,24	7,9
Mediana	56	0,19	7,5
Desvio padrão	4	0,13	2,2
% Conforme	100,0	94,4	94,4

Apêndice 22. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSXIII na fase II do estudo.

No Doação	Vol mL	Leucócitos $\times 10^8/U$	Plaquetas $\times 10^{10}/U$
B344717032919	56	0,34	8,7
B344817015723	59	0,12	10,6
B344717034675	52	0,10	6,0
B345217011322	54	0,11	8,5
B345217011317	62	0,37	11,3
B345217011327	57	0,23	10,1
B344717034532	59	0,18	10,3
B344717034531	63	0,19	5,5
B344717034534	60	0,24	7,7
B344717034537	48	0,19	11,5
B345117004711	58	0,17	7,2
B345117004714	59	0,18	4,6
B344717033811	61	0,24	6,6
B345117004722	57	0,29	5,8
B344717034415	45	0,13	9,9
B345117004729	50	0,74	6,2
B345117005749	55	0,17	11,0
B344717037965	58	0,23	14,4
Média	56	0,23	8,7
Mediana	58	0,19	8,6
Desvio padrão	5	0,15	2,6
% Conforme	100,0	94,4	94,4

Apêndice 23. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSXVI na fase II do estudo.

No Doação	Vol mL	Leucócitos x 10 ⁸ /U	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U
B344717032608	55	0,11	4,9
B344717032609	49	0,10	4,9
B344817015731	51	0,36	11,7
B344917004953	49	0,17	5,9
B344717033113	59	0,24	7,4
B345217011324	54	0,43	6,5
B344717033647	63	0,25	12,0
B344717034535	50	0,10	6,4
B344817017013	55	0,17	11,4
B344717035066	52	0,10	5,2
B344717035068	54	0,11	7,0
B345217011838	55	0,22	7,5
B344817016840	46	0,18	6,0
B344717035069	59	0,18	6,8
B344717035043	59	0,12	6,6
B344717035052	61	0,12	7,9
B344717035604	62	0,19	10,9
B344717035030	50	0,10	6,9
Média	55	0,18	7,5
Mediana	55	0,17	6,8
Desvio padrão	5	0,09	2,3
% Conforme	100,0	100,0	83,3

Apêndice 24. Perfil do ST processado na centrífuga CSX na fase III do estudo.

Nº Bolsa	ST (mL) coletado	ST (mL) anticoagulado	Ht doador (%)	Plaq. Doador x 10 ³ /ul	Plaq. ST x 10 ¹⁰ /U	Leuc. Doador x 10 ³ /ul	Leuc. ST x 10 ⁹ /U
B344718007661	459	522	44,9	237	10,9	4,8	22,0
B344718007574	465	528	43,9	296	13,8	5,4	25,1
B344718006187	456	519	46,3	211	9,6	5,9	26,9
B344718006189	450	513	45,0	324	14,6	8,7	39,2
B344718006191	452	515	41,9	347	15,7	7,6	34,4
B344718006198	486	549	45,5	241	11,7	5,9	28,7
B344718007849	457	520	41,7	249	11,4	7,1	32,4
B344718006578	453	516	50,2	191	8,7	6,1	27,6
B344718006579	453	516	45,2	285	12,9	7,0	31,7
B344718006580	458	521	43,4	159	7,3	5,1	23,3
B344718006587	470	533	41,7	211	9,9	4,2	19,7
B344718006589	472	535	44,1	201	9,5	4,5	21,2
B344718012104	483	546	47,5	258	12,5	7,1	34,3
B344718013115	447	510	46,2	321	14,4	6,9	30,9
B344718013119	432	495	45,1	268	11,6	5,6	24,2
B344718013120	446	509	44,4	280	12,5	6,9	30,8
B344718013124	457	520	38,2	239	10,9	6,1	27,9
B344718013126	464	527	46,7	257	11,9	5,4	25,1
Média	459	522	44,6	254	11,6	6,1	28,1
Mediana	457	520	45,0	253	11,6	6,0	27,7
Desvio Padrão	13	13	2,6	50	2,2	1,2	5,2
% Conforme	100,0	*	*	*	*	*	*

