

MARIA CECILIA TEORI HASHIMOTO

**ESTUDO DA PRESERVAÇÃO DE HEMÁCIAS EM DIFERENTES BOLSAS DE
COLETA COM DI-OCTIL-FTALATO E ANTICOAGULANTE CITRATO-
FOSFATO-DEXTROSE-ADENINA.**

Campinas

1997

MARIA CECILLA TEORI HASHIMOTO

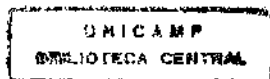
***ESTUDO DA PRESERVAÇÃO DE HEMÁCIAS EM DIFERENTES
BOLSAS DE COLETA COM DI-OCTIL-FTALATO E
ANTICOAGULANTE CITRATO-FOSFATO-DEXTROSE-ADENINA.***

*Dissertação de Mestrado apresentada ao curso de Pós Graduação
em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de
Mestre em Ciências na área de Farmacologia.*

Orientador: Prof. Dra. Sara T.O. Saad

Campinas

1997



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA	
TITULO	
ASSUNTO	
NUMERO	33448
DATA	395/98
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	14/04/98
N.º CDD	

CM-00108707-8

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

H273e

Hashimoto, Maria Cecília Teori

Estudo da preservação de sangue em diferentes bolsas de coleta com di-octil-ftalato e anticoagulante citrato-fosfato-dextrose-adenina / Maria Cecília Teori Hashimoto. Campinas, SP : [s.n.], 1997.

Orientador : Sara Terezinha Olala Saad

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hemoglobina. 2. Polímeros e polimerização. 3. Sangue - Análise e química. I. Sara Terezinha Olala Saad. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.



UNICAMP

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador: PROFA. DRA. SARA TEREZINHA OLALLA SAAD

Membros:

1. PROFA. DRA. SARA TEREZINHA OLALLA SAAD

2. PROF. DR. JOSÉ KERBAY

3. PROF. DR. JOYCE MARIA ANNICHINO-BIZZACCHI

Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 16/12/97

aos meus familiares

À vocês, que compartilharam deste meu ideal me incentivando a prosseguir na jornada, fossem quais fossem os obstáculos. Dedico esta conquista com a mais profunda admiração e gratidão, porque ela lhes pertence, ela é tão de vocês quanto minha.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS, todo poderoso por ter me concedido este momento.

Prof. Dra. Sara Terezinha pela orientação, estímulo e paciência durante este trabalho.

Ao meu amigo Dr. Jordão pelo estímulo em todos estes anos, e colaboração na avaliação desta tese.

Ao Dr. Armando Valladas pela grande colaboração e ricas orientações durante todo este trabalho.

Aos funcionários da seção de hemoderivados do Hemocentro pela amizade, colaboração e compreensão durante todos estes anos.

À Dra. Neiva pela grande amizade, carinho e estímulo em todos estes anos.

À Dra. Lilian , Teca e Reni pelo apoio emocional, carinho e amizade em todos estes anos.

Às amigas Tereza Sueko, Dilmara e Mônica pelas valorosas orientações técnicas.

À Cármen Lúcia e João Ernesto pela colaboração e orientação dada no decorrer do mestrado.

À Rosana, Sandra e ao grupo do apoio didático da FCM pela editoração da tese e confecção dos slides.

À Eliani Guelli pelas análises estatísticas realizadas neste trabalho.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram a conquistar mais um dos meus ideais.

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	i
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1.Preparo do concentrado de hemácias.....	14
3.2.Hematimetria.....	15
3.3. Determinação de Hemoglobina livre do plasma.....	15
3.3.1. Procedimento.....	15
3.3.2. Cálculos.....	16
3.4. Determinação de Adenosina-5-trifosfato (ATP).....	16
3.4.1. Procedimento.....	17
3.4.2. Cálculos.....	17
3.5. Determinação de PO ₂ , PCO ₂ e PH.....	18
3.6. Determinação de 2,3 Ácido difosfoglicérico (2,3-DPG).....	18
3.6.1. Preparo das soluções.....	19
3.6.2. Procedimento.....	19
3.6.3. Cálculo.....	20
3.7. Determinação de Eletrólitos Plasmático.....	21
3.8. Análise estatística.....	21
4. RESULTADOS	23
4.1. Determinação de Hematócrito (Ht%) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	25
4.2. Determinação de Hemoglobina total (g/dl) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	27
4.3. Determinação de VCM(FL) em diferentes bolsas de coleta de sangue de acordo com os tempos de armazenamento.....	30

4.4. Determinação de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM- g/dl) em diferentes bolsas de coleta de sangu, de acordo com os tempos de armazenamento.....	32
4.5. Determinação de distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW %) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	34
4.6. Determinação de Hemoglobina plasmática (mg/dl) em diferentes bolsas de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	36
4.7. Determinação de ATP ($\mu\text{mol/gHb}$) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	38
4.8. Determinação de pH em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	40
4.9. Determinação de PO_2 (mmHg) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	43
4.10. Determinação de PCO_2 (mmHg) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	45
4.11. Determinação de 2,3 DPG ($\mu\text{mol/gHb}$) em diferentes bolsas de coleta de sangue de acordo com os tempos de armazenamento.....	47
4.12. Determinação de sódio plasmático (mEq/l) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	50
4.13. Determinação de potássio plasmático (mEq/l) em diferentes bolsas de coleta de sangue de acordo com os tempos de armazenamento.....	53
5. DISCUSSÃO.....	55
6. CONCLUSÃO.....	63
7. SUMMARY.....	65
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
9. ANEXOS.....	81

Lista de Abreviaturas

PVC	poli (cloreto) de vinila
DOP	di-octil-ftalato
DEHP	di (2-etilhexil)ftalato
CPDA1	citrato-fosfato-dextrose-adenina
TE	Terumo®
BA	Baxter®
GR	Grifols®
HE	Hemobag®
AS	Asem®
AL	Halex Istar®
ATP	adenosina-5- trifosfato
2,3 DPG	2,3 difosfoglicerato
2,3 BPG	2,3 bifosfoglicerato
RDW	distribuição do tamanho dos eritrócitos
VCM	volume corpuscular médio
CHCM	concentração corpuscular média
Ht%	porcentagem de hematócrito
ATBC	acetil-tributil-citrato
TOTM	tri-octil-trimelitato
NAD	nicotinamida adenina dinucleotidio
NADH	nicotinamida adenina dinucleotidio reduzida
3PGA	3-fosfoglicerato
PGK	fosfoglicerato fosfoquinase
1,3- DPG	1,3-difosfoglicerato
GAPD	gliceraldeído-3-fosfato-disidrogenase
G-3-P	gliceraldeído-3-fosfato

UV	ultravioleta
TMB	tetrametil benzidina
Hb	hemoglobina
Na ⁺	sódio
K ⁺	potássio
ADP	adenosina difosfato
AMP	adenosina monofosfato
PRPP	fosforribose pirofosfato
R5P	ribose-5-fosfato
PP	pirofosfato
CO ₂	dióxido de carbono
O ₂	oxigênio

Lista de Tabelas

	Pág.
Tabela 1. Determinação de hematócrito em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	25
Tabela 2. Determinação de hemoglobina total em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	28
Tabela 3. Determinação de volume corpuscular médio (VCM) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	30
Tabela 4. Determinação de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	32
Tabela 5. Determinação de distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	34
Tabela 6. Determinação de hemoglobina livre no plasma em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	36
Tabela 7. Determinação de ATP em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	38
Tabela 8. Determinação de pH em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	41
Tabela 9. Determinação de pO_2 em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	43
Tabela 10. Determinação de pCO_2 em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	45
Tabela 11. Determinação de 2,3 DPG em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	48
Tabela 12. Determinação de sódio plasmático em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	51
Tabela 13. Determinação de potássio plasmático em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.....	53

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Via da glicose anaeróbica.....	3
Figura 2. Via Rapoport-Luebering.....	4

Lista de Gráficos

	Pág.
Gráfico 1 . Determinação de hematócrito nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	26
Gráfico 2. Determinação de hemoglobina total nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	29
Gráfico 3. Determinação de volume corpuscular médio nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	31
Gráfico 4. Determinação de concentração de hemoglobina corpuscular média nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	33
Gráfico 5. Determinação da distribuição do tamanho dos eritrócitos nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	35
Gráfico 6. Determinação de hemoglobina plasmática nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	37
Gráfico 7. Determinação de ATP nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	39
Gráfico 8. Determinação de pH nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	42
Gráfico 9. Determinação de pO_2 nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	44
Gráfico 10. Determinação de pCO_2 nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	46
Gráfico 11. Determinação de 2,3 DPG nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	49
Gráfico 12. Determinação de sódio plasmático nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos.....	52
Gráfico 13. Determinação de potássio plasmático nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos..	54

RESUMO

A proposta deste estudo foi avaliar o comportamento de diferentes bolsas de coleta de sangue, utilizando parâmetros bioquímicos que interprete, *in vitro*, o metabolismo dos eritrócitos durante a conservação.

Para este trabalho utilizamos bolsas de Poli (cloreto) de vinila (PVC) com di-octil-ftalat (DOP), tendo Citrato-fosfato-dextrose-adenina (CPDA) como anticoagulante. Utilizamos concentrados de hemácias coletados em seis diferentes bolsas: Terumo® (TE), Baxter® (BA), Grifols® (GR), Hemobag® (HE), Asem® (AS) e Alex istar® (AL). Estes concentrados foram obtidos por fracionamento de sangue total e foram armazenados a 4°C, por 35 dias.

Os parâmetros bioquímicos avaliados foram: sódio e potássio plasmático, dosados por fotometria de chama; pressão de CO₂, O₂ e pH, determinada por gasômetro, a 37°C, em aparelho Stat Profile 5 Analyzer (Nova Biomedical, Waltham, MA); adenosina trifosfato (ATP), 2,3 difosfoglicerato (2,3 DPG) e hemoglobina plasmática, utilizando-se "Kit" comercial da Sigma Company, St. Louis, MO; distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobínica corpuscular média (CHCM), hematócrito (Ht%) e hemoglobina total foram obtidos pelo Cell-Dyn 1.600, Abbot Canada, EUA.

As análises foram realizadas no 1º, 15º, 21º e 35º dia de armazenamento. Os resultados foram avaliados pelas médias e desvios padrões dos parâmetros analisados de cinco bolsas de cada marca.

As bolsas HE apresentaram menor valor de hematócrito do que o das AL e GR. As bolsas GR e BA apresentaram, no 21º dia, níveis de hemoglobina plasmática menores do que os observados nas AL, TE, HE e AS.

Quanto aos valores de ATP, observamos que as bolsas HE apresentaram níveis maiores ($p=0.0020$) do que o obtido nas AL e AS.

Com relação ao 2,3 DPG, no 1º dia de armazenamento, as bolsas AL apresentaram níveis superiores aos observados nas TE e HE. As bolsas HE também apresentaram níveis de 2,3 DPG inferiores aos das BA, GR e AS. No 15º dia, as GR e AS apresentaram valores superiores de 2,3 DPG, se comparados aos das bolsas TE, BA, HE. As AL apresentaram níveis maiores de 2,3 DPG, quando comparadas às bolsas BA e HE.

Avaliando os valores de pH observamos que, no 15º dia, as bolsas AS e GR apresentaram um pH maior em relação às HE e BA. As AS ainda apresentaram valores superiores aos das TE. No 35º dia, as bolsas GR, AL e AS também apresentaram pH maior em relação às HE, BA e TE.

As análises estatísticas de pCO₂ e pO₂, de distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW) e de volume corpuscular médio (VCM) não demonstraram diferenças significativas.

No 35º dia de armazenamento, as bolsas HE, BA e TE tiveram valores de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) maiores do que o das AL, GR e AS.

As BA apresentaram no primeiro dia de armazenamento valores de sódio maiores do que o das AS, GR, TE e AL, entretanto, durante a preservação destas bolsas (BA) observou-se maior queda dos níveis de sódio plasmático, atingindo valores significativamente menores no 35º dia. Em relação ao potássio não observamos diferenças significativas.

A análise geral de nossos resultados evidencia a presença de dois grupos de bolsas de sangue com comportamentos semelhantes entre si. No primeiro grupo (AL, AS, GR), os valores de pH; 2,3DPG; hematócrito e sódio plasmático tendem a ser maiores do que no segundo grupo (HE, BA e TE). Por outro lado, quanto aos valores de VCM, ATP e o CHCM (35º dia) ocorre o inverso, isto é, tendem a ser maiores no segundo grupo. Isto sugere que no 1º grupo, há menor entumescimento das hemácias (menor VCM e maior sódio plasmático) e menor formação de esferócitos no 35º dia (menor CHCM).

Estas diferenças podem decorrer de variadas composições do anticoagulante ou da forma de processamento do DOP, que modificariam o metabolismo das hemácias.

Todos os valores obtidos estão muito próximos aos mencionados na literatura.

1. INTRODUÇÃO

O eritrócito é uma célula anucleada e sem organelas, portanto incapaz de promover fosforilação oxidativa, síntese de proteínas e lipídios. A manutenção de funções vitais da célula dependem de uma apropriada geração e gasto de energia. Estas funções incluem o início e manutenção da glicólise, o transporte de cations contra um gradiente eletroquímico, a síntese de glutathione e outros metabólitos essenciais, o metabolismo dos nucleotídeos, a manutenção do ferro da hemoglobina no estado ferroso, a proteção das proteínas da desnaturação oxidativa e a preservação dos fosfolípidos de membrana. A energia é obtida, essencialmente, através da glicólise anaeróbica (fig.1). Um desvio desta via, a via de Rapoport-Luebering, fornece um abundante estoque intracelular de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), e pode regenerar ATP, em resposta a alterações do metabolismo tais como redução do pH ou modificação da razão ADP/ATP (fig.2). Embora as hemácias utilizem a glicose como a sua fonte normal de energia, o uso de outros substratos é de interesse particular durante o armazenamento de sangue.

A terapêutica transfusional tem ampla aplicabilidade na prática clínica. A primeira transfusão de sangue foi realizada por BLUNDELL*, no século dezenove, inicialmente em cães e somente em 1818 foi realizada em humanos. Em 1835, iniciaram-se estudos para a prevenção da coagulação do sangue, sendo BISCHOFF* o primeiro médico a propor o uso de sangue desfibrinado.

ROUS & TURNER (1916)** verificaram que uma solução com citrato de sódio poderia ser utilizada como preservativo do sangue e que a lise *in vitro* era retardada por adição de açúcares.

* BLUNDELL, J. (1818); BISCHOFF, T.L.W. (1835) *apud* OBERMAN, H.A. - The history of blood transfusion. In: WILLIAMS, J.W.; BEUTLER, E.; ERSLEV, A.; LICHTMAN, M.A. - **Hematology**. 3ed. New York, Mc Graw, 1983. Cap.2, p. 9 - 28.

** ROUS, P. & TURNER, J. R. (1916) *apud* MOLLISON, P. L.; ENGELFRIED, C.P; CONTRERAS, M. - The transfusion of red cells. In: **Blood Transfusion in clinical medicine**. 9ed. Blackwell Scientific Publications, 1993. P.377 - 433.

Fig.1. Via da Glicólise anaeróbica

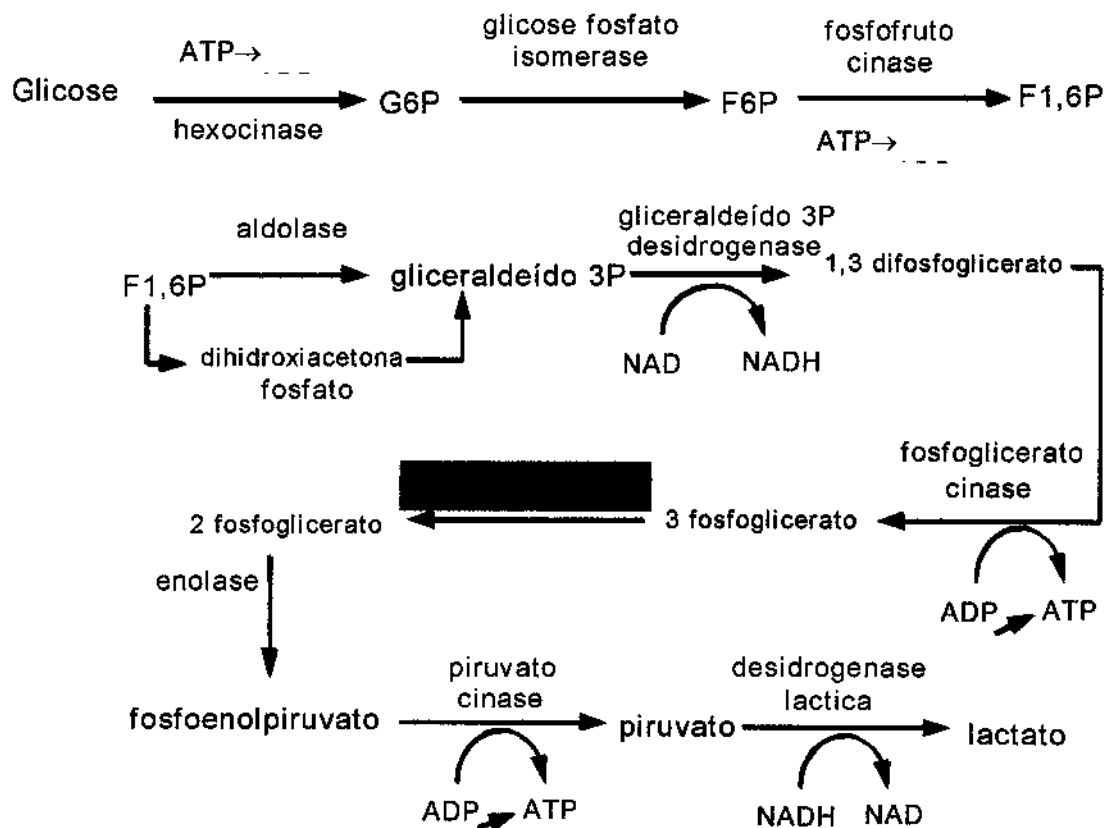
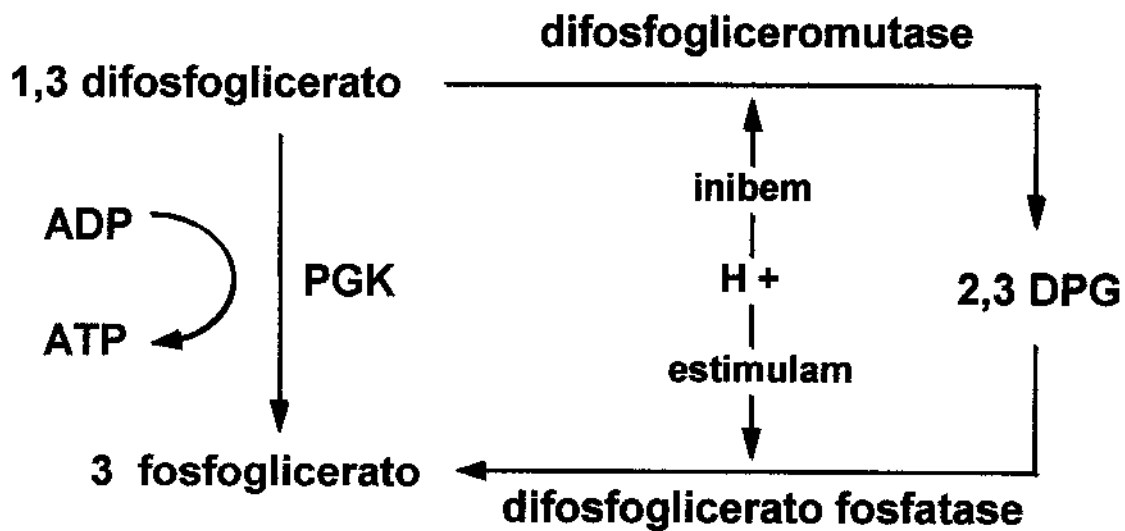


Fig 2. Via Rapoport-Luebering

- Regula quantidade de ATP
- Produz 2,3 DPG: regulador da afinidade da Hb pelo O₂



- O metabolismo da glicose por essa via não fornece energia

Posteriormente, ROBERTSON (1918)^{***} verificou que o sangue estéril refrigerado, coletado com glicose e citrato, poderia ser administrado até 26 dias após a coleta.

Deste modo, durante a Segunda Guerra Mundial empregava-se citrato com glicose para preservar o sangue, porém a autoclavagem das duas soluções juntas ocasionavam caramelização.

