

Maria Soraia Parente da Cunha

***Filtração de Leucócitos em
Concentrados de Hemácias***

Universidade Federal do Ceará

Fortaleza - Ceará
1995

Maria Soraia Parente da Cunha

Farmacêutica - Bioquímica

Filtração de Leucócitos em Concentrados de Hemácias

Trabalho apresentado como requisito final do curso de especialização em
Hematologia e Hemoterapia D.A.C.T. e D.M.C. /HEMOCE/U.F.C.

Universidade Federal do Ceará

Fortaleza - Ceará

1995

Orientadores:

- Dr. Ormando Rodrigues Campos
Diretor de Hemoterapia do Centro de
Hematologia e Hemoterapia do Ceará
(HEMOCE)

- Dra. Francisca Vânia Barreto Aguiar
Ferreira Gomes
Prof. do Departamento de Análises
Clínicas e Toxológicas CCS/UFC
Coordenadora do Curso de
Especialização em Hematologia e
Hemoterapia DACT/CCS/UFC.

Ainda que tivesse o dom da
profecia, e conhecesse todos os
mistérios e toda a ciência, e não
tivesse amor, nada seria.

Cor. 13,2.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. José Murilo Martins, meus sinceros agradecimentos pela oportunidade de participar deste curso.

Ao Dr. Ormando Rodrigues Campos, pela valiosa orientação na realização deste trabalho.

A Dra. Vânia Barreto A. F. Gomes pelo incentivo e dedicação no decorrer do curso e na orientação deste trabalho.

Ao Setor de Fracionamento do HEMOCE, que tão gentilmente colaborou para a execução da parte experimental.

Ao Setor de Quimioterapia do HEMOCE, pela colaboração.

Ao Laboratório de Hematologia do HEMOCE, pelo apoio na análise laboratorial de amostras.

A Dra. Fátima Marques e Dra. Rita Marinei, pela amizade.

A D. Clarice e D. Francisca, pelo carinho.

A Célia e Viviane pela atenção e ajuda no decorrer do curso.

Ao Dr. Mário Rigatto pelos ensinamentos imprescindíveis.

Aos colegas Wandenberg e Gilson, companheiros de curso

A todos os professores do curso, pela dedicação e transmissão de conhecimentos.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Jesus Cristo, que me deu forças.

Aos meus pais, a quem dedico este trabalho.

Ao Dr. José Alberto, pelo carinho, apoio e compreensão.

As companheiras de momentos mais difíceis: Vanda, Suzana, Geane, Glória e Célia.

A Carla, amiga preciosa.

ÍNDICE

RESUMO	6
INTRODUÇÃO	7
MATERIAL E MÉTODOS	9
RESULTADOS	11
DISCUSSÃO	19
CONCLUSÃO	22
SUMMARY	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

Filtração de leucócitos em concentrados de hemácias*

Maria Soraia Parente da Cunha**

RESUMO

Realizamos um estudo para avaliar a redução dos leucócitos com o uso de filtros de adsorção, em concentrados de hemácias, armazenados a 4°C em solução de SAG-M. O número de leucócitos após a filtração foi de $3,1 \times 10^6$ - 57×10^6 em câmara de Newbauer e contador automático respectivamente; a análise do esfregaço sanguíneo pós filtração demonstrou ausência de leucócitos.

Efetuamos contagens do número de leucócitos e análise morfológica do esfregaço sanguíneo em concentrados de hemácias em 20 dias de estocagem a 4°C (SAG-M). Foi observado alterações morfológicas e uma diminuição do número de leucócitos proporcional ao dia da estocagem.

Os resultados estão de acordo com os encontrados na literatura.

* Trabalho apresentado como requisito final do Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

** Farmacêutica - Bioquímica, aluna do Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

INTRODUÇÃO

No início do século XX, depois da descoberta dos grupos sanguíneos e o desenvolvimentos de anti-coagulantes, a transfusão de sangue estabeleceu-se como um tratamento (8). Atualmente, a transfusão sanguínea é um procedimento rotineiro nos hospitais.

Durante os muitos anos em que as transfusões eram realizadas com sangue total, a presença de leucócitos era considerada normal e inevitável. Com o desenvolvimento da terapia de componentes na década de sessenta, tornou-se claro, que várias complicações das transfusões sanguíneas resultavam da exposição do receptor aos leucócitos do doador (5-6-14). Com isso, tornou-se crescente a necessidade de esclarecer que efeitos adversos os leucócitos provocavam e como evitá-los.