Apêndice 25. Perfil do ST processado na centrífuga CSXIII na fase III do estudo

Nº Bolsa	ST (mL) coletado	ST (mL) anticoagulado	Ht doador (%)	Plaq. Doador x 10 ³ /ul	Plaq. ST x 10 ¹⁰ /U	Leuc. Doador x 10 ³ /ul	Leuc. ST x 10 ⁸ /U
B344718007468	457	520	42,9	224	10,2	6,5	29,7
B344718007471	440	503	38,1	169	7,4	3,2	14,1
B344718007473	449	512	44,8	216	9,7	3,8	17,1
B344718007476	465	528	47,0	234	10,9	5,9	27,5
B344718007478	459	522	46,4	260	11,9	5,1	23,4
B344718006193	443	506	44,5	251	11,1	7,2	31,9
B344818001351	462	525	44,3	277	12,8	7,4	34,2
B344818001352	454	517	39,0	203	9,2	4,4	20,0
B344818001353	451	514	45,0	211	9,5	9,5	42,9
B344818002772	454	517	48,2	248	11,3	7,6	34,5
B344818002773	469	532	37,1	204	9,6	6,6	31,0
B344818002778	450	513	39,3	281	12,6	4,9	22,1
B344718013505	456	519	48,4	241	11,0	5,6	25,5
B344718013507	457	520	45,0	186	8,5	4,6	21,0
B344718013492	448	511	44,7	285	12,8	9,4	42,1
B344718013498	452	515	39,2	344	15,6	7,7	34,8
B344718013100	457	520	47,2	210	9,6	6,6	30,1
B344718013102	453	516	49,3	239	10,8	5,6	25,4
Média	454	517	43,9	238	10,8	6,2	28,2
Mediana	454	517	44,8	237	10,9	6,2	28,6
Desvio Padrão	7	7	3,8	42	1,9	1,8	8,0
% Conforme	100,0		*	*	*	*	*

Apêndice 26. Perfil do ST processado na centrífuga CSXVI na fase III do estudo

Nº Bolsa	ST (mL) coletado	ST (mL) anticoagulado	Ht doador (%)	Plaq. Doador x 10 ³ /ul	Plaq. ST x 10 ¹⁰ /U	Leuc. Doador x 10 ³ /ul	Leuc. ST x 10 ⁸ /U
B344718008015	451	514	47,2	264	11,9	5,1	23,0
B344718008019	470	533	43,7	229	10,8	4,2	19,7
B344718007359	448	511	46,5	253	11,3	7,3	32,7
B344718007972	451	514	50,5	185	8,3	4,9	22,1
B344718007975	463	526	44,2	200	9,3	4,9	22,7
B344718007977	440	503	43,3	267	11,7	6,1	26,8
B344718007140	460	523	46,7	176	8,1	4,1	18,8
B344718007141	450	513	43,3	355	16,0	5,9	26,6
B344718007144	461	524	48,9	237	10,9	7,5	34,5
B344718007147	461	524	43,1	258	11,9	5,1	23,5
B344718007158	454	517	48,7	305	13,8	7,3	33,1
B344718007159	466	529	46,1	185	8,6	4,5	21,0
B344718012403	456	519	41,0	271	12,4	6,9	31,5
B344718012410	484	547	47,3	258	12,5	6,3	30,5
B344718012723	448	511	42,3	162	7,3	6,6	29,6
B344718012373	481	544	44,6	183	8,8	6,3	30,3
B344718012383	471	534	46,2	211	9,9	7,5	35,3
B344718012385	463	526	44,0	331	15,3	6,3	29,2
Média	460	523	45,4	241	11,0	5,9	27,3
Mediana	460	523	45,4	245	11,1	6,2	28,0
Desvio Padrão	12	12	2,5	55	2,5	1,1	5,3
% Conforme	100,0	*	*	*	*	*	*

Apêndice 27. Perfil do PFC processado na centrífuga CSX na fase III do estudo.