Foi esta circunstância que levou LOUTT & MOLLISON (1943)^{****} a acidificar, com ácido cítrico, a mistura de glicose / citrato, desenvolvendo uma solução com melhor capacidade de preservação, a fim de manter, a viabilidade de, pelo menos, 70% dos eritrócitos conservados por 21 dias.

Posteriormente, GIBSON *et al.* (1957) observaram que a adição de fosfato à solução citrato / dextrose promovia a viabilidade de 80% das células, por 32 dias

NAKÃO *et al.* (1960) demonstraram o efeito benéfico da adição de adenina na manutenção do alto nível de adenosina-5-trifosfato (ATP) nas células estocadas, com redução da fragilidade osmótica e maior sobrevivência das hemácias. Desde então, o conservante mais utilizado vem sendo a solução contendo citrato, fosfato, dextrose e adenina (CPDA₁).

A adição da adenina na solução anticoagulante ajuda a impedir a perda de ATP, pois serve como substrato para a síntese de adenina nucleotídeo, que se converte em ATP, combinando-se com fosforribose pirofosfato (PRPP), segundo as seguintes reações:

^{***} ROBERTSON, O.H. (1918) *apud* MASOUREDIS, S.P. - Preservation and clinical use of erythrocytes and whole blood. In: WILLIAMS, J.W; BEUTLER, E.; ERSLEV, A.; LICHTMAN, M.A. **Hematology**. 3ed. New York, Mc Graw - Hill Book Company, 1983.

^{****} LOUTT, J.F.; MOLLISON, P.L. (1943) *apud* MASOUREDIS, S.P. In: Preservation and clinical use of erythrocytes and whole blood. In: WILLIAMS, J.W; BEUTLER, E.; ERSLEV, A.; LICHTMAN, M.A. **Hematology**. 3ed. New York, Mc Graw - Hill Book Company, 1983.

• Ribose-5-fosfato(R5P) + ATP → fosforribose pirofosfato (PRPP) + adenosina monofosfato (AMP).

• PRPP + adenina → AMP+ PP → 2 adenosina difosfato (ADP) + 1,3 DPG → ATP + 3-fosfoglicerato.

adenosina + fosfoenolpiruvato → ATP + piruvato

A viabilidade das hemácias transfundidas é rapidamente perdida, dependendo da solução conservante, bem como do recipiente de armazenamento. Assim, desde a Segunda Guerra Mundial, utiliza - se bolsas de poli (cloreto) de vinila (PVC) para o armazenamento, em vez de frascos de vidro, (GENETET & MANNONI, 1980_a), impermeáveis a troca de gases.

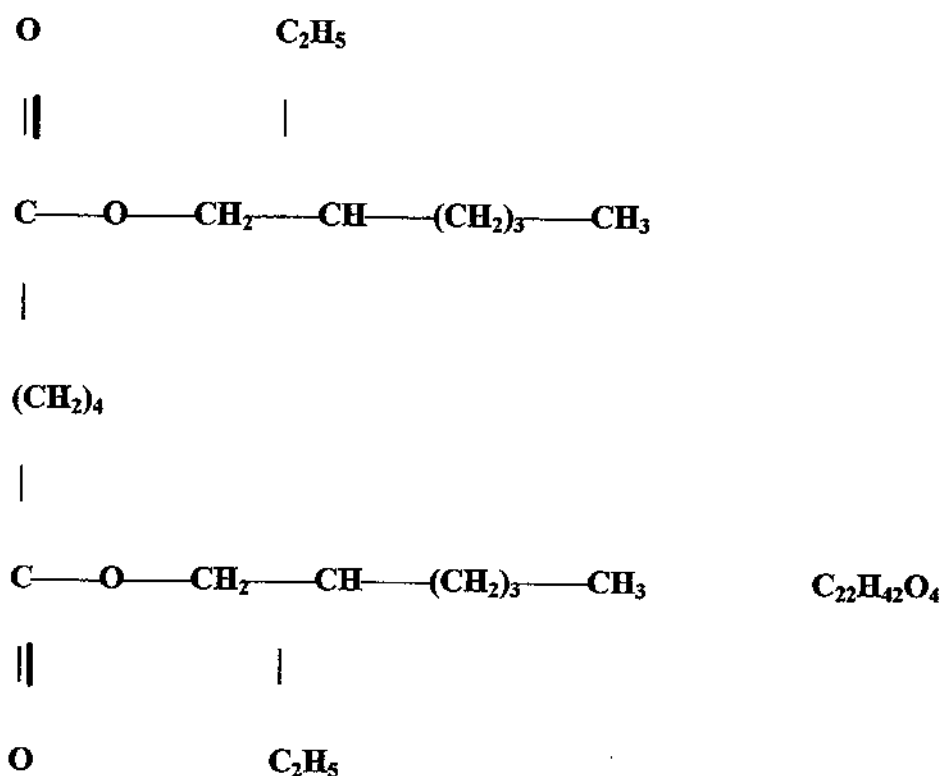
A introdução do PVC na confecção de bolsas de sangue veio minimizar a adesão celular, a formação de coágulos e a hemólise durante a estocagem. Isto facilitou o transporte e a centrifugação do sangue, além de beneficiar a sobrevivência de vários componentes sanguíneos pós-transfusão (PIERRE, 1981).

Para considerarmos uma bolsa de sangue eficaz, é necessário que ela seja flexível, transparente, resistente às centrifugações e às diferentes temperaturas. Tais características requerem muitos cuidados, pois dependem de várias etapas no processo de fabricação.

Os materiais plásticos utilizados para a confecção de bolsas de sangue são basicamente polímeros, grandes moléculas edificadas pela repetição de pequenas unidades químicas simples, os monômeros. Por exemplo, o etileno, que é um monômero, sob calor e pressão, na presença de um catalisador, forma a cadeia de um polímero (polietileno). O comprimento da cadeia é especificado pelo número de unidades repetidas, ou grau de polimerização. O cloreto de vinil (monômero) pode ser polimerizado para a forma poli (cloreto) de vinila (PVC). Entretanto, é necessária a adição de plastificante, a fim de proporcionar flexibilidade ao polímero (ROLEIGH, 1993).

A natureza dos plastificantes é um fator decisivo na estabilidade do composto de PVC. Os ftalatos Di-Octil-Ftalato (DOP) ou Di (2-etilhexil) Ftalato (DEHP) constituem as classes de plastificantes mais utilizadas em combinação com resinas vinílicas, pois possuem características e custos menores que qualquer outra classe de plastificantes.

Os ftalatos são obtidos pela reação do anidro ftálico com álcool monohídrico, da seguinte forma:



O DOP é um dos 20 di-ésteres de ácido ftálico usados em indústrias de plásticos e, há cerca de 30 anos ele tem sido utilizado na confecção de bolsas de sangue, em estado puro, incolor, oleoso e de baixa volatilidade. É solvente para alguns plásticos e compõe várias embalagens de alimentos e de produtos hospitalares.

Vários estudos sugerem que o DOP em bolsa de sangue é prejudicial à saúde, pois em contato com as células vermelhas, é convertido em mono di (2-etilhexil) ftalato (MEHP), que é um metabólito tóxico (VALERI *et al.* 1969; COLE *et al.*, 1981).

Quantidades variáveis de DOP têm sido observadas em produtos de sangue fracionados do plasma, como albumina e crioprecipitado. Também podem ser identificadas no soro e tecidos de muitos pacientes submetidos à transfusão de hemocomponentes (COLE *et al.*, 1981; JAEGER & RUBIN, 1972; VESSMAN & RIETZ, 1978; LEWIS *et al.*, 1978)

Estudos tem demonstrado a hepatotoxicidade do DOP em humanos e macacos *rhesus* submetidos a múltiplas transfusões de plasma. (JAEGER & RUBIN, 1972; CONTRERAS, SHEIBLEY, VALERI, 1974; JACOBSON, KEVY, GRAND, 1977), porém esta toxicidade, demonstrada em humanos, não pode ser confirmada, até o momento (KLUE, 1982), mas a polêmica avança, fazendo com que as empresas prepararem-se e pesquisem substitutos para o DOP.

Estudos com o DOP mostraram que este plastificante produz uma significativa proteção contra hemólise, durante o armazenamento do sangue (STERN & CARMEN, 1980). A confirmação deste efeito benéfico veio com os estudos de JAMES *et al.* (1988) e ROCK (1990). ESTEP *et al.* (1984, 1985) verificaram que a presença de DOP reduzia o volume de microvesículas liberadas dos eritrócitos em até 50%, após 35 dias de estocagem. Constataram também que a porcentagem de células com morfologia normal era, no mínimo, 20 vezes maior do que nos sangues estocados sem DOP. Aparentemente, o ftalato (DOP) é um excelente bloqueador de radicais livres e a ausência deste aditivo poderia causar hemólise abrupta (LAWRENCE, 1989). O DOP pode estabilizar a célula vermelha pela sua incorporação na membrana, de modo similar ao registrado por outros compostos hidrofóbicos, ou ele pode inibir a reação de estearases originada no plasma ou nas células brancas com componentes da membrana das células vermelhas. (HOROWITZ *et al.* 1985_a)

A presença de plastificante em bolsas de sangue facilita, também, a troca de gases entre o conteúdo da bolsa e a atmosfera. Esta propriedade é crítica para o armazenamento, principalmente de concentrados de plaquetas.

O complexo sistema envolvendo o sangue conservado em bolsas de PVC é influenciado pela tecnologia de obtenção deste filme, incluindo peso molecular da resina, espessura, relação superfície / volume, concentração do plastificante, relação plastificante

óleo de soja (40 DOP/10 OSE) e tipo de gravação (rugosidade). Uma gravação uniforme e desenhada tem o intuito de aumentar a superfície interna, proporcionando uma maior troca de gases. A selagem da bolsa é feita por rádio frequência e requer porosidade do plástico.

O armazenamento das hemácias, a temperaturas de 1 a 6°C, em bolsas de PVC com soluções preservativas contendo citrato, fosfato, dextrose e adenina, promove efeitos deletérios sobre os eritrócitos, com perda da viabilidade das hemácias. Há redução de adenosina trifosfato (ATP) e do transporte transmembrana de sódio e potássio, aumento da rigidez celular, perda da membrana lipídica, formação de esferócitos e microvesículas. Ocorre também perda de 2,3- difosfoglicerato (2,3 DPG), causando um aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio. A deficiência de 2,3 DPG, por sua vez, potencializa a deficiência de ATP, porque, na presença de pH ácido, o ATP fixa-se, preferencialmente, sobre a hemoglobina não ligada a 2,3 DPG e diminui, na mesma proporção, a quantidade de ATP disponível nas membranas, tornando menor a capacidade das células de fosforilarem glicose (MOLLISON, ENGELFRIET, CONTRERAS, 1993).

Em virtude do canal de sódio e potássio ser sensível às mudanças de temperatura durante o armazenamento, nota-se que o potássio sai rapidamente das células conservadas, enquanto que o sódio entra nas mesmas.

A fragilidade osmótica das hemácias conservadas aumenta gradualmente e algumas sofrem lise, causando um acréscimo na concentração de hemoglobina no plasma.

Quando as células vermelhas armazenadas são transfundidas, algumas voltam à normalidade, outras são destruídas poucas horas depois da transfusão. Assim, a sobrevivência das células que não foram removidas nas primeiras 24 horas estará normal, (BEUTLER & MASOUREDIS, 1995).

O poder tampão do plasma também produz efeitos na conservação. Em concentrados de hemácias, a diminuição do pH e 2,3 DPG é mais rápida do que no sangue total. A retirada de plasma eliminaria parte da solução de conservação utilizada e, sobretudo, os substratos, como glicose e fosfatos. Assim, o concentrado de hemácias deve

apresentar um hematócrito inferior a 80% (GENETET & MANNONI, 1980c). Entretanto, também a relação solução de conservação/ volume de sangue deve ser respeitada, pois, se o volume extraído for pequeno em relação ao anticoagulante, a diminuição do pH será mais acentuada.

A agitação durante o armazenamento, a 4°C, tem sido recomendada por alguns autores, para facilitar o intercâmbio entre hemácias e meio de conservação. Por outro lado, a contaminação de hemácias por leucócitos acelera a hemólise e aumenta o potássio extracelular. Portanto, a conservação é melhor quando se elimina a camada leucoplaquetária (HOGMAN *et al.*, 1978, 1987; SMITH *et al.*, 1991; LAWRENCE, 1989).

Assim, as eventuais alterações de tamanho, forma, volume e fragilidade das hemácias impedem-nas de cumprirem amplamente as suas funções (GENETET & MANNONI, 1980_b).

Conforme o exposto, o estudo da preservação das hemácias avançou muito nas últimas décadas e aspectos como o tipo de solução de conservação, a temperatura de armazenagem e o hematócrito do concentrado de hemácias encontram-se melhor definidos. Entretanto, o recipiente utilizado, atualmente, é uma das maiores preocupações nos serviços de hemoterapia. A quantidade de bolsas plásticas que tem sido colocada no mercado é muito grande e, até recentemente, as exigências para que o produto importado entrasse no mercado nacional eram poucas. Somente após a portaria do Ministério da Saúde (port.nº 69, de 14/5/96), está sendo realizado um maior controle.

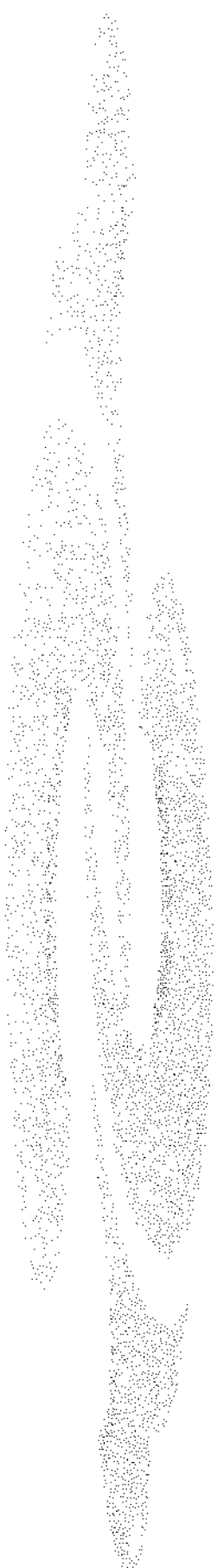
A indústria brasileira também produz bolsas de sangue que atendem às exigências mínimas desta portaria. Além disto, a grande demanda de bolsas, no país, pode levar à queda da qualidade do produto.

Por outro lado, cabe aos serviços de hemoterapia, o cuidado na escolha de bolsas, procurando produtos que atendam exigências mínimas de qualidade dos mesmos.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

- Estudar, por quantificações bioquímicas, o metabolismo de eritrócitos preservados em diferentes bolsas de coleta de sangue, confeccionadas com plastificante DOP, com solução preservativa CPDA 1;
- Realizar estudo comparativo entre as bolsas de coleta encontradas no mercado nacional;
- Implantar controle de qualidade de concentrados de hemácias durante a preservação, visando melhor aproveitamento do produto.



3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. PREPARO DO CONCENTRADO DE HEMÁCIAS

As bolsas de sangue total foram obtidas de doadores voluntários, no Centro de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Foram utilizadas bolsas de PVC com DOP, contendo 450ml de sangue para 63ml de anticoagulante CPDA1. As bolsas eram provenientes de seis diferentes empresas: Hemobag[®] (Brasil); Asem Hospitalar S.A.[®] (Brasil); Halex-Istar LTDA[®] (Brasil); Baxter S.A.[®] (México); Terumo Corporation[®] (Tóquio, Japão); Grifols S.A.[®] (Espanha).

Tais bolsas tinham as seguintes dimensões (largura x comprimento): Hemobag, 17,9 x 12,0 ; Asem, 18,0 x 12,2; Halex Istar, 18,0 x 12,2; Baxter, 17,8 x 12,6; Terumo, 17,8 x 12,4; Grifols 17,6 x 11,9

Após a coleta, as mesmas foram mantidas, por 2 horas, em temperatura ambiente ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e, em seguida, centrifugadas a 1.000 rpm, por 7 minutos, $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, para a retirada do plasma. A retirada do plasma foi realizada através de análise visual, considerando-se satisfatório um residual de plasma cerca de 1,5 a 2,0 cm acima da camada do *buffy coat*.

Os concentrados de hemácias obtidos apresentavam um volume em torno de 300 a 395 ml por bolsa. Foram estocados em posição vertical, em câmaras de conservação com temperatura de 4°C à 6°C .

As amostras para análise foram retiradas através da conexão de um adaptador do tipo "sampling site coupler" (Fenwal), após agitação por inversão das bolsas. Primeiramente foram coletadas amostras (5ml) para dosagem de pH, CO_2 , O_2 , utilizando seringas e agulhas e em seguida as amostras (10ml) para os demais parâmetros.

As análises foram realizadas nos dias 1°, 15°, 21° e 35° dias após a coleta.

3.2. HEMATIMETRIA

A dosagem de hemoglobina total; a determinação de hematócrito; a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM); o volume corpuscular médio (VCM) e a distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW), foram obtidos por contador eletrônico (Cell- Dyn 1600, Abbott, Califórnia, EUA).

3.3. DETERMINAÇÃO DE HEMOGLOBINA LIVRE NO PLASMA

A hemoglobina livre foi determinada por método colorimétrico quantitativo, a 600 nm, utilizando-se "Kit" comercial da Sigma Company (St. Louis, MO)

A determinação colorimétrica da hemoglobina do plasma baseia-se na ação catalítica da hemoglobina sobre a benzidina oxidada pelo peróxido de hidrogênio, resultando na formação de cor (LIJANA & WILLIAMS, 1979; STANDEFER & VANDERJAYTL, 1977)

3.3.1. PROCEDIMENTO

1- Preparar o tetrametil benzidina (TMB), reconstituindo-o com 50 ml de ácido acético (se necessário, manter a 4°C, por até 2 semanas).

2- Usar tubos de vidro 13 x 100.

	BRANCO	TESTE	PADRÃO
Solução TMB	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml
Amostra		0,01 ml	
Padrão			0,01
Peróxido de hidrogênio	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

3- Misturar por inversão.

4- Deixar em Temperatura ambiente (TA) por, exatamente, 10 minutos.

5- Ler a 600 nm vs água.

3.3.2. CÁLCULOS

$$\text{Hemoglobina plasma (mg/dl)} = \frac{\text{teste} - \text{branco}}{\text{padrao} - \text{Branco}} \times 30$$

Em que: 30 é a concentração da Hemoglobina padrão

Para amostras com hemoglobina maior que 50mg/dl, foi realizada a diluição de 1/6 com salina.

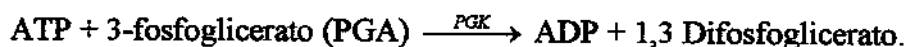
3.4. DETERMINAÇÃO DE ADENOSINA-5- TRIFOSFATO[ATP]

A determinação de ATP foi realizada por método enzimático e quantitativo, usando - se “Kit” comercial da Sigma Company, St. Louis MO.

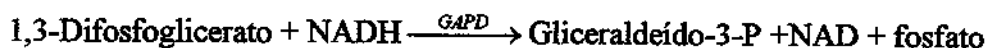
Este procedimento baseia -se na reação descrita por BUCHER (1947) e modificada por ADANS (1963).

O procedimento é sensível, relativamente específico e requer, aproximadamente, 10 minutos. O ATP é quantificado pela leitura de NAD, a 340nm, após oxidação do NADH.

A enzima fosfoglicerato fosfoquinase (PGK) é usada para catalisar a seguinte reação:



A enzima gliceraldeído fosfato desidrogenase (GAPD) está presente como catalisador:



3.4.1. PROCEDIMENTO

1- Preparar a proteína livre em um tubo cônico, colocando 1ml de ácido tricloroacético (TCA) 12% e 1ml do sangue. Agitar rigorosamente.

Deixar a solução em repouso, por 5 minutos, em banho de gelo. Centrifugar a 3.000 rpm por 5 a 10 minutos.

Retirar o sobrenadante (extrato).

2- No frasco de NADH, colocar 1,0 ml de PGA; 1,5 ml de H₂O e 0,5 ml do extrato. Agitar, colocar na cuveta e ler, a 340nm

3- Colocar 40µl de GAPD/PGK e misturar por inversão, aguardar 10 minutos e ler, a 340nm.

4- Fazer os cálculos.

3.4.2. CÁLCULOS

ΔA = Absorbância inicial - Absorbância final

ATP sangue [$\mu\text{mol/dl}$] = $\Delta A \times 195$

$$\text{Em que: } 195 = \frac{3,04 \times 100}{6,22 \times 0,25}$$

3,04 = volume líquido da cuveta

100 = conversão da concentração de 1 ml para 1 dl

6,22 = absorção milimolar do NADH a 340 nm

0,25 = volume da amostra

Para expressar o resultado, em relação à dosagem de hemoglobina [$\mu\text{mol/g Hb}$]:

$$\text{ATP } \mu\text{mol/g Hb} = \frac{\Delta A \times 195}{\text{Hb} [\text{g/dl}]}$$

3.5. DETERMINAÇÃO DE $p\text{O}_2$, $p\text{CO}_2$ E pH

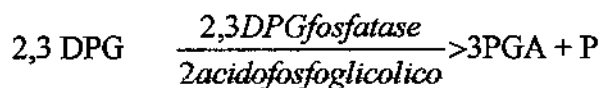
Para determinar $p\text{O}_2$, $p\text{CO}_2$ e pH, as amostras foram coletadas com seringa e agulha, sendo, imediatamente, fechadas para análise, a 37°C em gasômetro Stat Profile 5 Analyzer (Nova Biomedical, Waltham, MA)

3.6. DETERMINAÇÃO DE 2,3 ÁCIDO DIFOSFOGLICÉRICO (2,3-DPG)

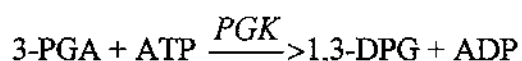
A determinação de 2,3 DPG foi realizada usando “Kit” comercial (ref. 35 UV) da Sigma Company (St. Louis, MO), modificado pela inclusão de hidrazina sulfato, de acordo com o método de KEITT (1971).

Este método baseia-se na obtenção de nicotinamida adenina dinucleotídio (NAD) a partir da oxidação de nicotinamida adenina dinucleotídio reduzida (NADH), cuja absorbância é lida a 340nm e reflete a concentração de 2,3 DPG.

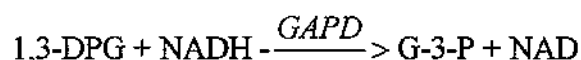
Inicialmente, obtém-se o 3-fosfoglicerato (3PGA) e o fósforo inorgânico, a partir do 2,3 DPG fosfatase e da estimulação do ácido 2-fosfoglicólico



O 3 PGA e o ATP, na presença de 3- fosfoglicerato fosfoquinase (PGK), forma 1,3 - Difosfoglicerato (1,3 - DPG) e ADP



O 1,3 - DPG oxida NADH para NAD, em presença de gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPD), e é reduzido para gliceraldeído-3 -fosfato (G-3-P)



A oxidação da NADH para NAD é determinada por espectrofotometria em 340nm e reflete a concentração de 2,3 DPG.

3.6.1. PREPARO DAS SOLUÇÕES

A solução de Adenosina-5-Trifosfato (ATP) foi preparada reconstituindo-se com 5,0 ml da solução de tampão, contendo “trietanolamine buffer”. Esta solução reconstituída pode ser mantida por 6 meses, a -20°C

A solução de ácido fosfoglicólico foi preparada pela reconstituição deste com 5,0 ml de água. Esta solução pode ser mantida por 6 meses, a -20°C.

A mistura das enzimas GAPD/PGK e fosfoglicerato mutase devem ser cuidadosamente agitada por inversão.

Outros reagentes foram fornecidos prontos para o uso.

3.6.2. PROCEDIMENTO

1- Em um tubo cônico colocar 3ml do ácido tricloroacético e 1ml do sangue. Após forte agitação, deixar em repouso, por 5 minutos, para completa precipitação protéica.

2- Centrifugar, por 5 a 10 minutos, a 3.000 rpm.

3- Retirar o sobrenadante (extrato), que poderá ser congelado por até 1 mês.

4- No frasco contendo 1 mg de NADH, colocar 8,0 ml de solução de “trietanolamine buffer”, inverter vigorosamente, até dissolver o NADH. Esta solução pode se mantida por 1 semana, a $2^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$.

5- Em uma cuveta, pipetar 2,5 ml da solução (fim da etapa anterior), 100 μl da solução de ATP e 250 μl do sobrenadante extraído.

6- Homogeneizar, colocando 20 μl de GAPD/PGK mais 20 μl de fosfoglicerato mutase.

7- Incubar por 5 minutos, em temperatura ambiente.

8- Ler, a 340 nm UV, usando água como “blank.”

9- Colocar, em seguida, 100 μl do ácido fosfoglicólico.

10- Homogeneizar e deixar em temperatura ambiente, por 30 minutos.

11- Ler, a 340 nm UV.

12- Fazer o cálculo.

3.6.3. CÁLCULO

$\Delta A = A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}$

Correção: $\Delta A = \Delta A$, em que 0,030 é o volume da solução fosfoglicólica, determinado empiricamente.

2,3 DPG do sangue [$\mu\text{mol/mL}$] = ΔA corrigido x 7,7

$$7,7 = \frac{2,99}{6,22 \times 0,0625}$$

Em que:

2,99 é o volume (ml)da mistura na cuveta;

6,22 é a absorvância de 340 nm da solução contendo 1µmol NADH / ml;

0,0625 é o volume (ml) original da amostra e mistura da reação.

O resultado pode ser expresso em relação aos valores de hemoglobina do sangue, da seguinte maneira:

$$2,3 \text{ DPG } \mu\text{mol} / \text{g} = \frac{2,3 \text{ DPG} [\text{Mmol} / \text{ml}]}{\text{Hb} [\text{g} / \text{dl}]} \times 100$$

3.7. DETERMINAÇÃO DE ELETRÓLITOS PLASMÁTICOS

O sódio e o potássio do plasma foram analisados por fotometria de chama.

Para a quantificação de sódio e potássio, foram utilizadas amostras de plasmas diluídas em água deionizada 1/5 e os resultados foram multiplicados pelo fator de diluição.

Para a calibração do fotômetro, utilizamos soro controle e soro padrão da Boehringer Mannheim Precipath U.

3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliar as diferenças entre as bolsas de sangue e o comportamento de cada uma delas, com o decorrer do tempo de armazenamento, utilizamos, a análise de variância com medidas repetidas.

Quando o comportamento das mesmas variava dependendo do tempo (indicando que houve interação), analisamos as mesmas em cada um dos tempos de armazenamento separadamente, pelo teste de Duncan. (MILLIKEN & JONHSON, 1984)

Quando a interação entre bolsa e tempo não foi significativa, utilizamos o teste de Kruskal-Wallis, considerando-se o vetor de tempos médios (T1°, T15°, T21°, T35° dia) para comparação entre as bolsas . (CONOVER, 1971).

Para comparação das variáveis entre 2 grupos, utilizamos o teste t para amostras independentes quando a distribuição era normal, ou o teste não paramétrico de Mann Whitney - Wilcoxon caso contrário. (CONOVER, 1971).

Coefficiente de correlação linear foi realizado pelo teste de Pearson, para dados paramétricos, ou Spearman, para dados não paramétricos. (AGRESTI & FINLAY, 1986).

4. RESULTADOS

Os resultados encontram-se representados sob a forma de gráficos e tabelas, com médias e desvios padrões de 5 determinações independentes, levando-se em conta a bolsa de coleta e o tempo de armazenamento. Os resultados individuais encontram-se nos anexos.

As bolsas de sangue e tempos de armazenamento podem ser identificados por:

BA - Baxter S.A. (México)

TE - Terumo Corporation (Japão)

GR - Grifols S.A. (Espanha)

HE - Hemobag (Brasil)

AS - Asem (Brasil)

AL - Halex - Istar (Brasil)

T1 - 1^o dia de armazenamento

T15 - 15^o dia de armazenamento

T21- 21^o dia de armazenamento

T35- 35^o dia de armazenamento

4.1 DETERMINAÇÃO DE HEMATÓCRITO (HT%) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO.

Observamos que não houve interação significativa entre bolsa e tempo de armazenamento ($p= 0,3991$). Entretanto, a análise independente do tempo de armazenamento demonstrou diferença significativa entre as bolsas (Kruskal - Wallis, $p= 0,0126$). As bolsas HE apresentaram menor mediana de Ht% (68,92) que as AL (73,70) e GR (73,62)

Os resultados encontram-se representados nas tabelas 1 e Gráfico 1

Tabela 1. Determinação de Ht% em bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	70.920 ± 3.890	71.700 ± 4.422	71.680 ± 2.069	76.260 ± 270
TE	68.740 ± 2.808	71.220 ± 2.851	70.960 ± 1.980	71.100 ± 030
HE	67.600 ± 1.601	70.220 ± 2.557	67.880 ± 3.140	70.360 ± 1.633
GR	73.140 ± 2.640	75.280 ± 4.348	73.920 ± 3.055	76.020 ± 3.833
AS	70.300 ± 1.268	73.940 ± 3.267	73.180 ± 3.394	76.020 ± 4.797
AL	73.400 ± 3.148	75.520 ± 4.596	74.000 ± 3.417	75.520 ± 3.381

P-VALUE	
Análise de Variância	0.3991
Kruskal Wallis	0.0126(*)

*diferenças estatisticamente significativas

DETERMINAÇÃO DE HT%

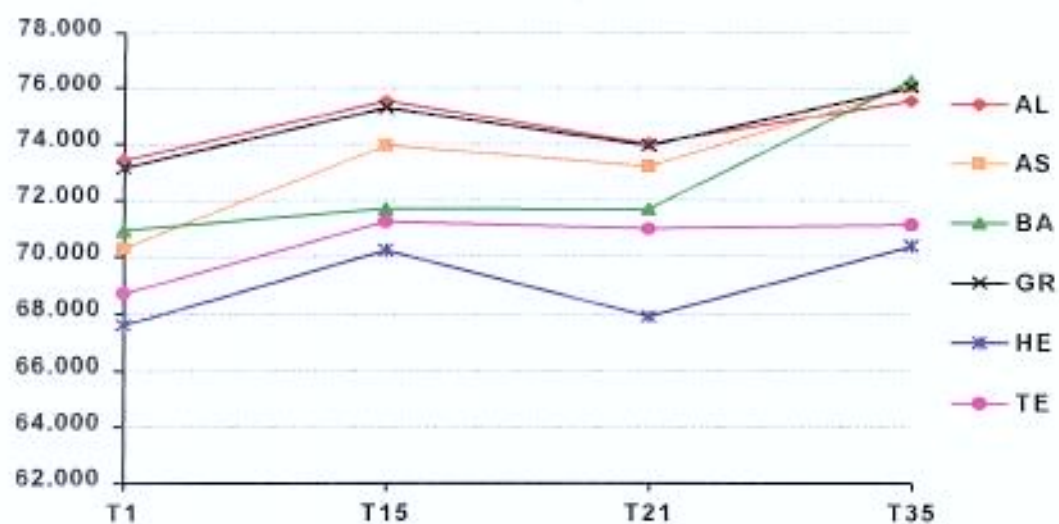


Gráfico 1: Determinação de hematócrito nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.2. DETERMINAÇÃO DE HEMOGLOBINA TOTAL (g/dl) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO.

Observa-se que houve interação significativa entre bolsa e tempo de armazenamento ($p=0,0016$), evidenciada nos tempos T1 ($p=0,0026$) e T21 ($p=0,0228$).

Em T1, as bolsas GR e AL apresentaram níveis maiores de hemoglobina total ($GR=23,720 \pm 0,769$ e $AL=23,380 \pm 1,327$) do que as TE ($21,880 \pm 0,852$) e HE ($21,100 \pm 0,707$). Neste tempo, as bolsas BA e AS também apresentaram valores significantemente maiores de hemoglobina total ($BA=22,520 \pm 1,213$ e $AS=22,520 \pm 0,634$) do que os observados nas HE ($21,100 \pm 0,707$).

Em T21, as bolsas HE apresentaram valores de hemoglobina total significantemente inferiores ($20,640 \pm 1,270$) aos observados nas AL ($22,660 \pm 1,192$), GR ($22,94 \pm 1,156$) e AS ($22,400 \pm 0,945$).

Os resultados encontram-se representados nas tabelas 2 e Gráfico 2.

Tabela 2. Determinação de hemoglobina total (g/dl) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	22.520 ± 1.213	22.300 ± 1.369	22.040 ± 1.031	24.700 ± 1.268
TE	21.880 ± 0.852	21.620 ± 1.103	21.600 ± 0.591	22.980 ± 0.828
HE	21.100 ± 0.707	21.500 ± 0.984	20.640 ± 1.270	22.880 ± 0.949
GR	23.720 ± 0.769	23.660 ± 1.628	22.940 ± 1.156	23.080 ± 1.418
AS	22.520 ± 0.634	22.860 ± 0.669	22.400 ± 0.945	22.580 ± 1.768
AL	23.380 ± 1.327	23.380 ± 1.762	22.660 ± 1.192	23.200 ± 1.382

ANALISE DE VARIÂNCIA	P- VALUE
Interação	0.0016 (*)
T1	0.0026 (*)
T15	0.0703
T21	0.0228 (*)
T35	0.1892

*diferenças estatisticamente significativas

DETERMINAÇÃO DE Hb TOTAL (g/dl)

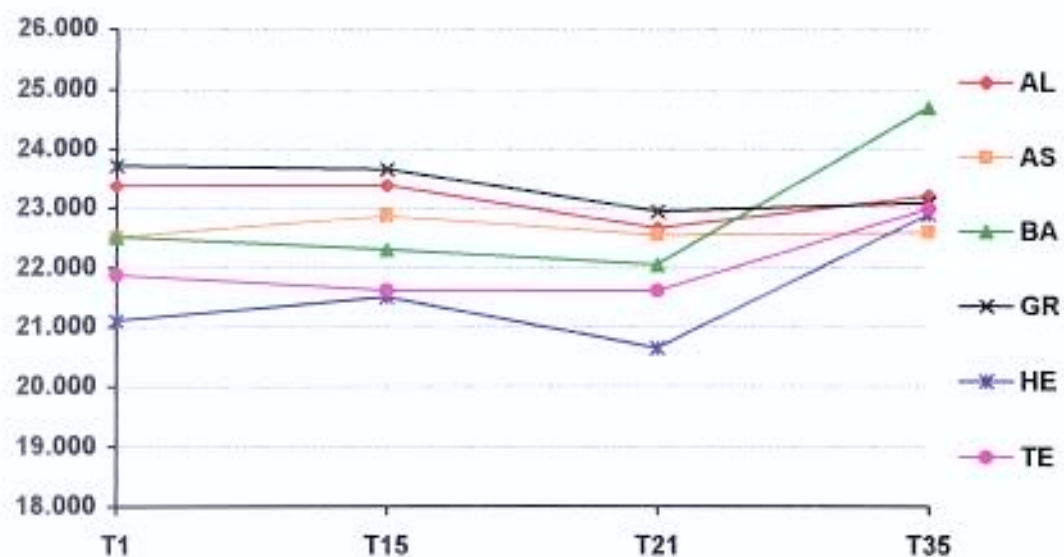


Gráfico 2: Determinação de hemoglobina total nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.3. DETERMINAÇÃO DE VCM (FL) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO.

Não houve diferenças significativas entre as diferentes bolsas, considerando-se ou não os tempos de armazenamento ($p > 0,06$). Os resultados encontram-se representados nas tabelas 3 e Gráfico 3.

Tabela 3. Determinação de VCM (FL) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	93.600 $\pm$ 6.387	96.800 $\pm$ 7.190	97.800 $\pm$ 7.085	100.400 $\pm$ 9.914
TE	91.200 $\pm$ 3.033	95.000 $\pm$ 3.741	95.400 $\pm$ 3.361	96.800 $\pm$ 3.898
HE	90.200 $\pm$ 2.683	92.600 $\pm$ 2.073	93.400 $\pm$ 1.949	94.400 $\pm$ 4.335
GR	85.200 $\pm$ 4.207	87.800 $\pm$ 4.658	88.800 $\pm$ 5.630	90.400 $\pm$ 5.504
AS	85.200 $\pm$ 5.805	89.800 $\pm$ 6.534	88.400 $\pm$ 6.503	93.200 $\pm$ 7.014
AL	86.200 $\pm$ 6.870	86.400 $\pm$ 5.594	89.600 $\pm$ 7.635	91.800 $\pm$ 7.854

P-VALUE	
Análise de variância	0.6903
Wruskal Wallis	0.0601

DETERMINAÇÃO DE VCM

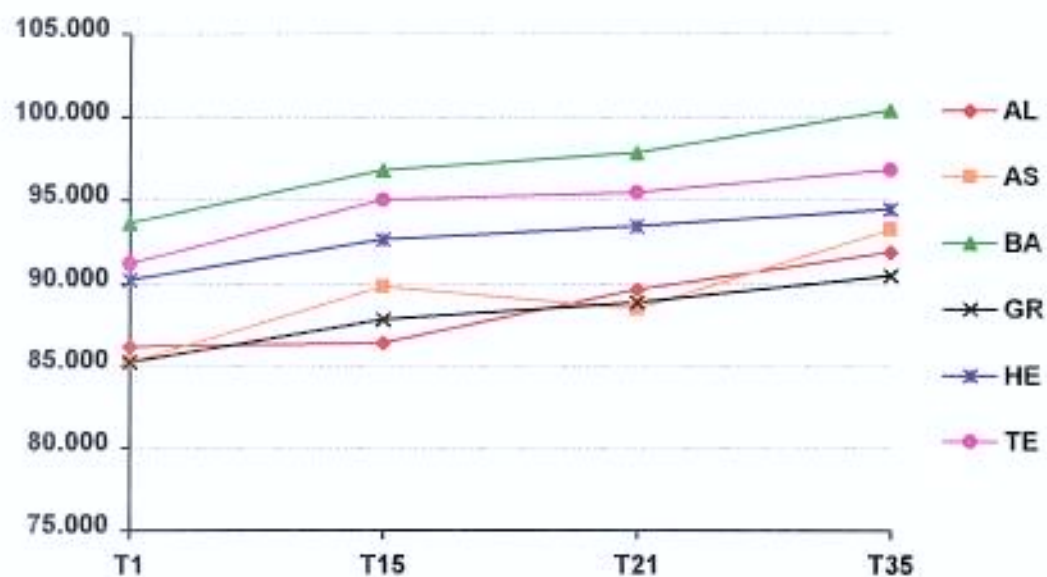


Gráfico 3: Determinação de volume corpuscular médio nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.4. DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MÉDIA (CHCM g/dl) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

Houve diferenças significativas entre bolsa e tempo ($p= 0,0001$) e as divergências encontradas foram em T 35 ($p= 0,0001$)

No 35^o dia de armazenamento as bolsas HE, BA e TE tiveram valores de CHCM maiores do que as AL,GR e AS (HE= $32,520 \pm 0,939$; BA= $32,380 \pm 1,338$; TE= $32,340 \pm 0,801$; AL= $29,940 \pm 0,415$; GR= $30,340 \pm 0,757$; AS= $29,720 \pm 1,003$).

Os resultados encontram-se representados nas tabelas 4 e Gráfico 4.

Tabela 4. Determinação de CHCM (g/dl) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento.