Nº comp.	Volume mL	Leucócitos		Hemácias x10 ⁶ /mL	Plaquetas	
		x10 ⁵ /mL	Residual %		x10 ⁶ /mL	Residual %
B344718007661	222	0,07	0,067	0,22	15,5	3,2
B344718007574	231	0,95	0,872	1,71	34,5	5,8
B344718006187	204	0,03	0,020	0,04	22,3	4,7
B344718006189	213	0,25	0,138	3,90	24,3	3,5
B344718006191	238	0,26	0,180	0,40	21,3	3,2
B344718006198	230	0,11	0,091	0,12	18,5	3,6
B344718007849	233	0,19	0,134	0,21	13,0	2,7
B344718006578	190	0,23	0,161	1,53	13,3	2,9
B344718006579	212	0,15	0,102	0,61	20,8	3,4
B344718006580	224	0,09	0,083	0,17	10,8	3,3
B344718006587	244	0,06	0,074	0,04	12,8	3,1
B344718006589	221	0,09	0,090	0,19	18,5	4,3
B344718012104	224	0,03	0,017	0,51	17,0	3,0
B344718013115	214	0,11	0,074	0,46	27,3	4,1
B344718013119	221	0,12	0,109	0,70	22,0	4,2
B344718013120	218	0,11	0,080	0,13	22,8	4,0
B344718013124	257	0,09	0,086	0,94	10,0	2,4
B344718013126	224	0,05	0,048	0,07	11,8	2,2
Média	223	0,17	0,13	0,66	18,67	3,53
Mediana	223	0,11	0,09	0,31	18,50	3,35
Desvio Padrão	15	0,21	0,19	0,94	6,43	0,87
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	100,0	*

Apêndice 28. Perfil do PFC processado na centrífuga CSXIII na fase III do estudo.

Nº comp.	Volume mL	Leucócitos		Hemácias x10 ⁶ /mL	Plaquetas	
		x10 ⁵ /mL	Residual %		x10 ⁶ /mL	Residual %
B344718007468	227	0,01	0,010	0,08	15,0	3,3
B344718007471	240	0,15	0,250	0,38	17,8	5,7
B344718007473	215	0,03	0,042	0,07	17,5	3,9
B344718007476	211	0,05	0,036	0,09	17,8	3,4
B344718007478	200	0,05	0,040	0,14	18,5	3,1
B344718006193	197	0,06	0,037	0,64	21,8	3,9
B344818001351	222	0,39	0,255	0,21	15,5	2,7
B344818001352	241	0,02	0,024	0,54	20,8	5,4
B344818001353	218	0,12	0,061	0,17	10,8	2,5
B344818002772	198	0,22	0,126	0,41	13,5	2,4
B344818002773	269	0,01	0,012	0,05	29,3	8,2
B344818002778	237	0,07	0,072	0,08	25,8	4,8
B344718013505	208	0,17	0,141	0,42	23,5	4,4
B344718013507	235	0,25	0,276	0,23	17,3	4,8
B344718013492	210	0,07	0,033	0,31	15,8	2,6
B344718013498	240	0,06	0,041	0,03	31,0	4,8
B344718013100	218	0,01	0,005	0,40	16,0	3,6
B344718013102	207	0,05	0,038	0,09	24,3	4,6
Média	222	0,10	0,08	0,24	19,53	4,12
Mediana	218	0,06	0,04	0,19	17,75	3,87
Desvio Padrão	19	0,10	0,09	0,19	5,44	1,45
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	100,0	*

Apêndice 29. Perfil do PFC processado na centrífuga CSXVI na fase III do estudo.