Bolsas	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	31.760 $\pm$ 0.384	31.100 $\pm$ 0.836	30.760 $\pm$ 0.730	32.380 $\pm$ 1.338
TE	31.860 $\pm$ 0.336	30.360 $\pm$ 0.439	30.420 $\pm$ 0.238	32.340 $\pm$ 0.801
HE	31.580 $\pm$ 0.249	30.600 $\pm$ 0.484	30.240 $\pm$ 0.750	32.520 $\pm$ 0.939
GR	32.422 $\pm$ 0.455	31.420 $\pm$ 1.164	31.040 $\pm$ 1.305	30.340 $\pm$ 0.757
AS	32.020 $\pm$ 0.576	30.940 $\pm$ 0.856	30.820 $\pm$ 1.156	29.720 $\pm$ 1.003
AL	31.860 $\pm$ 0.779	30.940 $\pm$ 0.981	30.620 $\pm$ 0.563	29.940 $\pm$ 0.415

ANALISE DE VARIÂNCIA	P- VALUE
Interação	0.0001 (*)
T1	0.1810
T15	0.4404
T21	0.7352
T35	0.0001 (*)

*diferenças estatisticamente significativas

DETERMINAÇÃO DE CHCM

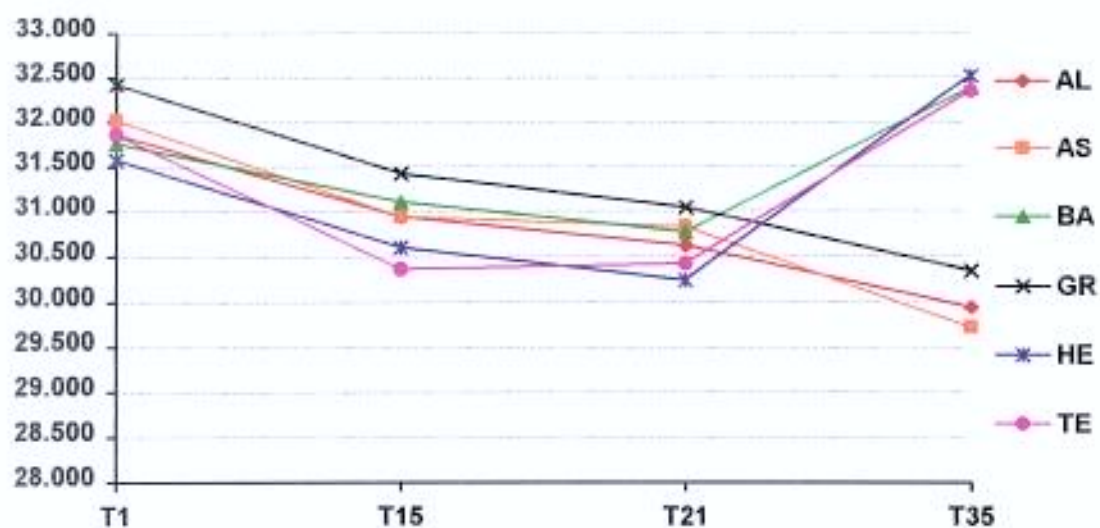


Gráfico 4: Determinação de concentração de hemoglobina corpuscular média nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.5. DETERMINAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DOS ERITRÓCITOS (RDW %) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

Observa-se que não houve diferenças significativas entre as bolsas, considerando-se ou não o tempo de armazenamento ($p > 0,3$). Os resultados encontram-se representados nas tabelas 5 e Gráfico 5.

Tabela 5. Determinação de RDW % em diferentes bolsas de coleta, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	16.720 ± 1.434	17.080 ± 0.785	17.300 ± 1.172	17.640 ± 0.776
TE	17.020 ± 0.988	17.500 ± 0.764	17.660 ± 0.493	17.260 ± 0.973
HE	17.120 ± 0.725	17.760 ± 0.736	17.020 ± 0.683	17.660 ± 0.320
GR	17.500 ± 1.012	17.560 ± 1.057	16.920 ± 1.025	17.460 ± 0.702
AS	17.480 ± 1.110	17.840 ± 0.545	18.040 ± 1.092	17.860 ± 1.337
AL	17.600 ± 2.109	18.300 ± 2.219	17.760 ± 2.105	17.980 ± 1.748

P- VALUE	
Análise de Variância	0,3212
Kruskal- Wallis	0,9389

DETERMINAÇÃO DE RDW

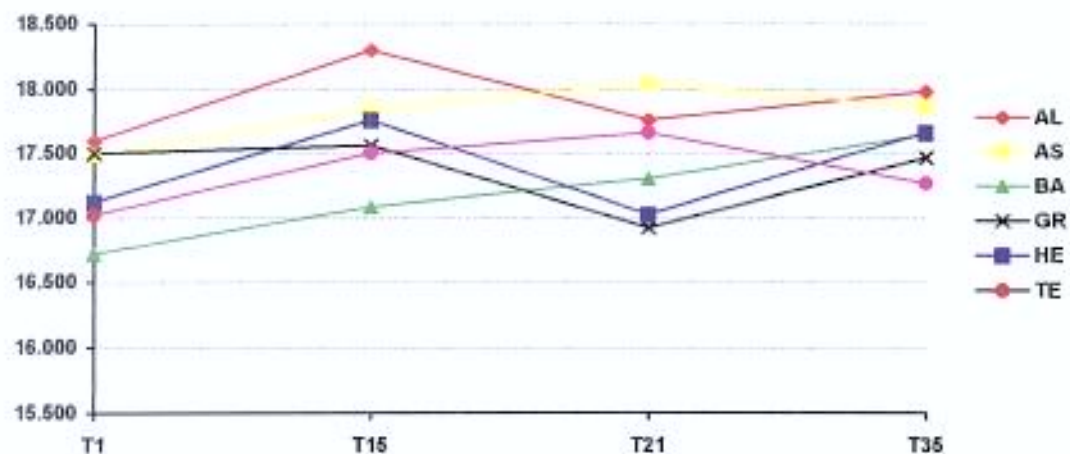


Gráfico 5: Determinação da distribuição do tamanho dos eritrócitos nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.6. DETERMINAÇÃO DE HEMOGLOBINA PLASMÁTICA (mg/dl) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

Observamos que, durante o tempo de preservação, a quantidade de hemoglobina livre no plasma tende a aumentar, com diferença significativa entre as bolsas testadas em T 21 ($p= 0,0004$). As bolsas GR e BA apresentaram níveis de hemoglobina plasmática significativamente menores ($GR= 299,200 \pm 6,760$; $BA=300,200 \pm 12,872$) do que os observados nas AL ($366,200 \pm 54,609$), TE ($384,400 \pm 48,675$), HE ($386,000 \pm 39,115$) e AS ($389,200 \pm 30,670$). Os resultados encontram-se representados nas tabelas 6 e Gráfico 6

Tabela 6. Determinação de hemoglobina plasmática (mg/dl) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 2	T 35
BA	99.800 ± 9.974	172.200 ± 28.003	300.200 ± 12.872	720.600 ± 45.954
TE	110.200 ± 16.315	145.800 ± 41.026	384.400 ± 48.675	707.400 ± 72.03
HE	110.400 ± 12.361	161.200 ± 27.598	386.000 ± 39.115	594.200 ± 99.89
GR	101.400 ± 10.163	171.800 ± 26.565	299.200 ± 6.760	697.200 ± 67.78
AS	113.200 ± 17.282	145.400 ± 41.167	389.200 ± 30.670	714.600 ± 69.359
AL	110.200 ± 11.166	155.800 ± 34.230	366.200 ± 54.609	581.800 ± 169.60

ANALISE DE VARIÂNCIA	P= VALUE
Interação	0.0125 (*)
T1	0.5093
T15	0.6801
T21	0.0004 (*)
T35	0.0893

*diferenças estatisticamente significativas

DETERMINAÇÃO DE Hb PLASMA mg/dl

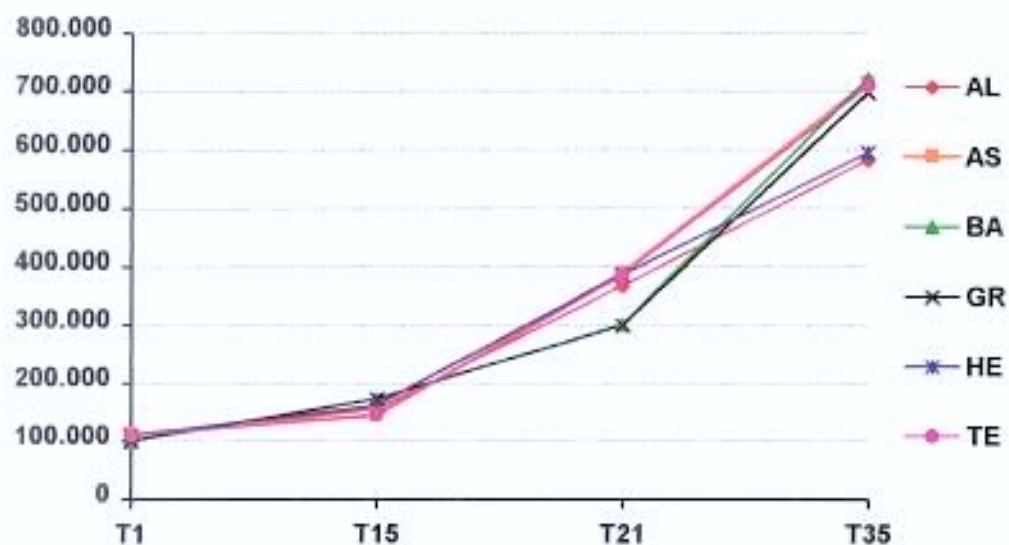


Gráfico 6: Determinação de hemoglobina plasmática nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.7. DETERMINAÇÃO DE ATP ($\mu\text{mol/gHb}$) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

Observando-se os resultados, nota-se que os valores de ATP caíram significativamente a partir do 15º dia.

Desconsiderando - se os tempos de armazenamento, observamos que as bolsas HE apresentaram níveis de ATP significativamente maiores ($p=0,0020$) do que os obtidos nas medianas das AL e AS (HE= 3,90; AL= 3,14 e AS= 3,21)

Os resultados encontram-se representados nas tabelas 7 e Gráfico 7.

Tabela 7: determinação de ATP ($\mu\text{mol/gHb}$) em diferentes bolsas de coleta de sangue de acordo com os tempos de armazenamento.

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	4.306 $\pm$ 0.435	4.008 $\pm$ 0.396	3.814 $\pm$ 0.307	2.704 $\pm$ 0.232
TE	4.352 $\pm$ 0.437	3.674 $\pm$ 0.408	3.640 $\pm$ 0.265	2.462 $\pm$ 0.360
HE	4.526 $\pm$ 0.174	4.226 $\pm$ 0.482	3.898 $\pm$ 0.225	2.822 $\pm$ 0.598
GR	3.822 $\pm$ 0.440	3.596 $\pm$ 0.594	2.968 $\pm$ 0.505	2.642 $\pm$ 0.336
AS	3.800 $\pm$ 0.576	3.174 $\pm$ 0.408	2.730 $\pm$ 0.923	2.468 $\pm$ 0.516
AL	3.910 $\pm$ 0.334	3.234 $\pm$ 0.604	2.946 $\pm$ 0.316	2.074 $\pm$ 0.466

P- VALUE	
Análise de Variância	0.3262
Kruskal- Wallis	0.0020 (*)

*diferença estatisticamente significativa

DETERMINAÇÃO DE ATP ($\mu\text{mol/gHb}$)

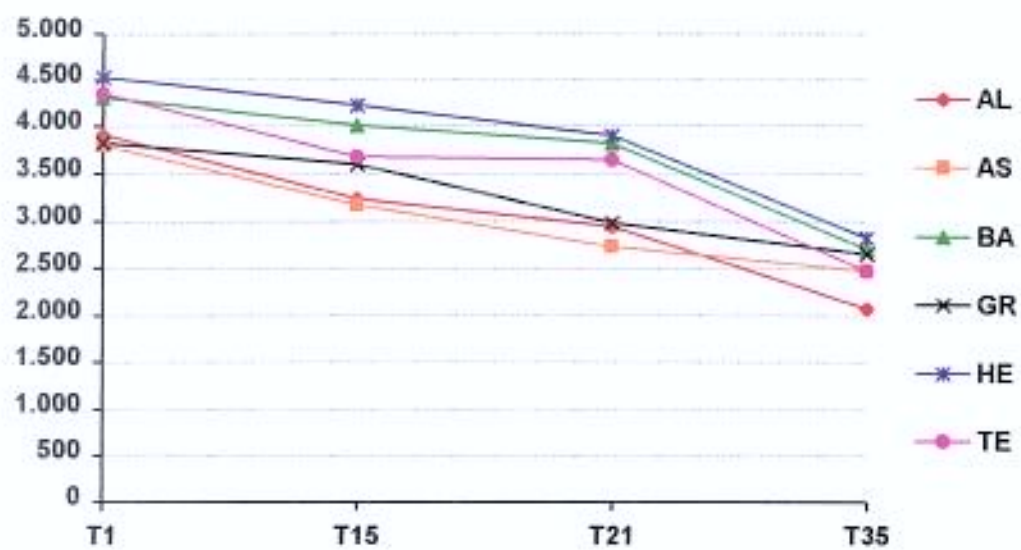


Gráfico 7: Determinação de ATP nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.8. DETERMINAÇÃO DE pH EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

Houve tendência à queda do pH durante o armazenamento das bolsas de coleta. Esta redução foi significativa entre as bolsas, no que se refere a T15 ($p= 0,0174$) e T35 ($p= 0,0001$).

Em T15, as bolsas AS e GR apresentaram um pH significativamente maior ($AS= 6,752 \pm 0,068$; $GR= 6,732 \pm 0,120$), em relação às HE ($6,603 \pm 0,052$) e BA ($6,611 \pm 0,049$). As AS foram, ainda, significativamente diferentes das bolsas TE ($6,624 \pm 0,040$).

No 35º dia, as bolsas GR, AL e AS também apresentaram pH significativamente maior ($GR= 6,666 \pm 0,123$; $AL= 6,694 \pm 0,115$; $AS= 6,629 \pm 0,109$), em relação às HE ($6,419 \pm 0,031$), BA ($6,408 \pm 0,087$) e TE ($6,391 \pm 0,072$).

Em T 21, apesar de não significativa ($p=0,0627$), houve tendência de diferença entre as bolsas.

Os resultados encontram-se representados nas tabelas 8 e Gráfico 8

Tabela 8. Determinação de pH em diferentes bolsas de coleta de sangue de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	6.971 ± 0.039	6.611 ± 0.049	6.535 ± 0.068	6.408 ± 0.087
TE	6.954 ± 0.087	6.624 ± 0.040	6.574 ± 0.063	6.391 ± 0.072
HE	6.906 ± 0.097	6.603 ± 0.052	6.564 ± 0.065	6.419 ± 0.031
GR	6.904 ± 0.058	6.732 ± 0.120	6.646 ± 0.062	6.666 ± 0.123
AS	6.950 ± 0.063	6.752 ± 0.068	6.623 ± 0.052	6.629 ± 0.109
AL	6.910 ± 0.044	6.715 ± 0.117	6.606 ± 0.028	6.694 ± 0.115

ANALISE DE VARIÂNCIA	P-VALUE
Interação	0.0001 (*)
T1	0.4843
T15	0.0174 (*)
T21	0.0627
T35	0.0001 (*)

* diferenças estatisticamente significativas

DETERMINAÇÃO DE pH

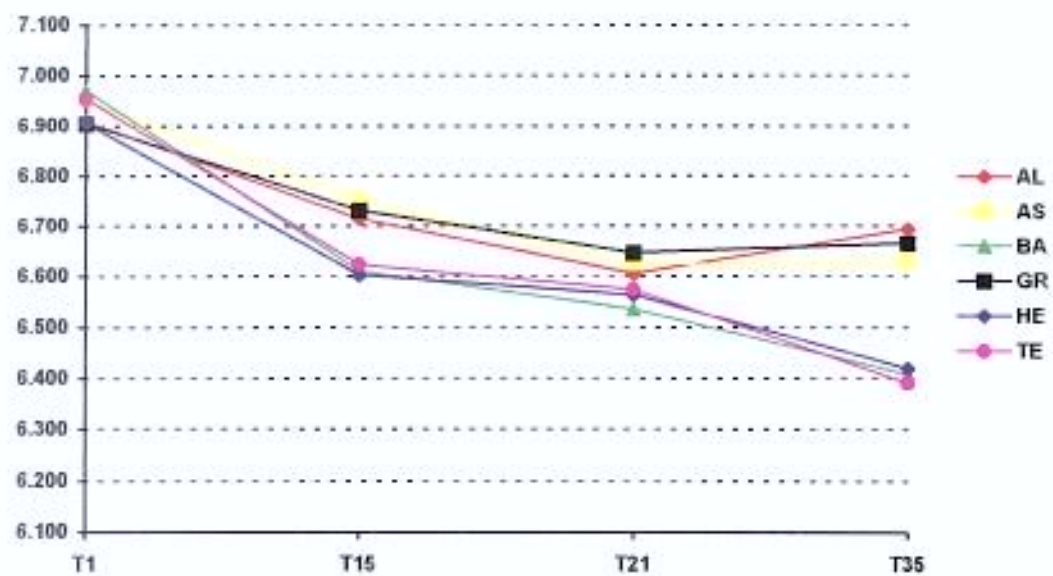


Gráfico 8: Determinação de pH nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.9. DETERMINAÇÃO DE PO₂ (mmHg) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

A análise estatística mostra interação entre o tempo de armazenamento e as bolsas testadas ($p= 0,0199$), porém, não houve diferença significativa entre as mesmas quando analisadas em cada um dos tempos.

Os resultados encontram-se representados nas tabelas 9 e Gráfico 9

Tabela 9. Determinação de pO₂ (mmHg) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	36.920 ± 12.3104	34.5400 ± 11.2937	37.1600 ± 12.0799	41.8600 ± 12.1443
TE	34.920 ± 12.811	39.280 ± 10.214	43.960 ± 9.704	56.960 ± 9.744
HE	34.220 ± 3.793	37.900 ± 4.529	41.640 ± 5.785	49.560 ± 9.591
GR	38.160 ± 13.280	47.140 ± 11.664	48.380 ± 11.974	58.000 ± 12.226
AS	32.660 ± 5.633	35.000 ± 5.873	43.200 ± 14.772	43.340 ± 6.869
AL	36.320 ± 12.365	50.620 ± 12.902	51.020 ± 11.070	57.180 ± 13.070

ANALISE DE VARIÂNCIA	P= VALUE
Interação	0.0199 (*)
T1	0.9705
T15	0.0830
T21	0.4619
T35	0.0786

*diferença estatisticamente significativa

DETERMINAÇÃO DE pO_2 (mm Hg)

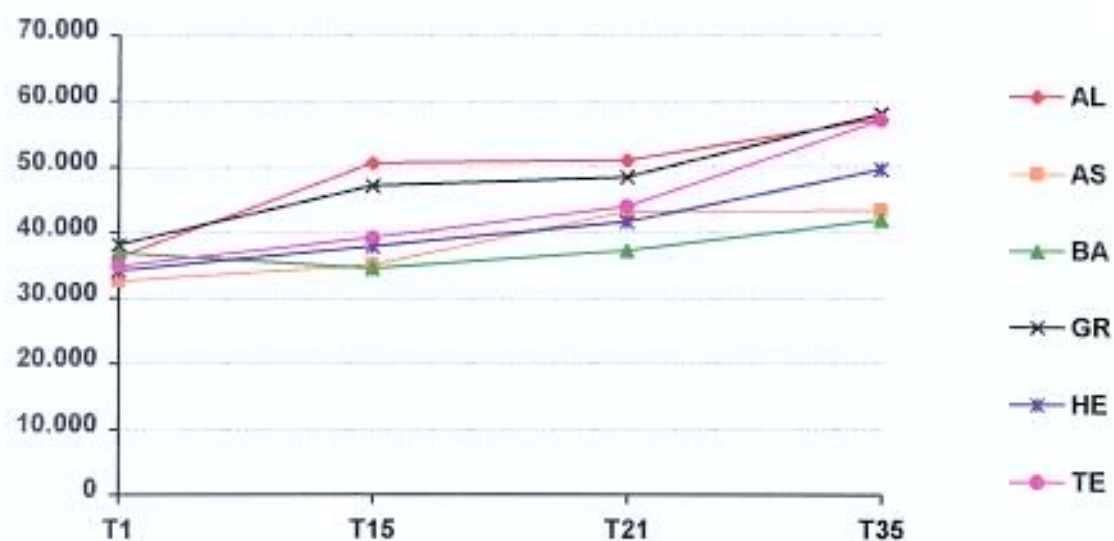


Gráfico 9: Determinação de pO_2 nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.10. DETERMINAÇÃO DE PCO₂ (mmHg) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

A análise estatística não demonstra interação entre o tempo de armazenamento e as bolsas de coleta (p= 0,5475).

Desconsiderando-se os tempos de armazenamento, também não houve diferença significativa entre as bolsas analisadas (p= 0,9).

Os resultados encontram-se representados nas tabelas 10 e Gráfico 10.

Tabela 10. Determinação de pCO₂ (mmHg) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	86.080 ± 11670	146.860 ± 8.330	156.020 ± 38.599	173.040 ± 34.468
TE	99.340 ± 33736	145.580 ± 4.378	144.560 ± 20.748	140.020 ± 9.495
HE	110.280 ± 28409	153.620 ± 10.058	145.480 ± 20.346	135.360 ± 10.405
GR	104.980 ± 16384	139.260 ± 23.867	165.220 ± 37.658	153.840 ± 48.075
AS	90.980 ± 13978	137.740 ± 27.531	167.040 ± 38.352	176.460 ± 49.177
AL	101.060 ± 2491	134.220 ± 27.411	161.800 ± 10.914	147.700 ± 58.130

P= VALUE	
Análise de Variância	0.5475
Kruskal- Wallis	0.9000

DETERMINAÇÃO DE $p\text{CO}_2$ mmHg

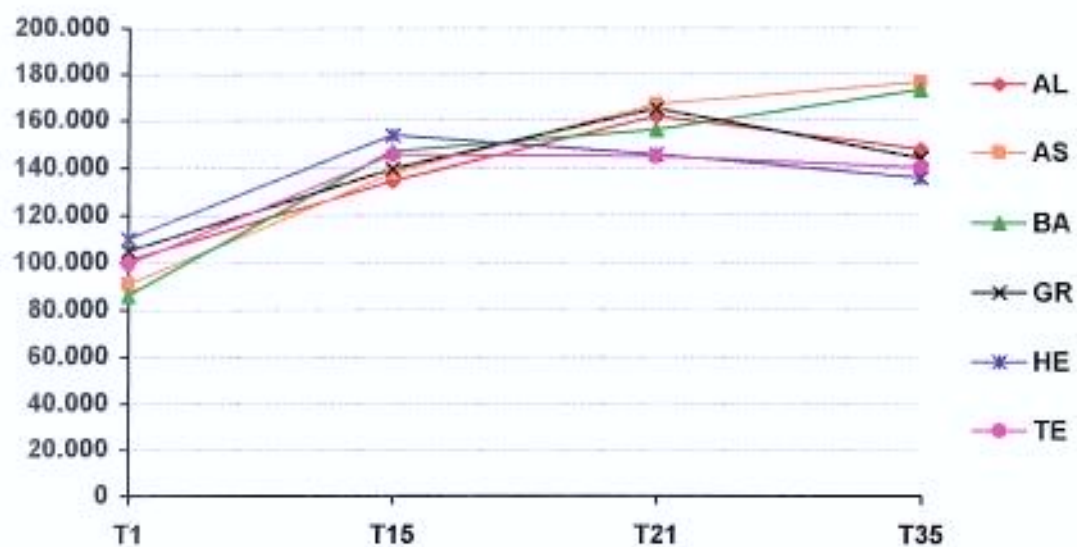


Gráfico 10: Determinação de $p\text{CO}_2$ nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.11. DETERMINAÇÃO DE 2,3 DPG($\mu\text{mol/gHb}$) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

Houve tendência à redução do 2,3 DPG durante o tempo de armazenamento.

A análise estatística mostrou diferença significativa entre bolsa e tempo ($p=0,0334$), evidente nos tempos T1 ($p=0,0198$) e T15 ($p=0,0096$).

Em T1, as bolsas AL apresentaram níveis de 2,3 DPG significativamente superiores aos observados TE e HE (AL= $16,614 \pm 2,831$; TE = $13,830 \pm 0,457$ e HE = $12,656 \pm 0,465$).

As bolsas HE apresentaram níveis de 2,3 DPG significativamente inferiores aos das BA, GR e AS (BA= $14,076 \pm 0,240$; GR= $15,354 \pm 2,543$ e AS= $16,172 \pm 2,400$).

Em T15, as bolsas GR e AS apresentaram valores significativamente superiores de 2,3 DPG comparadas às TE, BA e HE. As bolsas AL também apresentaram níveis significativamente maiores de 2,3 DPG, quando comparadas às BA e HE.

Os resultados encontram-se representados nas tabelas 11 e Gráficos 11.

Tabela 11. Determinação de 2, 3 DPG ($\mu\text{mol/gHb}$) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 2	T 35
BA	14.076 $\pm$ 0.240	3.556 $\pm$ 1.172	2.498 $\pm$ 0.760	1.428 $\pm$ 0.424
TE	13.830 $\pm$ 0.457	3.904 $\pm$ 1.770	2.456 $\pm$ 0.968	1.630 $\pm$ 0.409
HE	12.656 $\pm$ 0.465	2.842 $\pm$ 0.714	2.246 $\pm$ 0.818	1.498 $\pm$ 0.604
GR	15.354 $\pm$ 2.543	8.248 $\pm$ 3.488	4.650 $\pm$ 2.069	2.028 $\pm$ 1.606
AS	16.172 $\pm$ 2.400	8.048 $\pm$ 3.846	4.556 $\pm$ 3.238	1.566 $\pm$ 0.753
AL	16.614 $\pm$ 2.831	7.418 $\pm$ 3.901	4.164 $\pm$ 2.166	1.218 $\pm$ 0.344

ANALISE DE VARIÂNCIA	P-VALUE
Interação	0.0334 (*)
T1	0.0198 (*)
T15	0.0096 (*)
T21	0.1498
T35	0.7396

*diferenças estatisticamente significativas

DETERMINAÇÃO DE 2,3 DPG $\mu\text{mol/gHb}$

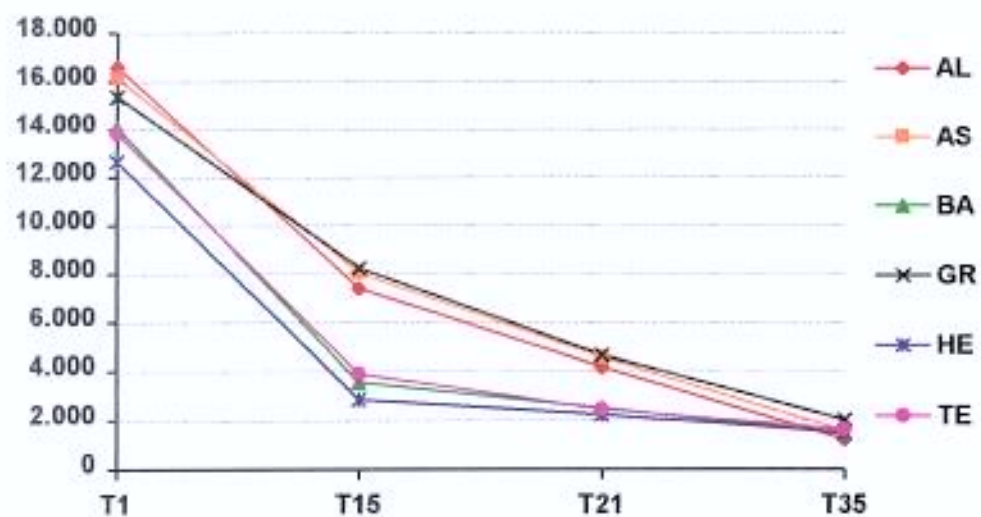


Gráfico 11: Determinação de 2,3 DPG nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.12. DETERMINAÇÃO DE SÓDIO PLASMÁTICO (mEq/l) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE, DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

Observa-se que o sódio plasmático tende a diminuir com o tempo de armazenamento.

A análise estatística mostrou diferença significativa entre bolsa e tempo ($p=0,0001$), evidente nos tempos T1 ($p=0,0276$), T21 ($p=0,0001$) e T35 ($p=0,0154$)

Em T1, as bolsas AS ($159,2 \pm 12,13$), GR ($152,8 \pm 13,66$), TE ($150,2 \pm 23,10$) e AL ($148,6 \pm 15,05$) apresentaram níveis de Na plasmático significativamente inferiores aos observados na BA ($182,4 \pm 22,30$)

Em T21, as bolsas AS, AL e GR apresentaram valores significativamente superiores de Na plasmático comparadas às TE, BA e HE ($122,0 \pm 5,70$)

Em T35, as bolsas HE, AS, GR, AL apresentaram valores significativamente superiores de Na plasmático comparadas às BA.

Os resultados encontram-se representados nas tabelas 12 e Gráfico 12

Tabela 12. Determinação de sódio plasmático (mEq/l) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	182,400 ± 22,30	140,600 ± 4,15	116,000 ± 9,61	103,000 ± 6,70
TE	150,200 ± 23,10	137,600 ± 3,64	115,000 ± 3,53	107,000 ± 4,47
HE	166,800 ± 4,20	145,800 ± 8,13	122,000 ± 5,70	134,000 ± 31,70
GR	152,800 ± 13,66	151,800 ± 11,21	142,000 ± 7,31	123,000 ± 6,55
AS	159,200 ± 12,13	151,800 ± 12,04	150,600 ± 12,77	125,400 ± 7,12
AL	148,600 ± 15,05	155,400 ± 15,2	142,000 ± 5,56	122,200 ± 3,03

ANALISE DE VARIÂNCIA	P-VALUE
Interação	0.0001 (*)
T1	0.0276 (*)
T15	0.0612
T21	0.0001 (*)
T35	0.0154 (*)

*diferenças estatisticamente significativas

DETERMINAÇÃO DE Na^+ PLASMÁTICO mEq/l

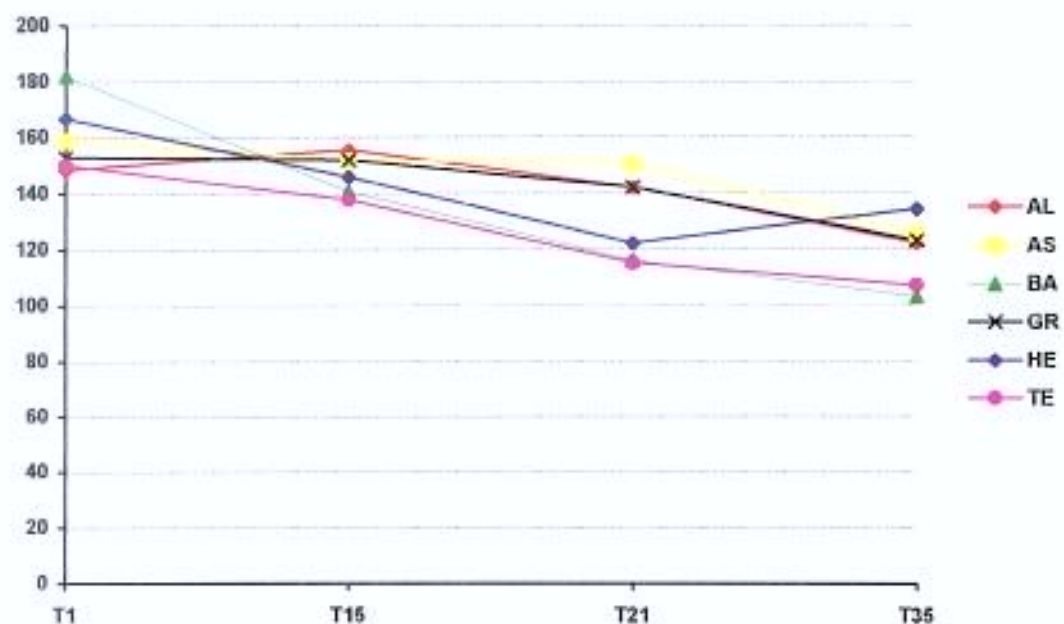


Gráfico 12: Determinação de sódio plasmático nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

4.13. DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO PLASMÁTICO (mEq/l) EM DIFERENTES BOLSAS DE COLETA DE SANGUE DE ACORDO COM OS TEMPOS DE ARMAZENAMENTO.

Observa-se que não houve diferença significativa entre as bolsas, considerando-se ou não o tempo de armazenamento ($p > 0,3$). Os resultados encontram-se representados nas tabelas 13 e Gráfico 13.

Tabela 13. Determinação de potássio plasmático (mEq/l) em diferentes bolsas de coleta de sangue, de acordo com os tempos de armazenamento

BOLSAS	T 1	T 15	T 21	T 35
BA	8.440 ± 2.251	36.900 ± 3.189	44.300 ± 4.957	60.200 ± 5.596
TE	8.300 ± 1.350	31.700 ± 5.167	37.100 ± 7.144	57.200 ± 6.129
HE	8.080 ± 0.697	34.100 ± 2.329	41.600 ± 4.463	54.740 ± 10.067
GR	10.120 ± 2.166	35.540 ± 4.621	44.000 ± 2.828	56.400 ± 2.966
AS	10.060 ± 3.171	30.400 ± 5.504	46.400 ± 6.580	52.800 ± 6.180
AL	8.620 ± 3.951	34.800 ± 5.630	41.400 ± 2.607	58.600 ± 1.013

P- VALUE	
Análise de Variância	0.3559
Kruskal Wallis	0.3040

DETERMINAÇÃO DE K^+ PLASMÁTICO (mEq/l)

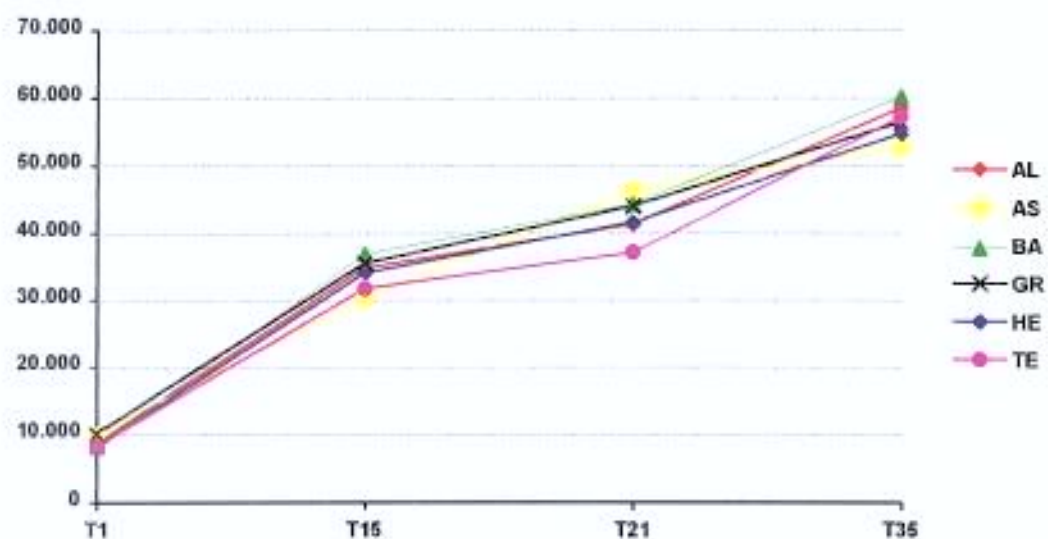


Gráfico 13: Determinação de potássio plasmático nas 6 diferentes bolsas e diferentes tempos

5. DISCUSSÃO

O presente estudo teve o objetivo de avaliar o comportamento de hemácias preservadas em seis diferentes bolsas de coleta de sangue, utilizadas em nosso serviço: Hemobag® (HE), Asem® (AS), Halex Istar® (AL), Grifols® (GR), Baxter® (BA) e Terumo® (TE).

O desenvolvimento de bolsas plásticas flexíveis e sistemas múltiplos de acondicionamento de sangue, revolucionou os serviços de hemoterapia, permitindo a rápida e fácil preparação dos componentes do sangue. Plastificantes, como o di-octil-ftalato (DOP), usados como diluentes do poli (cloreto) de vinila (PVC) na fabricação de bolsas de coleta de sangue, migram para o interior das mesmas, durante a armazenagem (AUTIAN, 1973; GESLER, 1973) e ligam-se às lipoproteínas do plasma, conferindo às hemácias menor fragilidade osmótica e melhor filtrabilidade (ESTEP et al., 1984; HOROWITZ et al., 1985_b).

Aparentemente, o DOP é um excelente estabilizador das hemácias durante a armazenagem (WOLFE, 1985), mas sua associação com o eritrócito depende de fatores como o volume de plasma residual, obtido após o fracionamento (ROCK et al., 1984). Bolsas com maior hematócrito e, portanto, menor volume de plasma residual, podem propiciar um maior contato do DOP com as hemácias. Entretanto, quando o hematócrito exceder 75% ocorrerá menor oferta de substrato à hemácia, conduzindo a alterações do metabolismo (GENETET & MANNONI, 1980_b).

No presente estudo, as bolsas AL e GR apresentaram hematócrito significativamente maior, se comparadas às HE, provavelmente porque a separação do plasma, num sistema fechado, como o das bolsas duplas ou triplas, se dá, habitualmente, de modo empírico, através da análise visual. Apesar das diferenças observadas, os valores de hematócrito das bolsas testadas estiveram dentro dos padrões aceitos internacionalmente (AABB). Observamos, também, que as GR, no T21, apresentaram concentração de hemoglobina plasmática menor do que a das HE, sugerindo menor hemólise nas bolsas com maior hematócrito.

O aumento da hemoglobina plasmática pode, também, estar relacionado às concentrações de DOP nas bolsas, durante a fabricação, já que os diferentes processos de produção do DOP ou a associação dele com outras plastificantes, ou a relação DOP/ óleo de soja, podem ocasionar maior ou menor migração do DOP para as células. Assim, se a quantidade deste for menor do que o recomendado, pode ocorrer hemólise, com liberação de hemoglobina para o plasma. Infelizmente, não nos foi possível obter dos fabricantes os valores de DOP nas diferentes bolsas.

Estudos *in vitro* demonstram que quantidades de DOP acima do preconizado para a fabricação de bolsas de coleta de sangue não afetam diretamente o metabolismo eritrocitário, não modificando os níveis de ATP; 2,3 DPG e eletrólitos intracelulares (JAMES et al., 1988).

A manutenção da forma discóide da hemácia depende de um constante gasto de energia que utiliza, principalmente, ATP (GENETET & MANNONI, 1980_b). Assim, níveis de ATP são bons indicadores do metabolismo intermediário do glóbulo vermelho. A redução destes níveis acarreta a perda da capacidade das células fosforilarem a glicose, transformação de ADP e AMP em ATP.

Neste estudo, os níveis médios de ATP encontrados foram semelhantes aos observados por MOORE, LEDFORD, BROOKS (1979), porém maiores do que os encontrados por ZUCK et al., (1977) e MOROFF & DENDE (1983). Estas variações podem ser atribuídas às diferenças nas metodologias utilizadas, níveis de adenina das bolsas (DERN & WIORKOWSKI, 1969), ou às formas diferentes de armazenamento.

No presente trabalho, observamos também diminuição de ATP, a partir do 15^o dia de armazenamento, em todas as bolsas estudadas. Notamos, ainda, que a mediana dos valores de ATP foi maior nas bolsas HE do que nas AL e AS. É possível que o menor hematócrito observado nas bolsas HE tenha contribuído para esta diferença, uma vez que o maior volume de plasma residual, durante a preservação, determinaria maior efeito tampão, estimulando a produção de ATP. É possível que, o fosfato presente no plasma ative a

glicólise e a produção de ácido láctico, com acidificação do meio, redução dos níveis de 2,3 DPG e maior geração de ATP.

A manutenção de níveis adequados de ATP, durante o armazenamento das hemácias, atrasa o envelhecimento celular *in vitro*, proporcionando maior sobrevivência das células após a transfusão (BEUTLER & MASOUREDIS, 1995). WOLFE (1985) observou que níveis de ATP inferiores a 10 ou 15% do normal levavam à formação de espículas nas hemácias armazenadas. Após 28 horas de depleção de ATP, haveria formação de esferoeritrócitos, com diminuição da área de superfície das células, perda de lipídios e redução da viabilidade das hemácias. Dados de DERN, BREWER, WIORKOWSKI (1967) revelaram que, quando os níveis de ATP caem abaixo de 1,5 $\mu\text{mol/g Hb}$, a viabilidade das células vermelhas é, normalmente, prejudicada.

Foi demonstrado por MAZOR, DVILANSKY, MEYERSTEIN (1994) que o pH inicial da unidade de sangue (pH 7,0), durante o uso de solução de Meryman's (100mM glicose; 55mM manitol; 17,9 mM citrato; 25,8mM K_2HPO_4 ; 14,7mM KH_2PO_4 ; 50mM NH_4Cl e 2mM adenina), contribui para a elevação dos níveis de ATP. Estes autores verificaram que os níveis intracelulares de ATP não aumentaram durante a primeira semana de armazenagem, estando o pH da unidade de sangue inferior a 7,0, mesmo que o meio fosse enriquecido com alta concentração de fosfato, adenina e glicose. Com pH 7,0, a glicose-6-fosfato (G6P) acumula - se (MINAKAMI & YOSHIKAWA, 1965) e o desvio para a via das pentoses é altamente estimulado (ALBRECHT et al., 1971), com maior transferência de fosforribose. Assim, foi proposto que os efeitos combinados de pH ótimo, adenina e fosfato contribuem para manter a capacidade das células vermelhas sintetizarem nucleotídeos purina.