Nº comp.	Volume mL	Leucócitos		Hemácias x10 ⁶ /mL	Plaquetas	
		x10 ⁵ /mL	Residual %		x10 ⁶ /mL	Residual %
B344718008015	206	0,04	0,036	0,17	19,0	3,3
B344718008019	225	0,03	0,038	0,76	18,3	3,8
B344718007359	205	0,05	0,033	0,29	16,8	3,0
B344718007972	199	0,05	0,048	0,26	20,8	4,9
B344718007975	215	0,09	0,082	0,37	30,3	7,0
B344718007977	224	0,01	0,011	0,08	12,5	2,4
B344718007140	225	0,07	0,088	1,31	25,3	7,0
B344718007141	218	0,05	0,044	0,19	21,3	2,9
B344718007144	190	0,03	0,018	0,36	26,0	4,5
B344718007147	231	0,09	0,092	0,31	36,8	7,2
B344718007158	199	0,01	0,008	0,04	20,0	2,9
B344718007159	226	0,03	0,029	0,27	12,8	3,3
B344718012403	242	0,03	0,021	0,03	17,5	3,4
B344718012410	221	0,07	0,048	0,22	21,5	3,8
B344718012723	229	0,05	0,041	0,88	17,8	5,6
B344718012373	227	0,05	0,035	0,71	14,5	3,8
B244718012383	228	0,03	0,017	0,26	17,5	4,0
B344718012385	230	0,11	0,084	0,19	25,3	3,8
Média	219	0,05	0,04	0,37	20,75	4,26
Mediana	224	0,05	0,04	0,27	19,50	3,79
Desvio Padrão	14	0,03	0,03	0,33	6,15	1,50
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	100,0	*

Apêndice 30. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSX na fase III do estudo.

No Doação	Vol. mL	Leucócito x 10 ⁹ /U	Leucócito Residual (%)	HT %	Hb (g/U)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U
B344718007661	272	0,14	6,2	55,7	53,5	0,11
B344718007574	278	0,31	12,2	55,5	55,9	0,08
B344718006187	301	0,78	29,1	56,2	58,7	0,09
B344718006189	279	0,95	24,2	56,4	54,2	0,03
B344718006191	260	0,99	28,8	52,5	47,6	0,18
B344718006198	300	0,39	13,6	59,0	61,5	0,03
B344718007849	269	0,94	29,0	55,5	51,6	0,05
B344718006578	310	0,34	12,4	60,2	66,1	0,09
B344718006579	292	1,28	40,4	56,7	57,1	0,35
B344718006580	282	0,56	24,2	54,3	52,7	0,08
B344718006587	270	0,40	20,5	55,7	53,2	0,09
B344718006589	293	0,23	11,1	57,4	60,1	0,09
B344718012104	302	1,12	32,5	59,3	61,0	0,27
B344718013115	286	0,31	10,2	58,7	57,2	0,03
B344718013119	257	0,44	18,0	54,2	47,0	0,18
B344718013120	272	1,33	43,2	54,9	49,7	0,14
B344718013124	243	0,46	16,6	52,2	42,6	0,12
B344718013126	288	0,35	13,8	57,5	57,0	0,03
Média	281	0,63	21,4	56,2	54,8	0,11
Mediana	281	0,45	19,3	56,0	55,1	0,09
Desvio Padrão	18	0,38	10,7	2,2	5,8	0,09
% Conforme	*	88,9	*	100,0	100,0	*

Apêndice 31. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSXIII na fase III do estudo.