No presente estudo, observamos, no 15^o dia de armazenamento queda de pH e de 2,3 DPG. O pH ácido, como citado anteriormente, pode acarretar a diminuição do 2,3 DPG, por inibição da difosfogliceromutase e ativação da difosfoglicerato fosfatase.

Também observamos, nos dias 15^o e 35^o, menores níveis de pH nas bolsas HE, TE e BA, em relação à AS, GR e AL. Podemos atribuir estas diferenças aos meios de suspensão de hemácias, os quais podem variar em osmolaridade e pH iniciais (GIBSON, 1964), ou às diferenças no hematócrito.

A capacidade da hemoglobina transportar o oxigênio e cedê-lo aos tecidos depende dos níveis de 2,3DPG, porque este substrato regula a afinidade da hemoglobina ao O₂. Baixos níveis de 2,3 DPG determinam o aumento desta afinidade, e altos níveis, a diminuição da mesma.

Além do pH, outros fatores contribuem para a diminuição dos níveis de 2,3DPG, tais como baixa temperatura; alta taxa de ADP e diminuição da relação NAD/NADH. Quando o sangue é estocado em CPDA-1, a queda dos níveis de 2,3 DPG, nos primeiros 12 a 14 dias de armazenamento, pode ser considerada leve (MOLLISON et al., 1993).

Neste trabalho, observamos que, em T1, as bolsas TE, BA e HE tiveram valores de 2,3 DPG menores em relação aos das AL, AS e GR. No 15^o dia de armazenamento, estas diferenças ainda persistiram, acompanhadas por uma redução do pH. A partir do 15^o dia, os níveis de 2,3 DPG foram semelhantes nas diferentes bolsas, provavelmente por um mecanismo regulatório da via glicolítica.

Dados apresentados por MOROFF & DENDE (1983) indicam que, durante a primeira semana de armazenamento e na ausência de adenina, há menor variação nas concentrações de 2,3 DPG. Entretanto, nas semanas subsequentes, as variações independem da presença da adenina. Deste modo, embora estudos conduzidos no fim dos anos 60 indiquem que a adenina acelere a perda de 2,3 DPG (SIMON, CHAPMAN, FINCH, 1962; BUNN et al., 1969; CHANUTIN, 1967; BEUTLER, 1976), resultados recentes não confirmaram estes dados. Aparentemente, a adição de 0,25 mM de adenina teria pequena ou nenhuma influência sobre o decréscimo de 2,3 DPG. Outros autores demonstraram maior decréscimo de 2,3 DPG (MOORE, LEDFORD, PECK, 1980) em unidades de hemácias coletadas em CPDA1 e com níveis de hematócrito próximos a 70%.

Deste modo, o tempo em que a unidade coletada foi mantida sem refrigeração, o hematócrito inicial ou a composição do anticoagulante podem ter contribuído para o decréscimo de 2,3 DPG durante a armazenagem.

A redução do pH do sangue conservado é, como vimos, um fenômeno normal durante a estocagem, devido à produção de ácido láctico pelos eritrócitos, provenientes do metabolismo da glicose. Entretanto, a queda acentuada do pH conduz a uma diminuição imediata da deformabilidade das hemácias, interrupção da geração de ATP e formação de estomatócitos(WOLFE, 1985).

Neste estudo, valores do volume corpuscular médio (VCM) não variaram nas diferentes bolsas analisadas, corroborando os dados de NAKÃO et al. (1981) e GREENWALT, SOSTOK, DUMASWALA (1990), que não observaram correlação entre VCM e tempo de armazenamento das hemácias, nem modificação dos valores de VCM, após rejuvenescimento das células, com adenina ou inosina. Também não observamos diferenças significativas nos valores de RDW.

As variações no volume das hemácias durante a preservação deve-se, principalmente à falência da bomba $\text{Na}^+ / \text{K}^+ / \text{ATPase}$, ao acúmulo de substâncias osmóticas e à perda progressiva da área de superfície (WALLAS, 1979; BEUTLER, KUHL, WEST, 1982; HARADIN, WEED, REED, 1969). Isto é acompanhado por perda de potássio e ganho de sódio intracelulares. Entretanto, os efeitos iniciais do anticoagulante no pH e na osmolaridade plasmática podem causar significativo aumento do volume celular (VALERI, 1974).

As hemácias produzem lactato intracelular e acumulam íons cloreto, mas somente após seis semanas de estocagem podem apresentar um acréscimo de 15 a 20% no seu volume, em relação aos valores iniciais (TANAKA & SCHROIT, 1983; VALERI & HIRSCH, 1969). Deste modo, estes efeitos combinados, ou seja, a perda da área de superfície e o acúmulo de sódio intracelular podem se refletir em uma queda de 10 a 15% no volume das células.

No presente trabalho, observamos que, no 35^o dia de armazenamento, os valores da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram menores nas bolsas AL, AS e GR do que nas HE, BA e TE. É interessante ressaltar que, no 35^o dia, houve correlação inversa entre os valores de CHCM e o pH das bolsas, sugerindo perda da superfície das hemácias ou formação de microvesículas, durante o armazenamento.

A preservação dos níveis de sódio e potássio no sangue conservado depende, basicamente, da manutenção da bomba Na^+/K^+ , que, por sua vez, é dependente de ATP. Como os níveis de ATP decaem lenta e gradativamente, seria de se esperar que o funcionamento da bomba de sódio e potássio acompanhasse esta queda. De fato, no presente estudo, observamos, durante a estocagem das hemácias, redução do sódio plasmático. Os níveis de potássio plasmático, por sua vez, aumentaram, indicando falência da bomba Na^+/K^+ . Esta falência poderia causar variação no volume das hemácias e perda progressiva da área de superfície.

Nossos resultados mostraram, que as bolsas BA apresentaram no primeiro dia de armazenamento, valor de sódio plasmático maior do que o das AS, GR, TE e AL. Entretanto, durante a preservação desta bolsa (BA) observou-se maior queda dos níveis de sódio plasmático, atingindo valores significativamente menores no 35^o dia.

Por outro lado, a bolsa HE apresentou maiores níveis de sódio no 35^o dia de armazenamento. É possível que a alta concentração de sódio nas bolsas HE, possa estar relacionada aos maiores níveis de ATP observados durante o armazenamento

Em relação ao potássio plasmático, não observamos diferenças significativas entre as bolsas analisadas.

Ao estudarmos a permeabilidade das bolsas, isto é, a facilidade das mesmas na realização da troca de CO_2 e O_2 , de modo que o sangue armazenado absorva oxigênio do meio ambiente, verificamos que não houve diferença significativa entre aquelas estudadas. O dióxido de carbono encontrado no sangue armazenado provém de pequena, mas importante, geração deste no nível do metabolismo do ciclo das pentoses, quando existe a

transformação de D- gluconato-6-fosfato para D-ribose-5-fosfato e dióxido de carbono. O dióxido de carbono produzido tende a difundir-se lentamente nas paredes das bolsas. Neste estudo, notamos que a saída de CO₂ foi menor do que a entrada de O₂, em todas as bolsas. Este fenômeno pode estar relacionado ao grau de rugosidade interna das bolsas, permitindo uma menor saída do CO₂.

A análise geral de nossos resultados evidencia a presença de dois grupos de bolsas de sangue, com comportamentos semelhantes entre si. Um deles é composto pelas bolsas AL, AS e GR, enquanto que o outro pelas bolsas HE, BA e TE. No primeiro grupo (AL, AS, GR), os valores de pH, 2,3DPG, Hematocrito e sódio plasmático tendem a ser maiores do que no segundo grupo (HE, BA e TE). Por outro lado, quanto aos valores de VCM e ATP ocorre o inverso, isto é, tendem a ser maiores no segundo grupo. O CHCM no 35º dia também foi significativo, maior no segundo grupo. Esta última observação pode sugerir que, no 1º grupo, há menor entumescimento das hemácias (menor VCM e maior Na⁺ plasmático) e menor formação de esferocitos no 35º dia (menor CHCM), apesar dos menores níveis de ATP, possivelmente relacionados ao pH e níveis de 2,3 DPG mais elevados. Estas diferenças podem decorrer de diferentes composições do anticoagulante, formas de processamento do PVC/DOP, ou hematócritos iniciais, modificando o metabolismo das hemácias.

Assim, o uso de fracionadores automáticos, a melhor padronização da relação PVC/plastificante, da tecnologia de obtenção do filme ou da solução preservante podem talvez minimizar as diferenças observadas neste estudo.

6. CONCLUSÃO

A análise geral de nossos resultados evidencia a presença de dois grupos de bolsas de sangue, com comportamentos semelhantes entre si. Um deles é composto pelas bolsas AL, AS e GR, enquanto que o outro pelas bolsas HE, BA e TE. No primeiro grupo (AL, AS, GR), os valores de pH, 2,3DPG, Hematocrito e sódio plasmático tendem a ser maiores do que no segundo grupo (HE, BA e TE). Por outro lado, quanto aos valores de VCM e ATP ocorre o inverso, isto é, tendem a ser maiores no segundo grupo. O CHCM no 35º dia também foi significativo, maior no segundo grupo. Esta última observação pode sugerir que, no 1º grupo, há menor entumescimento das hemácias (menor VCM e maior Na^+ plasmático) e menor formação de esferocitos no 35º dia (menor CHCM), apesar dos menores níveis de ATP, possivelmente relacionados ao pH e níveis de 2,3 DPG mais elevados. Estas diferenças podem decorrer de diferentes composições do anticoagulante, formas de processamento do PVC/DOP, ou hematócritos iniciais, modificando o metabolismo das hemácias.

Assim, o uso de fracionadores automáticos, a melhor padronização da relação PVC/plastificante, da tecnologia de obtenção do filme ou da solução preservante podem talvez minimizar as diferenças observadas neste estudo.

7. SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the behavior of different blood bags using biochemical parameters capable of interpreting, *in vitro*, the erythrocyte metabolism during conservation.

The bags used in this study were made of polyvinyl chloride with Di (2 ethylhexil) Ftalato (DEHP), and citrate - phosphate - dextrose - adenine (CPDA). The red blood cells were stored in six different bags: Terumo® (TE); Baxter® (BA); Grifols® (GR); Hemobag® (HE); Asem® (AS) and Halex Istar® (AL). The red blood cells were obtained by blood separation and were stored for 35 days at 4°C.

The biochemical parameters evaluated were: plasmatic dosage of sodium and potassium by means of flame photometry; CO₂, O₂ pressure and pH which were determined by gasometry at 37°C, using the Stat Profile 5 Analyzer (Nova Biomedical, Waltham, MA) equipment; adenosine triphosphate (ATP), 2,3 diphosphoglycerate (2,3DPG) and plasmatic hemoglobin were determined by the Sigma Company commercial kit (St.Louis, MO). Distribution of erythrocyte size (RDW), corpuscular volume means (CVM), corpuscular hemoglobin concentration means (CHCM), hematocrit (Ht%) and hemoglobin percentage were determined using the Cell-Dyn 1.600 kit (Abbot Canada, U.S.A).

The analysis were performed on the 1st, 15th, 21st and 35th day of storage. In order to evaluate the results, the mean and the standard deviation of five bags of each brand were calculated.

The HE bags presented a lower hematocrit value than the AL and GR bags.

On the 21st day, the GR and BA bags presented higher plasmatic hemoglobin levels ($p=0.0020$) than those obtained using AL and AS.

On the 1st day of stored, the AL bags presented higher 2,3 DPG leves than those observed using TE and HE bags. The HE bags also presented lower 2,3 DPG levels than the BA, GR and AS bags. On the 15th day, the GR and AS bags presented higher 2,3 DPG values when compared to those of the BA and HE bags.

On the 15th day, the AS and GR bags presented a higher pH than the HE and BA bags. On the 35th day the GR, AL and AS bags also presented a higher pH than the HE, BA and TE bags.

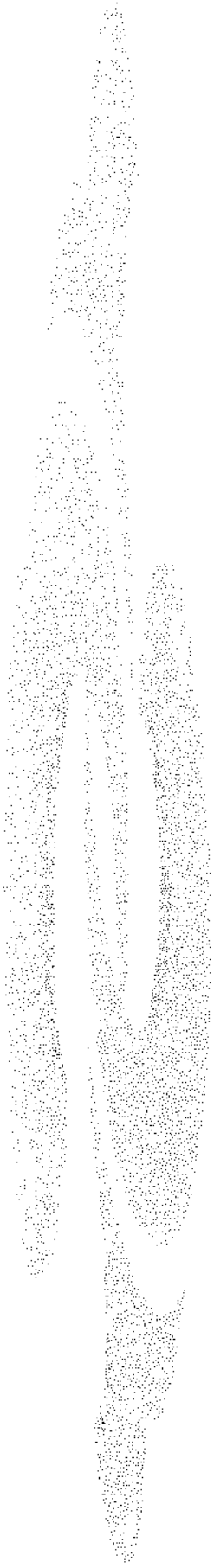
There was no significant difference between the bags in relation to pCO_2 and pO_2 , RDW and CVM.

On the 35th day of stored, the HE, BA and TE bags presented higher corpuscular hemoglobin mean concentrations than the AL, GR and AS.

On the first day, the plasmatic sodium values were higher in the BA compared to the AS, GR, TE e AL. However, on the 35 th, the levels were higher in the HE bags. No significant difference were observed related to the potassium values.

The general analysis of the results points to the presence of two groups of blood bags presenting similar behavior. In the first group (AL, AS, GR), pH; 2,3 DPG and hematocrit tend to be higher than in the second group (HE, BA and TE). The opposite occurs with CVM, CHCM and ATP values, that is, they tend to be higher in second group. This last observation suggests that, in the first group, the swelling of the red cells is lower than in the second group (lower MCV and higher to plasmatic sodium levels) as well as there is lower spherocytic formation on the 35 th day (lower MCHC), despite the lower levels of ATP, probably related to the higher pH and 2.3 DPG also observed in this group. These differences may occur due to the various compositions of the anticoagulant or the DOP processing form, which could modify the red cell metabolism.

All the values obtained are very near to those reported in literature.



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, H. - Adenosine 5'-triphosphate determination with phosphoglycerate kinase - In: **methods of enzymatic analysis**. Ed by HV Bergmeyer, Academic Press, New York, p. 539 - 43, 1963.
- AGRANENKO, V. A.; ATAULLAKHANOV, F. I.; BATASHEVA, T.V.; VITVITSKY, V.M.; ZHABOTINSKY, A.M.; PICHUGIN, A.V. - Transformation of glycolysis control characteristics in human erythrocytes during blood storage. **Folia Haematol.**, (suppl. 5): 614 - 21, 1984.
- AGRESTI, A. & FINLAY, B. - **Statistical methods for the social sciences** - 2ed. London, Collier Macmillan Publishers; 1986. P. 197 - 288.
- ALBRECHT, V.; ROIGAS, H.; SCHULTZE, M.; JACOBASCH, G.; RAPOPORT, S.- The influence of pH and methylene blue on the pathways of glucose utilization and lactate formation in erythrocytes of man. **Eur J.Biochem**, 20: 44 - 50, 1971.
- AUBUCHON, B.J.P.; ESTEP, T.N.; DAVEY, R.J. - The effect of the plasticizer Di-2-ethylhexyl phthalate on the survival of stored RBCs. **Blood**, 71:448-52, 1988.
- AUTIAN, J. - Toxicity and health threats of phthalate esters: review of the literature. **Environ. Health Pespect**, 4: 3 - 26, 1973.
- BEUTLER, B.E. & WEST, C. - The storage of hard - Packed red blood cells in citrate - phosphate - dextrose (CPD) and CPD - adenine (CPDA - 1). **Blood**, 54:280 - 84, 1979.
- BEUTLER, E & MASOUREDIS, S.P. - Preservation and clinical use of erythrocytes and whole blood. In: BEUTLER, E.; LICHTMAN, M.A.; COLLER, B.R.; KIPPS, J.- **Williams Hematology**. 5 ed. New York, Mc Graw- Hill, INC, 1995, p. 1622-1635
- BEUTLER, E.- Transcript of proceedings of the Workshop on Adenine and Red Cell Preservation. E.Simon, ed. Sponsored by the Food and Drug Administration, Bureau of Biologics, 1976.

- BEUTLER, E.; KUHL, W.; WEST, C.- The osmotic fragility of erythrocytes after prolonged liquid storage and after reinfusion. **Blood**, 59:1141 - 47, 1982.
- BLAIS, P. - DEHP in blood bags and medical plastics: their limitations. - **Canadian research**, 13 - 25, 1981.
- BRODHEIM, E. & HIRSCH, R. - Effect of adenine on blood usage strategies, shortages and outdating. **Transfusion**, 19: 105 - 106, 1979.
- BUCHER, T. - Über ein phosphatübertragendes garungs - ferment. *Biochim Biophys Acta*, 1: 292 - 94, 1947.
- BUNN, H.F.; MAY, M.H.; KOCHOLATY, W.F.; SHIELDS, C.E. - Hemoglobin function in stored blood. **J. Clin. Invest.**, 48:311 - 21, 1969.
- CAIRUTAS, C.M. - Componentes e derivados do sangue para uso terapêutico. ed. Recife, Pernambuco, 1985. 379 p.
- CALLAHAN, J.T.; COLLECUTT, M. F.; LIGHTBODY, J. R.; FARAGHER, B.S. - Alteration of human red blood cells stored in plastic packs. **Transfusion**, 22:154 - 57, 1982.
- CARMEN, R. - The selection of plastic materials for blood bags. **Transfusion medicine reviews**, VII: 1 - 10, 1993.
- CAZIN, P.; FABRE, G.; ALLARY, M.; SAINT-BLANCARD, J. - Etudes morphologiques comparatives des érythrocytes dans différents types de sangs totaux et de concentrés conservés à l'état liquid. **Revue Française de Transfusion et Immuno - hématologie**, 5:499 - 513, 1982.
- CHANUTIN, A.- The effect of the addition of adenine and nucleosides at the beginning of storage on the concentrations of phosphate of human erythrocytes during storage in acid- citrate-dextrose and citrate-phosphate-deztrose. **Transfusion**, 7:120 - 32, 1967.

- CHAPMAN, R.G.; RETTBERG, A.H.; DOUGHERTY, S. - Effect of initial storage at room temperature on human red blood cell ATP, 2,3 DPG, and viability. **Transfusion**, 17:147 - 50, 1977.
- COHEN, M.A.; PIERSKALLA, W.P.; SASSETTI, R.J. - The impact of adenine and inventory utilization decisions on blood inventory management. **Transfusion**, 23: 54 - 58, 1983.
- COLE, R.S.; TOCCHI, M.; WYE, E.; VILLENEUVE, D.C.; ROCK, G.- Contamination of commercial blood products by di-2-ethylhexyl phthalate and mono-2-ethylhexyl phthalate. **Vox Sang**, 40:317 - 22, 1981.
- CONOVER, W.J. - **Practical nonparametric statistics**, 1ed - London, Jonh Wiley & Sons, Inc., 1971. P.203 - 92.
- CONTRERAS, T.J.; SHEIBLEY, R.H.; VALERI, C.R. - Accumulation of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in whole blood, platelet concentrates, and platelet poor plasma. **Transfusion**, 14: 34 - 46, 1974.
- DAVEY, R.J.; HEATON, W.A.L.; SWEAT, L.T.; STEC, N.M.; NELSON, E.J.; HOLME, S. - Characteristics of white cell- reduced red cells stored in tri - (2-ethylhexyl) trimellitate plastic. **Transfusion**, 34: 895 - 98, 1994.
- DAWSON, R.B. - Blood storage XXIV: Red blood cell 2,3- DPG and ATP maintenance for six weeks in CPD - Adenine with higher phosphate, pyruvate, and dihydroxyacetone. **Transfusion**, 17:242 - 47, 1977.
- DAWSON, R.B. - Hemoglobin function in stored blood XIX. Inosine maintenance of 2,3 DPG for 35 days in CPD - adenine preservative. **Transfusion**, 17: 525 - 28, 1977.
- DAWSON, R.B.; FAGAN, D.S.; MEYER, D.R. - Dihydroxyacetone, pyruvate, and phosphate effects on 2,3 DPG and ATP in citrate - phosphate - dextrose - adenine blood preservation. **Transfusion**, 24:327 - 29, 1984.

- DAWSON, R.B.; HERSHEY, R.T.; MYERS, C.; HOLMES, S. - Blood preservation XXVI. CPD - adenine packed cells: Benefits of increasing the glucose. **Transfusion**, 18:339 - 46, 1978.
- DAWSON, R.B.; LEVINE, Z.; ZUCK, T.; HERSHEY, R.T.; MYERS, C. - Blood preservation XXVII. Fructose and mannose maintain ATP and 2,3 DPG. **Transfusion**, 18:347 - 52, 1978.
- DERN, R.J. & WIORKOWSKI, J.J. - Studies on the preservation of human blood IV. The hereditary component of pre- and poststorage erythrocyte adenosine triphosphate levels. **J. Lab. Clin. Med.**, 73:1019 - 29, 1969.
- DERN, R.J.; BREWER, G.J.; WIORKOWSKI, J.J. - Studies on the preservation of human blood. II. The relationship of erythrocyte adenosine triphosphate levels and other in vitro measures of red cell storage ability. **J. Lab. Clin. Med.**, 69:968 - 78, 1967.
- ESTEP, B.T.N.; PEDERSEN, R. A. ; MILLER, T.J.; STUPAR, K.R. - Characterization of erythrocyte quality during the refrigerated storage of whole blood containing di - (2-ethylhexyl) phthalate. **Blood**, 64:1270 - 76, 1984
- ESTEP, T.N., MILLER, T.J., HICKEY, G.P., MIRIPOL, J.E. - Comparasion of di-(2-ethylhexyl) phthalate distribution and red cell integrity in whole blood and adsol suspensions stored in contact with different plastic formulations. **Transfusion**, 25:477 - 80, 1985.
- GENETET, B. & MANNON, P. - Antecedentes históricos. In: **La transfusion** ed en espanol - Habana, ministerio de Cultura Editorial; Cientifico Técnico, 1980a. P. 1 - 10.
- GENETET, B. & MANNON, P. - Donación de sangre. Extraccion y organización. In: **La transfusion** ed en espanol - Habana, ministerio de Cultura Editorial; Cientifico Técnico, 1980b. p. 10 - 53.

- GENETET,B. & MANNONI,P. - Transfusion de hematies. In: **La transfusion** ed en espanol - Habana, ministerio de Cultura Editorial; Cientifico Técnico, 1980c. p.65 - 139.
- GESLER, R.M. - Toxicology of di-2-ethylhexyl-phthalate and other phthalic acid ester plasticizers. **Environ. Health Perspect.** 3: 73 - 79, 1973
- GIBSON, J.P.; REES, S.B.; MC MANUS, T.J.; SCHEITLIN, W.A. - A citrate phosphate dextrose solution for the preservation of human blood. **Amer. J.Clin. Path.**, 28:569 - 72, 1957.
- GIBSON, J. P. Approaches to red cell preservation in the liquid state. In: Bishop C, Surgenor D.M, eds. **The redblood cell**. New York: Academic Press, p. 477-89, 1964
- GREENWALT, T.J.; SOSTOK, C. Z.; DUMASWALA, U.J. - Studies in red blood cell preservation. **Vox Sang**, 58: 90 - 93, 1990
- HARADIN, A.R.; WEED, R.I.; REED, C.F.- Changes in physical properties of stored erythrocytes. **Transfusion**, 9: 229 - 37, 1969.
- HOGMAN C.F.; HEDLUND, K.; AKERBLOM,O.; VENGE, P. - Red blood cell preservation in protein - poor media. I leukocyte enzymes as a cause of hemolysis. **Transfusion**, 18: 233 - 41, 1978.
- HÖGMAN, C.F.; ERIKSSON, L.; ERICSON, A.; REPPUCCI, A.J. - Storage of saline - adenine - glucose - mannitol - suspended red cells in a new plastic container: polyvinylchloride plasticized with butyryl - n - trihexyl - citrate. **Transfusion**, 31:26 - 29, 1991.
- HÖGMAN, C.F.; VERDIER, DE C.H.; ERIKSSON, L.; SANDHAGEN, B. - Effects of oxygen and mixing on red cells stored in plastic bags at + 4° C. **Biomed. Biochim. Acta** 46:290 - 94, 1987.

- HOLME, S.; HEATON, A.; MOMODA, G. - Evaluation of a new, more oxygen - permeable, polyvinylchloride container. **Transfusion**, **29**: 159 - 64, 1989
- HOROWITZ, B.; ROWE, A.W.; STRYKER, M.H. ; VAN DER SANDE, J.; WALDMAN, A.A.; WONG, S.C.; GASS, J.D.; WOODS, K.R. - Biochemistry of whole blood in poly(ethylene-co-ethylacrlate) experimental blood containers. **Vox Sang**, **48**: 143, 1985.
- HOROWITZ, B.; STRYKER, M.H.; WALDMAN, A.A.; WOODS, K.R.; GASS, J.D.; DRAGO, J.- Stabilization of red blood cells by the plasticizer, diethylhexylphthalate ¹. **Vox Sang**, **48**: 150 - 55, 1985
- JACOBSON, M.S.; KEVY, S.V.; GRAND, R.J. - Effects of a plasticizer leached from polyvinyl chloride on the subhuman primate: a consequence of chronic transfusion therapy., **J. Lab. clin. Med.**, **89**: 1066 - 79, 1977
- JAEGER, R.J. & RUBIN, R.J. - Migration of a phthalate ester plasticizer from polyvinyl chloride blood bags into human blood and its localization in human tissues. **New Engl. J. Med.**, **287**: 1114 - 18, 1972.
- JAMES, P.; AU BUCHON; TIMETHY, N.E.; DAVEY, R.J.;- The effect of the plasticizer di - 2 ethylhexyl phtalate on the survival of stored RBCs. **Blood**, **71**: 448 - 52, 1988.
- JATENE, F.B.; VALLE, E.C.N.; AUN, F.; BIROLIN, D.; OLIVEIRA, M. R. - Valores de sódio e potássio em sangue conservado em citrato - phosphato - dextrose **Rev. Hosp. Fac. Ned. S.P.**, **37**: 171 -74, 1982.
- KEIT, A.S. - Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-linked analysis of 2,3-diphosphoglyceric acid: apectrophothometric and fluorometric procedures. **J. Lab. Clin. Med.**, **77**: 470 - 75, 1971.
- LAWRENCE C.W. - Oxidative injures to the red cell membrane during conventional blood preservation. **Sem. in Hemat.**, **26**: 307 - 12, 1989.

- LEWIS, L.M.; FLECHTNER, T.W.; KERKAY, J.; PEARSON, K.H.; NAKAMOTO, S. - Bis(2-ethylhexyl) phthalate concentrations in the serum of hemodialysis patients. **Clin Chem**, 24:741 - 46, 1978.
- LIJANA, R.C. & WILLIAMS, M.C.; - Tetramethylbenzidine. A substitute for benzidine in hemoglobin analysis. **J. Lab. Clin. Med.**, 94: 266 - 72, 1979.
- LIPPA, S.; FORNI, F.; CANDIDO, A.; AURELI, V.; MANGO, G. - Oxidative stress blood cells stored for transfusion use. **Folia Haematol.**, (supply. 1): 105 - 10, 1990.
- MASOUREDIS, S.P.- Preservation and clinical use of erythrocytes and whole blood. In: Williams, W. J.; Beutler E.; Erslev, A.J.; Lichtman, M.A.- **Hematology**. 3^o ed New York, Mc Graw - Hill Book Company, 1983. p.1529 -34
- MAZOR, D.; DVILANSKY, A.; MEYERSTEIN, N. - Prolonged storage of red cells: the effect of pH, adenine and phosphate. **Vox Sang**, 66:264 - 69, 1994
- MERYMAN, H.T.; HORNBLOWER, M.; SYRING, R.L. - prolonged storage of red cells stored at 4°C. **Transfusion**, 26: 500 - 505, 1986.
- MILLIKEN, A. & JONHSON, D.E. - **Analysis of messy data**. 1ed. New York, Van Nostrand Reinhold Company, 1984. Cap.26, p. 322 - 50.
- MINAKAMI, S. & YOSHIKAWA, H. - Inorganic phosphate and erythrocyte glycolysis. **Biochem Biophys Acta**, 99:175 - 78, 1965.
- MIRIPOL, J.E. & STERN, J. - Decreased accumulation of phthalate plasticizer during storage of blood as packed cells. **Transfusion**, 17: 71 - 2, 1977.
- MOLLISON, P.L.; ENGELFRIET, C.P.; CONTRERAS, M. - The transfusion of red cells.- **Blood trasnfusion in clinical medicine**. 9 ed.Blackwell Scientific Publications, p. 377 - 433, 1993.

- MOORE, G.L.; LEDFORD, M.E.; BOLIN, R.B. - The effects of an eight hour hold prior to component preparation on red cells drawn in CPDA-2. **Transfusion**, abstrat 20:644, 1980.
- MOORE, G.L.; LEDFORD, M.E.; BROOKS, D.E. - Plasma adenine and cellular ATP in cell red concentrates collected and stored in modified CPD at 4°C **Transfusion**, 19:68 -71, 1979.
- MOORE, G.L.; LEDFORD, M.E.; MERYDITH, A. - The biochemical effects on CPDA₂ drawn red blood cells of delayed refrigeration prior to component preparation. **Transfusion**, 22:485 - 87, 1982.
- MOORE, G.L.; LEDFORD, M.E.; PECK, C.C.- The in vitro evaluation of modifications in CPD - adenine anticoagulated - preserved blood at various hematocrits. **Transfusion**, 20: 419 - 26, 1980.
- MOORE, G.L; PECK, C.C.; SOHMER, P.R.; ZUCK, T.F. - Some properties of blood stored in anticoagulant CPDA - 1 solution. A brief summary. **Transfusion**, 21: 135 - 37, 1980.
- MOROFF, G.& DENDE, D. - Characterization of biochemical changes occurring during storage of red cells. Comparative studies with CPD and CPDA - 1 anticoagulant - preservative solutions. **Transfusion**, 23:484 - 89, 1983.
- MOROFF, G.; MORSE, E.E.; KATZ, A.J.; KAHN, R.A.; DENDE, D.; SWATMAN, L.; STAGGS, S.D. - Survival and biochemical characteristics of stored red cells preserved with citrate - phosphate - dextrose - adenine - one and two and prepared from whole blood maintained at 20 to 24° C for eight hours following phlebotomy. **Transfusion**, 24:115 -19, 1984
- MYHRE, B.A.; DEMANIEW, S.; NELSON, E.J. - Preservation of red cell antigens during storage of blood with different anticoagulants. **Transfusion**, 24:499 - 501, 1984.

- NAKÃO, M., HOSHINO, K., NAKÃO, T. - Constancy of cell volume during shape change of erythrocytes induced by increased ATP content. **J. Bioenerg Biomembr**, 13: 307 - 16, 1981.
- NAKÃO, M.; NAKÃO, T.; ARIMATSU, Y.; YOSHIKAWA, H. - A new preservative medium maintaining the level of adenosine triphosphate and the osmotic resistance of erythrocytes. **Prog Jap Acad**: 36 - 43, 1960
- NISHIGUCHI, E. & NAKAO, M. - A preservation method of blood samples for determination of glycolytic intermediates and adenine nucleotides in human blood. **Acta Haematol. JPN**, 48: 879 - 85, 1985.
- OLIVEIRA, Y.M.B. - Estudo do efeito de processos de esterilização sobre propriedades de interesse para compostos de PVC plastificado utilizados na confecção de bolsas para coleta e transfusão de sangue. Campinas, 1991. (Tese de Mestrado - faculdade de Engenharia Química - UNICAMP).
- ORLINA, A.R.; JOSEPHSON, A.M.; MC DONALD, B.; SOBUCKI, J. - Comparative Viability of blood stored in ACD and CPD. **Transfusion**, 9: 62 - 69, 1969.
- PIERRE, B. - DEHP in blood bags medical plastic: their limitations. **Canad. Res.**, june/july: 13 - 25, 1981.
- RAFTOS, J.E.; STEWART, I.M.; LOVRIC, V.A. - Supernatant hemoglobin determinations after prolonged blood storage. **Pathology**, 18: 123 - 26, 1986.
- ROCK, G. - Risks of plasticizer in blood bag. **Transfusion**, 30: 767, 1990. (abstrat 8)
- ROCK, G.; TOCCHI, M.; GANZ, P.R.; TACKABERRY, E.S. - Incorporation of plasticizer into red cells during storage. **Transfusion**, 24: 493 - 98, 1984
- ROCK, G.A.; FARRAH, G.; ROZON, G. et al - Analysis of contaminants in factor VIII preparations administered to patients with hemophilia. **Can Med Assoc J.**, 128: 403 - 408, 1983.

- ROLEIGH, C. - The selection of plastic materials for blood bags. **Transf. Med. Rev.**, 7: 1 - 10, 1993.
- RUBIN, R.J.; NESS, P.M. - What price progress? An update on vinyl plastic blood bags. **Transfusion**, 29: 358 - 61, 1989.
- SALTMAN, P. - Oxidative stress: A radical view. **Seminars in Hematology**, 26:249 - 56, 1989.
- SASAKAWA, S.; HONDA, K.; MIYAMOTO, M.; TOKUNAGA, E. - Change of Oxygen affinity of hemoglobin in different conditions of blood preservation. **Vox Sang**, 34:164 - 70, 1978.
- SHERWOOD, W.C.; GLACKIN, K.; RYKACZEWSKI, C.- Red cell 2,3 DPG: a profound reduction associated with early "room temperature" stored. **Transfusion**, abstrat, 20:644, 1980.
- SIMON, E.R.; CHAPMAN, R.G.; FINCH, C.A.- Adenine in red cell preservation. **J. Clin Invest**, 41: 351 - 9, 1962.
- SMITH, K.J.; MC DONOUGH, W.; ANGEILBECK, J.; NELSON, E. - Pre-Storage leukodepletion with a high efficiency filter: In vitro parameters and in vivo red cell recovery. **Transfusion**, 31 (suppl 185), 1991.
- STANDEFER, J.C. & VANDER J.D. - Use of tetramethylbenzidine in plasma hemoglobin assay. **Clin chem**, 23: 749 - 51, 1977.
- STERN, I.J., CARMEN R.A. - Hemolysis in stored blood: Stibilizing effect of phthalate plasticizer. **Proc. Int. Soc. Hematol Blood Transfus**, Montreal, p. 151, 1980.
- STRAUS, D.; MÄDLER, J.; SEIDEL, B. - Preservation of resuspended red cell concentrate. Red cell volume and hemolysis. **Folia Haematol.**, Leipzig 114, (suppl. 4):457 - 62, 1987.

- TANAKA, Y. & SCHROIT, A.J.- Insertion of fluorescent phosphatidylserine into the plasma membrane of red blood cells. **J.Biol Chem**, **258**: 11335 - 43, 1983.
- THOMAS, J.A.; DARBY, T.D.; WALLIN, R.F.; GARVIN, P.L.; MARTIS, L. - A review of the biological effects of di- (2-ethylhexyl) phthalate. **Toxicol Appl Pharma**, **45**: 1 - 27, 1978
- VALERI, C.R. & HIRSCH, N.M. - Restoration in vivo of erythrocyte adenosine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate, potassium ion, and sodium ion concentrations following the transfusion of acid-citrate-dextrose-stored human red blood cells. **J.Lab. Clin. Med.**, **73**: 722 - 33, 1969.
- VALERI, C.R.- Liquid and freeze preservation of human red blood cells. In: SURGENOR, DM., ed. - **The red blood cell**. New York, Academic Press, 1974, p. 511 - 73
- VALERI, C.R.; VALERI, D.A.; GRAY, A.; MELARAGNO, A.; DENNIS, R.C.; EMERSON, C.P. - Viability and function of red blood cell concentrates stored at 4°C for 35 days in CPDA-1, CPDA-2, or CPDA-3. **Transfusion**, **22**: 210 - 16, 1982.
- VECCHIONE, J.J.; MELARAGNO, A.J.; HOLLANDER, A.; DEFINA, S.; EMERSON, C.P.; VALERI, C.R. - Circulation and function of human platelets isolated from units of CPDA - 1, CPDA - 2 and CPDA - 3 anticoagulated blood and frozen with DMSO. **Transfusion**, **22**: 206 - 209, 1982.
- VERCEZE, A.V. - **Avaliação de desempenho de filmes de PVC plastificados utilizados na fabricação de bolsas de sangue**. Campinas, 1996 (Tese de Mestrado - faculdade de Engenharia Química - UNICAMP).
- VESSMAN, J. & RIETZ, G. - Formation of mono (ethylhexyl) phthalate from di (ethylhexyl) phthalate in human plasmas stored in PVC bags and its presence in fractionated plasma proteins. **Vox Sang**, **35**:75 - 80, 1978.

- VORA, S.; WEST, C.; BEUTLER, E. - The effect of additives on red cell 2,3 diphosphoglycerate levels in CPDA preservatives. **Transfusion**, 29:226 - 29, 1989.
- WALLAS, C.H.- Sodium and potassium changes in blood bank stored human erythrocytes. **Transfusion**, 19: 210 - 5, 1979.
- WALLAS, C.H.; HARRIS, A.S.; WETHERALL, N.T. - Storage and survival of red blood cells with elevated sodium levels. **Transfusion**, 22:364 - 67, 1982.
- WELLS, R.M.G.; HILL, R.S.; WOODFIELD, D. G. - Changes of blood oxygen affinity in different CPD solutions during liquid storage. **Transfusion**, 21:709 - 14, 1981
- WILEY, B.J.S.; MCCULLOCH, K.E.; BOWDEN, D.S. - Increased calcium permeability of cold - stored erythrocytes. **Blood**, 60:92 - 98, 1982.
- WOLFE, L.C. - Oxidative injuries to the red cell membrane during conventional blood preservation.. **Seminars in Hematology**, 26:307 - 12, 1989.
- WOLFE, L.C. - The membrane and the lesions of storage in preserved red cells. **Transfusion**, 25: 185 - 203, 1985.
- ZUCK, T.F.; BENSINGER, T.A.; PECK, C.C.; CHILLAR, R.K.; BEUTLER, E; BUTTON, L.N.; MACURDY, P.R.; JOSEPHSON, A.M. GREENWALT, T.J. - The in vivo survival of red blood cells stored in modified CPD with adenine. Report of a multi-institutional cooperative effort. **Transfusion**, 17:374 - 82, 1977.