No Doação	Vol. mL	Leucócito x 10 ⁹ /U	Leucócito Residual (%)	HT %	Hb (g/U)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U
B344718007468	274	0,63	21,2	55,4	52,5	0,03
B344718007471	253	0,33	23,4	51,4	43,5	0,05
B344718007473	287	0,52	30,2	58,0	56,2	0,03
B344718007476	299	0,30	10,9	60,0	62,8	0,09
B344718007478	307	0,49	21,0	57,8	61,0	0,12
B344718006193	282	1,04	32,8	53,4	51,6	0,17
B344718001351	282	1,10	32,1	55,2	51,9	0,03
B344718001352	262	0,58	28,9	53,4	48,5	0,03
B344718001353	286	0,83	19,3	57,1	56,6	0,06
B344718002172	302	0,60	17,5	59,1	62,5	0,09
B344718002773	249	1,05	33,8	50,3	42,3	0,10
B344718002778	266	0,77	35,0	53,6	48,2	0,19
B344718013505	286	0,14	5,6	58,5	58,9	0,09
B344718013507	267	0,19	8,9	56,7	53,4	0,03
B344718013492	281	1,27	30,0	55,0	52,6	0,06
B344718013498	254	0,43	12,4	54,0	45,9	0,03
B344718013100	286	0,83	27,5	58,2	56,3	0,11
B344718013102	296	0,44	17,5	59,0	59,8	0,03
Média	279	0,64	22,7	55,9	53,6	0,07
Mediana	282	0,59	22,3	56,1	53,0	0,06
Desvio Padrão	17	0,33	9,2	2,8	6,2	0,05
% Conforme	*	94,4	*	100,0	94,4	*

Apêndice 32. Perfil do CHPL processado na centrífuga CSXVI na fase III do estudo.

No Doação	Vol. mL	Leucócito x 10 ⁹ /U	Leucócito Residual (%)	HT %	Hb (g/U)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U
B344718008015	265	0,27	11,5	56,5	51,4	0,11
B344718008019	296	0,86	43,5	58,9	58,9	0,15
B344718007359	290	0,67	20,4	59,1	58,2	0,03
B344718007972	288	0,12	5,2	60,5	60,4	0,03
B344718007975	282	0,51	22,4	56,9	55,3	0,11
B344718007977	246	0,47	17,4	54,3	44,8	0,02
B344718007140	286	0,34	18,2	58,4	58,0	0,06
B344718007141	258	0,67	25,3	55,4	47,8	0,05
B344718007144	317	0,48	13,8	61,2	66,9	0,06
B344718007147	273	0,44	18,6	56,2	52,6	0,05
B344718007158	297	0,80	24,2	58,8	60,9	0,03
B344718007159	265	0,32	15,1	56,2	50,6	0,03
B344718012403	263	1,13	36,0	53,5	47,1	0,21
B344718012410	304	0,46	14,9	55,2	62,9	0,06
B344718012723	259	0,42	14,0	59,0	48,8	0,03
B344718012373	299	0,99	32,6	56,3	58,9	0,15
B244718012383	276	0,77	21,9	55,2	52,0	0,11
B344718012385	275	0,72	24,5	61,4	51,2	0,06
Média	280	0,58	21,1	57,4	54,8	0,07
Mediana	279	0,49	19,5	56,7	54,0	0,06
Desvio Padrão	19	0,27	9,2	2,4	6,1	0,05
% Conforme	*	100,0	*	100,0	100,0	*

Apêndice 33. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSX na fase III do estudo.