9. ANEXOS

DETERMINAÇÕES DE Ht%

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	68,7	71,6	71,9	75,6
	2 ^o	77,0	76,8	73,5	76,2
	3 ^o	67,2	70,6	68,3	74,9
	4 ^o	69,3	72,2	71,5	78,3
	5 ^o	72,4	67,3	73,2	76,3
Terumo	1 ^o	68,3	69,8	71,3	74,3
	2 ^o	71,9	73,8	72,8	73,0
	3 ^o	69,9	74,7	72,6	71,5
	4 ^o	64,3	68,2	68,0	66,4
	5 ^o	69,3	69,6	70,1	70,3
Hemobag	1 ^o	68,4	70,3	65,5	69,6
	2 ^o	67,9	69,8	67,8	70,2
	3 ^o	68,1	74,0	70,9	70,4
	4 ^o	64,8	66,8	64,1	73,0
	5 ^o	68,8	70,2	71,1	68,6
Grifols	1 ^o	76,9	82,7	78,5	79,5
	2 ^o	73,2	71,4	72,4	76,7
	3 ^o	70,6	73,9	71,5	78,5
	4 ^o	70,7	73,4	71,6	69,7
	5 ^o	74,3	75,0	75,6	75,7
Asem	1 ^o	70,4	74,2	71,9	71,1
	2 ^o	70,0	75,9	72,2	78,1
	3 ^o	68,8	71,5	71,0	79,5
	4 ^o	70,0	70,0	71,6	70,1
	5 ^o	72,3	78,1	79,2	80,7
Halex istar	1 ^o	71,3	77,1	70,5	75,0
	2 ^o	73,3	73,1	74,5	73,9
	3 ^o	76,5	80,4	76,6	78,5
	4 ^o	76,5	78,2	77,9	79,2
	5 ^o	69,4	68,8	70,5	71,0

DETERMINAÇÕES DE Hb TOTAL (g/dl)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	21,5	21,8	21,4	22,8
	2 ^o	24,5	24,7	23,0	25,4
	3 ^o	21,7	21,5	20,7	24,0
	4 ^o	22,1	22,1	22,0	25,8
	5 ^o	22,8	21,4	23,1	25,5
Terumo	1 ^o	22,1	21,4	21,7	23,1
	2 ^o	22,8	22,7	22,3	24,2
	3 ^o	22,8	22,0	22,0	23,0
	4 ^o	20,5	20,3	20,9	21,9
	5 ^o	20,9	21,1	22,7	21,6
Hemobag	1 ^o	20,2	22,0	19,8	21,5
	2 ^o	21,4	21,0	20,5	22,8
	3 ^o	21,8	22,8	22,2	23,3
	4 ^o	20,5	20,2	19,1	24,1
	5 ^o	21,6	21,5	21,6	22,7
Grifols	1 ^o	25,0	26,4	24,8	24,0
	2 ^o	23,4	23,3	23,1	24,0
	3 ^o	23,4	23,7	22,8	24,2
	4 ^o	23,0	22,6	22,2	21,0
	5 ^o	23,8	22,3	21,8	22,2
Asem	1 ^o	21,9	22,8	21,4	20,5
	2 ^o	22,7	23,8	23,5	24,3
	3 ^o	21,9	22,1	21,9	24,0
	4 ^o	22,7	22,4	22,4	20,9
	5 ^o	23,4	23,2	23,5	23,2
Halex istar	1 ^o	22,8	23,7	21,0	22,1
	2 ^o	22,4	23,7	23,3	25,2
	3 ^o	25,0	25,1	23,5	23,5
	4 ^o	24,6	24,0	23,7	23,5
	5 ^o	22,1	20,4	21,8	21,7

DETERMINAÇÕES DE VCM (FL)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	102	108	108	116
	2 ^o	94	95	97	97
	3 ^o	94	97	98	102
	4 ^o	84	88	88	89
	5 ^o	94	96	98	98
Terumo	1 ^o	91	94	95	101
	2 ^o	87	90	91	91
	3 ^o	95	100	100	99
	4 ^o	90	94	94	95
	5 ^o	93	97	97	98
Hemobag	1 ^o	93	94	95	100
	2 ^o	90	93	94	94
	3 ^o	92	94	94	96
	4 ^o	86	89	90	88
	5 ^o	90	93	94	94
Grifols	1 ^o	84	87	88	89
	2 ^o	83	84	84	86
	3 ^o	80	83	83	85
	4 ^o	89	91	93	94
	5 ^o	90	94	96	98
Asem	1 ^o	80	84	84	85
	2 ^o	83	96	86	89
	3 ^o	81	83	83	100
	4 ^o	88	89	90	91
	5 ^o	94	97	99	101
Halex istar	1 ^o	75	78	78	81
	2 ^o	93	85	97	101
	3 ^o	89	92	94	96
	4 ^o	89	91	93	94
	5 ^o	85	86	86	87

DETERMINAÇÕES DE CHCM (g/dl)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	31,3	30,4	29,8	30,2
	2 ^o	31,8	32,2	31,3	33,3
	3 ^o	32,3	30,5	30,3	32,0
	4 ^o	31,9	30,6	30,8	33,0
	5 ^o	31,5	31,8	31,6	33,4
Terumo	1 ^o	32,4	30,7	30,4	31,1
	2 ^o	31,7	30,8	30,6	33,1
	3 ^o	31,8	30,5	30,3	32,2
	4 ^o	31,9	29,8	30,7	33,0
	5 ^o	31,5	30,0	30,1	32,3
Hemobag	1 ^o	31,4	31,3	30,2	30,9
	2 ^o	31,5	30,1	30,2	32,5
	3 ^o	32,0	30,8	31,3	33,1
	4 ^o	31,6	30,2	29,8	33,0
	5 ^o	31,4	30,6	30,4	33,1
Grifols	1 ^o	32,5	31,9	31,6	30,2
	2 ^o	32,0	32,6	31,9	31,3
	3 ^o	33,1	32,1	31,9	30,8
	4 ^o	32,5	30,8	31,0	30,1
	5 ^o	32,0	29,7	28,8	29,3
Asem	1 ^o	31,1	30,7	29,8	28,8
	2 ^o	32,4	31,4	32,5	31,1
	3 ^o	31,8	30,9	30,8	30,2
	4 ^o	32,4	32,0	31,3	29,8
	5 ^o	32,4	29,7	29,7	28,7
Halex istar	1 ^o	32,0	30,7	29,8	29,5
	2 ^o	30,6	32,4	31,3	30,0
	3 ^o	32,7	31,2	30,7	29,9
	4 ^o	32,2	30,7	30,4	29,7
	5 ^o	31,8	29,7	30,9	30,6

DETERMINAÇÕES DE RDW (%)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^a
Baxter	1 ^o	16,1	16,2	16,6	17,1
	2 ^o	17,8	18,2	18,2	18,3
	3 ^o	15,1	16,9	16,5	17,8
	4 ^o	18,6	17,5	18,9	18,4
	5 ^o	16,0	16,6	16,3	16,6
Terumo	1 ^o	15,6	16,5	17,0	15,8
	2 ^o	18,3	18,6	17,7	18,2
	3 ^o	17,1	17,2	17,4	17,2
	4 ^o	16,7	17,5	17,9	17,0
	5 ^o	17,4	17,7	18,3	18,1
Hemobag	1 ^o	16,5	17,7	16,1	17,4
	2 ^o	16,5	17,2	16,8	17,9
	3 ^o	16,8	17,2	16,8	17,5
	4 ^o	18,0	19,0	17,7	18,1
	5 ^o	17,8	17,7	17,7	17,4
Grifols	1 ^o	17,5	16,9	17,3	17,8
	2 ^o	18,8	18,9	18,4	18,3
	3 ^o	18,1	16,6	16,9	17,3
	4 ^o	16,9	16,9	15,7	16,4
	5 ^o	16,2	18,5	16,3	17,5
Asem	1 ^o	18,9	18,5	18,9	19,6
	2 ^o	16,9	17,2	16,8	17,0
	3 ^o	18,1	17,7	19,2	16,7
	4 ^o	17,5	18,3	18,3	19,0
	5 ^o	16,0	17,5	17,0	17,0
Halex istar	1 ^o	20,7	22,0	21,4	21,1
	2 ^o	16,1	16,3	16,7	17,1
	3 ^o	18,9	18,2	17,6	17,4
	4 ^o	16,0	16,9	16,1	17,2
	5 ^o	16,3	18,1	17,0	17,1

DETERMINAÇÕES DE Hb PLASMA (mg/dl)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	107	170	280	699
	2 ^o	90	200	301	710
	3 ^o	92	194	315	692
	4 ^o	98	168	299	700
	5 ^o	112	129	306	802
Terumo	1 ^o	120	180	310	603
	2 ^o	134	150	400	723
	3 ^o	102	191	435	805
	4 ^o	95	106	365	708
	5 ^o	100	102	412	698
Hemobag	1 ^o	98	121	320	750
	2 ^o	97	192	390	620
	3 ^o	113	150	410	582
	4 ^o	121	163	390	494
	5 ^o	123	180	420	525
Grifols	1 ^o	99	150	299	700
	2 ^o	107	200	308	612
	3 ^o	88	193	300	674
	4 ^o	98	177	289	700
	5 ^o	115	139	300	800
Asem	1 ^o	130	190	340	630
	2 ^o	134	130	400	730
	3 ^o	103	189	415	820
	4 ^o	99	108	380	703
	5 ^o	100	110	411	690
Halex istar	1 ^o	97	121	315	800
	2 ^o	100	190	396	720
	3 ^o	113	140	420	400
	4 ^o	120	133	400	489
	5 ^o	121	195	300	500

DETERMINAÇÕES DE ATP (Mmol/mgHb)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	5,08	4,70	3,56	2,94
	2 ^o	4,00	3,71	4,26	2,87
	3 ^o	4,10	3,85	3,99	2,34
	4 ^o	4,19	3,83	3,72	2,67
	5 ^o	4,09	3,95	3,54	2,70
Terumo	1 ^o	4,22	4,03	3,42	2,76
	2 ^o	4,68	3,93	3,83	2,51
	3 ^o	4,61	2,99	3,93	2,72
	4 ^o	4,50	3,76	3,31	1,86
	5 ^o	3,75	3,66	3,71	2,46
Hemobag	1 ^o	4,39	4,93	3,84	3,11
	2 ^o	4,80	4,41	4,22	2,81
	3 ^o	4,44	4,00	3,59	2,07
	4 ^o	4,60	4,15	3,90	2,48
	5 ^o	4,40	3,64	3,94	3,64
Grifols	1 ^o	3,63	3,40	2,33	2,14
	2 ^o	3,54	3,31	2,98	2,87
	3 ^o	4,23	4,60	3,65	2,82
	4 ^o	4,35	3,61	2,69	2,45
	5 ^o	3,36	3,06	3,24	2,92
Asem	1 ^o	4,60	3,57	3,25	2,60
	2 ^o	3,18	3,37	3,35	2,61
	3 ^o	3,20	3,41	3,59	2,66
	4 ^o	4,08	2,57	1,82	1,57
	5 ^o	3,30	2,95	1,64	2,90
Halex istar	1 ^o	4,22	3,12	3,20	2,05
	2 ^o	3,96	3,82	3,20	2,40
	3 ^o	3,75	3,88	3,03	2,67
	4 ^o	3,42	2,81	2,44	1,67
	5 ^o	4,20	2,53	2,86	1,58

DETERMINAÇÕES DE pH

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	7,020	6,529	6,450	6,310
	2 ^o	6,995	6,658	6,632	6,445
	3 ^o	6,919	6,630	6,506	6,340
	4 ^o	6,950	6,636	6,570	6,530
	5 ^o	6,971	6,605	6,519	6,419
Terumo	1 ^o	7,095	6,676	6,610	6,470
	2 ^o	6,936	6,568	6,527	6,340
	3 ^o	6,939	6,608	6,507	6,320
	4 ^o	6,855	6,641	6,564	6,360
	5 ^o	6,948	6,629	6,664	6,468
Hemobag	1 ^o	7,052	6,644	6,580	6,470
	2 ^o	6,855	6,521	6,481	6,416
	3 ^o	6,932	6,653	6,579	6,420
	4 ^o	6,791	6,600	6,525	6,410
	5 ^o	6,900	6,597	6,655	6,383
Grifols	1 ^o	6,818	6,639	6,577	6,730
	2 ^o	6,915	6,626	6,659	6,757
	3 ^o	6,954	6,849	6,631	6,779
	4 ^o	6,876	6,673	6,745	6,522
	5 ^o	6,957	6,876	6,619	6,545
Asem	1 ^o	6,865	6,693	6,606	6,536
	2 ^o	7,029	6,671	6,622	6,551
	3 ^o	6,974	6,767	6,713	6,565
	4 ^o	6,912	6,809	6,577	6,765
	5 ^o	6,970	6,824	6,598	6,730
Halex istar	1 ^o	6,917	6,672	6,582	6,733
	2 ^o	6,942	6,592	6,630	6,703
	3 ^o	6,911	6,835	6,627	6,772
	4 ^o	6,835	6,634	6,569	6,768
	5 ^o	6,946	6,846	6,623	6,493

DETERMINAÇÕES DE O₂ (mmHg)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	17,8	15,1	15,8	21,7
	2 ^o	47,7	42,3	43,3	51,7
	3 ^o	46,2	39,1	39,8	47,6
	4 ^o	40,8	41,7	44,8	48,8
	5 ^o	32,1	34,5	42,1	39,5
Terumo	1 ^o	27,8	36,8	42,4	51,2
	2 ^o	47,2	45,6	55,2	61,3
	3 ^o	50,4	53,4	51,9	69,6
	4 ^o	23,5	28,0	31,3	58,6
	5 ^o	25,7	32,6	39,0	44,1
Hemobag	1 ^o	38,8	43,7	47,1	62,3
	2 ^o	36,8	39,2	43,2	55,5
	3 ^o	29,9	31,9	31,8	43,2
	4 ^o	30,9	35,1	42,4	38,2
	5 ^o	34,7	39,6	43,7	48,6
Grifols	1 ^o	32,2	37,5	40,0	60,8
	2 ^o	54,2	65,0	66,1	68,3
	3 ^o	48,9	52,8	55,6	70,5
	4 ^o	34,1	38,8	39,9	45,4
	5 ^o	21,4	41,6	40,3	45,0
Asem	1 ^o	35,0	39,5	43,0	45,3
	2 ^o	23,9	29,8	32,1	35,9
	3 ^o	30,3	31,2	67,0	36,3
	4 ^o	36,5	43,0	44,2	48,7
	5 ^o	37,6	31,5	29,7	50,5
Halex istar	1 ^o	53,6	64,6	61,5	68,5
	2 ^o	45,2	61,0	63,6	64,2
	3 ^o	26,8	52,7	47,7	63,2
	4 ^o	29,6	39,5	44,0	54,3
	5 ^o	26,4	35,3	38,3	35,7

DETERMINAÇÕES DE PCO₂ (mmHg)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	83,3	191,4	210,8	212,4
	2 ^o	68,4	129,0	160,5	178,6
	3 ^o	91,2	91,0	119,3	153,2
	4 ^o	87,4	157,7	170,6	125,4
	5 ^o	100,1	165,2	118,9	195,6
Terumo	1 ^o	71,0	139,6	141,6	144,0
	2 ^o	78,9	144,4	155,3	126,2
	3 ^o	89,1	150,0	110,5	139,0
	4 ^o	156,1	149,8	164,5	138,6
	5 ^o	101,6	144,1	150,9	152,3
Hemobag	1 ^o	90,6	144,4	146,2	140,0
	2 ^o	84,9	145,3	148,2	118,6
	3 ^o	102,4	150,8	112,2	132,2
	4 ^o	155,9	159,6	167,3	141,6
	5 ^o	117,6	168,0	153,5	144,4
Grifols	1 ^o	122,9	125,2	196,2	118,7
	2 ^o	100,3	162,3	160,3	116,6
	3 ^o	80,0	131,6	170,1	121,0
	4 ^o	115,2	165,9	104,0	204,3
	5 ^o	106,5	111,3	195,5	208,6
Asem	1 ^o	95,9	154,2	163,1	177,0
	2 ^o	78,9	170,8	183,3	167,5
	3 ^o	73,9	144,7	102,1	160,1
	4 ^o	106,7	106,0	192,3	256,0
	5 ^o	99,5	113,0	194,4	121,7
Halex istar	1 ^o	89,5	147,6	167,5	109,1
	2 ^o	91,2	152,6	143,2	102,1
	3 ^o	104,2	102,2	165,2	109,2
	4 ^o	120,6	161,4	171,1	187,4
	5 ^o	99,8	107,3	162,0	230,7

DETERMINAÇÕES DE 2.3 DPG (Mmol/mgHb)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	13,86	2,56	2,59	0,92
	2 ^o	13,97	5,08	3,33	1,76
	3 ^o	14,33	4,55	2,69	1,94
	4 ^o	13,88	2,93	2,63	1,13
	5 ^o	14,34	2,66	1,25	1,39
Terumo	1 ^o	14,47	6,73	3,83	0,94
	2 ^o	13,70	4,47	1,83	1,72
	3 ^o	14,01	2,59	2,42	1,93
	4 ^o	13,22	3,28	2,88	1,94
	5 ^o	13,75	2,45	1,32	1,62
Hemobag	1 ^o	12,30	4,08	2,70	0,44
	2 ^o	12,74	2,56	1,83	1,63
	3 ^o	13,25	2,41	2,01	1,96
	4 ^o	12,09	2,35	3,40	1,68
	5 ^o	12,90	2,81	1,29	1,78
Grifols	1 ^o	13,06	2,94	1,16	1,17
	2 ^o	18,93	8,78	5,34	4,79
	3 ^o	13,53	7,43	4,47	1,39
	4 ^o	14,15	9,65	6,17	2,02
	5 ^o	17,10	12,44	6,11	0,82
Asem	1 ^o	16,59	4,38	2,47	1,22
	2 ^o	18,55	11,65	7,18	2,70
	3 ^o	12,12	3,62	2,43	1,23
	4 ^o	16,76	9,06	1,82	0,77
	5 ^o	16,84	11,53	8,88	1,91
Halex istar	1 ^o	19,68	4,79	3,42	0,99
	2 ^o	17,52	11,37	5,31	1,11
	3 ^o	12,00	11,93	7,34	1,80
	4 ^o	16,51	3,80	2,83	1,24
	5 ^o	17,36	5,20	1,92	0,95

DETERMINAÇÕES DE Na⁺ plasmático (mEq/l)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	160	143	105	95
	2 ^o	180	135	130	100
	3 ^o	210	146	115	110
	4 ^o	200	140	120	110
	5 ^o	162	139	110	100
Terumo	1 ^o	109	136	110	105
	2 ^o	162	139	115	100
	3 ^o	162	140	115	110
	4 ^o	161	132	120	110
	5 ^o	157	141	115	110
Hemobag	1 ^o	168	156	120	145
	2 ^o	164	144	125	115
	3 ^o	162	136	115	185
	4 ^o	167	152	130	115
	5 ^o	173	141	120	110
Grifols	1 ^o	162	145	145	122
	2 ^o	136	163	146	126
	3 ^o	161	142	146	128
	4 ^o	165	165	144	127
	5 ^o	140	144	129	112
Asem	1 ^o	166	148	149	124
	2 ^o	160	136	156	125
	3 ^o	166	156	151	136
	4 ^o	138	150	166	126
	5 ^o	166	169	131	116
Halex istar	1 ^o	163	169	146	125
	2 ^o	133	133	137	123
	3 ^o	165	169	135	119
	4 ^o	147	148	147	119
	5 ^o	135	158	145	125

DETERMINAÇÕES DE K+ PLASMÁTICO (mEq/l)

Bolsas	amostras	Dias de armazenamento			
		1 ^o	15 ^o	21 ^o	35 ^o
Baxter	1 ^o	4,5	40,5	42,0	57,5
	2 ^o	10,0	36,0	38,0	69,0
	3 ^o	9,5	38,5	45,5	62,0
	4 ^o	9,5	37,5	44,5	58,0
	5 ^o	8,7	32,0	51,5	54,5
Terumo	1 ^o	6,0	33,0	41,0	53,5
	2 ^o	9,5	23,0	25,0	62,0
	3 ^o	8,5	36,0	38,0	64,0
	4 ^o	9,0	31,5	38,0	49,0
	5 ^o	8,5	35,0	43,5	57,5
Hemobag	1 ^o	7,0	32,5	38,0	40,0
	2 ^o	8,0	36,5	38,0	64,5
	3 ^o	8,7	34,5	48,0	63,0
	4 ^o	8,7	31,0	39,5	49,5
	5 ^o	8,0	36,0	44,5	56,5
Grifols	1 ^o	10,6	40,0	46,0	53,0
	2 ^o	12,8	40,0	46,0	61,0
	3 ^o	10,6	36,0	42,0	57,0
	4 ^o	9,8	30,0	46,0	56,0
	5 ^o	6,8	31,7	40,0	55,0
Asem	1 ^o	11,1	22,0	39,0	55,0
	2 ^o	12,8	30,0	49,0	59,0
	3 ^o	4,8	33,0	56,0	49,0
	4 ^o	9,6	37,0	42,0	44,0
	5 ^o	12,0	30,0	46,0	57,0
Halex istar	1 ^o	5,8	32,0	38,0	40,0
	2 ^o	13,8	27,0	40,0	59,0
	3 ^o	7,2	42,0	45,0	69,0
	4 ^o	11,7	36,0	42,0	62,0
	5 ^o	4,6	37,0	42,0	63,0

DETERMINAÇÕES DE PESO (g)

		11º
Baxter	1 ⁰	395
	2 ⁰	405
	3 ⁰	395
	4 ⁰	320
	5 ⁰	370
Terumo	1 ⁰	325
	2 ⁰	325
	3 ⁰	303
	4 ⁰	390
	5 ⁰	310
Hemobag	1 ⁰	345
	2 ⁰	345
	3 ⁰	300
	4 ⁰	300
	5 ⁰	390
Grifols	1 ⁰	330
	2 ⁰	320
	3 ⁰	300
	4 ⁰	350
	5 ⁰	370
Asem	1 ⁰	380
	2 ⁰	350
	3 ⁰	330
	4 ⁰	390
	5 ⁰	320
Halex istar	1 ⁰	350
	2 ⁰	330
	3 ⁰	380
	4 ⁰	380
	5 ⁰	330