No Doação	Vol mL	Leucócitos x 10 ⁸ /U	Leucócitos Residuais (%)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U	Recup. Plt (%)
B344718007661	46	0,14	0,62	7,6	70,0
B344718007574	56	0,11	0,45	10,0	72,9
B344718006187	59	0,18	0,66	7,7	79,9
B344718006189	60	0,18	0,46	11,1	75,9
B344718006191	60	0,18	0,53	8,6	54,5
B344718006198	57	0,29	1,00	7,9	67,8
B344718007849	52	0,16	0,48	6,2	54,3
B344718006578	55	0,17	0,60	6,0	69,9
B344718006579	56	0,17	0,53	9,3	72,4
B344718006580	50	0,40	1,73	6,1	83,2
B344718006587	51	0,15	0,78	6,6	66,6
B344718006589	55	0,11	0,52	6,0	63,3
B344718012104	63	0,06	0,18	9,7	77,6
B344718013115	57	0,11	0,37	10,9	76,0
B344718013119	50	0,15	0,61	8,3	72,1
B344718013120	59	0,12	0,38	7,0	55,7
B344718013124	54	0,11	0,39	7,6	69,6
B344718013126	59	0,18	0,71	8,3	69,6
Média	56	0,16	0,61	8,1	69,5
Mediana	56	0,16	0,53	7,8	70,0
Desvio Padrão	4	0,08	0,33	1,6	8,3
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	*

Apêndice 34. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSXIII na fase III do estudo.

No Doação	Vol mL	Leucócitos x 10 ⁸ /U	Leucócitos Residuais (%)	Plaquetas x 10 ¹⁰ /U	Recup. Plt (%)
B344718007468	53	0,16	0,54	8,2	80,4
B344718007471	53	0,11	0,76	6,0	81,2
B344718007473	57	0,23	1,34	7,8	80,2
B344718007476	56	0,11	0,41	8,8	80,8
B344718007478	50	0,10	0,43	7,8	65,6
B344718006193	57	0,17	0,54	9,3	83,5
B344818001351	56	0,17	0,49	8,7	68,0
B344818001352	54	0,11	0,54	5,9	63,5
B344818001353	57	0,29	0,67	7,3	76,6
B344818002772	52	0,16	0,46	6,3	56,2
B344818002773	52	0,16	0,51	7,0	73,5
B344818002778	55	0,11	0,50	7,7	61,1
B344718013505	52	0,10	0,41	7,5	68,7
B344718013507	49	0,10	0,46	5,6	65,7
B344718013492	59	0,18	0,42	10,8	84,9
B344718013498	62	0,19	0,54	13,2	84,8
B344718013100	56	0,17	0,56	7,5	78,5
B344718013102	54	0,11	0,43	7,4	68,4
Média	55	0,15	0,56	7,9	73,4
Mediana	55	0,16	0,50	7,6	75,0
Desvio Padrão	3	0,05	0,22	1,8	8,9
% Conforme	100,0	100,0	*	100,0	*

Apêndice 35. Perfil do CPBCS processado na centrífuga CSXVI na fase III do estudo.

No Doação	Vol mL	Leucócitos $\times 10^8/U$	Leucócitos Residuais (%)	Plaquetas $\times 10^{10}/U$	Recup. Plt (%)
B344718008015	40	0,40	1,73	6,3	53,0
B344718008019	53	0,11	0,54	7,6	70,2
B344718007359	58	0,17	0,53	8,3	73,2
B344718007972	45	0,13	0,61	5,5	66,4
B344718007975	43	0,21	0,94	5,5	59,5
B344718007977	42	0,29	1,09	8,3	70,6
B344718007140	53	0,16	0,84	5,8	72,1
B344718007141	51	0,31	1,15	14,2	88,7
B344718007144	54	0,16	0,47	7,5	68,7
B344718007147	60	0,18	0,77	10,9	91,5
B344718007158	57	0,17	0,52	12,8	92,4
B344718007159	48	0,10	0,46	5,7	65,8
B344718012403	57	0,11	0,36	9,3	70,9
B344718012410	53	0,21	0,70	9,8	78,7
B344718012723	49	0,10	0,33	6,1	81,1
B344718012373	58	0,12	0,38	6,6	75,0
B244718012383	48	0,86	2,42	7,6	76,3
B344718012385	47	0,09	0,32	8,0	55,8
Média	51	0,22	0,79	8,1	72,8
Mediana	52	0,17	0,57	7,6	71,5
Desvio Padrão	6	0,18	0,54	2,5	11,1
% Conforme	100,0	94,4	*	100,0	*