Vários estudos tem demonstrados que os leucócitos presentes no sangue transfundido, estão associados a complicações como: reações febris não hemolíticas, aloimunização a antígenos HLA, transmissão de doença enxerto x hospedeiro e imunomodulação (2-3-5-6-26-29). Na tentativa de reduzir estes efeitos, a remoção de leucócitos dos componentes sanguíneos tem alcançado relevada importância para doentes hematológicos e/ou politransfundidos, doentes imunodeprimidos, em transfusão maciça exsanguíneotransfusão, transfusão intrauterina, prevenção de doenças que tem leucócitos com vetor, na prevenção da imunização HLA e de reações febris e na refratariedade plaquetária (1-3-5-14-29).

A administração de concentrados de hemácias é feita através de um filtro, chamado de filtro "padrão" de administração sanguínea, ele tem um tamanho de poro de 170 a 260 microns. Estes filtros apanham fragmentos grossos mas não impedem o fluxo de leucócitos (20).

Existem várias técnicas para reduzir o número de leucócitos em componentes sanguíneos. Entre elas temos: Centrifugação invertida, centrifugação dupla, filtros de microagregados (20 a 40 microns), congelamento/deglicerolização/lavagem salina e outras (8-16-17-28-29).

Recentemente o avanço tecnológico e científico permitiu o desenvolvimento de filtros de "terceira geração", também referidos como

filtros de adsorção, que proporcionam profunda redução de leucócitos (> 99%), por aderência (10-27).

O ideal seria utilizar apenas produtos deleucotizados, mas o custo elevado dos filtros, ainda não permite esta prática, devido ao encarecimento do serviço hemoterápico (12). Por isso a decisão de usar componentes leucoreduzidos deve ser avaliada de acordo com as necessidades do paciente, de forma criteriosa, para que não ocorra o uso indiscriminado de um produto tão caro (24).

O objetivo deste trabalho é observar a morfologia e a variação do número de leucócitos dos concentrados de hemácias em solução CPD-SAG Manitol, num período compreendido entre o dia em que a punção foi realizada ao vigésimo dia de armazenamento; e verificar se há redução dos leucócitos com o uso de filtros leucoredutores.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi coletado sangue total de doadores do serviço de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), em bolsas plásticas, contendo solução CPD-SAG Manitol.

Esses doadores eram indivíduos, com hemoglobina de mobilidade eletroforética normal (AA) e estudo sorológico negativo para sífilis, Chagas, hepatite B e C, HTLV I/II e AIDS.

As bolsas utilizadas (n=30) continham em média 450 ml de sangue total de cada doador, 63 ml de solução anti-coagulante CPD, num sistema de bolsa tripla, contendo 100 ml de solução preservadora SAG-M (Salina-adenina, glicose e manitol) em uma das bolsas satélite.

Para obtenção do concentrado de hemácias, as bolsas de sangue foram submetidas a uma centrifugação de 15 minutos em centrífuga refrigerada 3.500 RPM a 4°C, em seguida, o plasma sobrenadante foi transferido para uma bolsa satélite através de pressão em extrator de plasma. Os concentrados de hemácias foram ressuspensos em 100 ml da solução preservador SAG-M anexa em sistema fechado por nós utilizado e estocada a 4°C. Por ocasião da retirada do material das bolsas para ser analisado, foi realizada homogeneização com movimentos lentos e laterais.

Análise das amostras:

O estudo foi efetuado em dois grupos de amostras; no primeiro grupo foram analisados vinte concentrados de hemácias (5-12 dias de armazenamento) que foram filtrados (Filtro p/ leucócitos Cellselect 1134/4 - ASEM) e o segundo grupo composto por dez concentrados de hemácias que não foram filtradas.

Foi realizada a contagem global de leucócitos em câmara de Neubauer e em contador automático (Cellm, Diluidor DA500, contador CC 510), como também uma análise morfológica (contadas 100 células) dos leucócitos, em esfregaço sanguíneo, corado pelo método de May-Grunwald-Giemsa, utilizando objetiva imersão em microscópio óptico.

No grupo de unidades sanguíneas que foram filtradas, este procedimento foi feito antes e após a filtração. No segundo grupo, o das amostras não filtradas, foram analisadas no dia em que o sangue foi coletado, e após um, cinco, dez e vinte dias de armazenamento.

Posteriormente, com posse dos dados, foram calculados o número de leucócitos por unidade do concentrado de hemácia.

O nível de significância estatística foi fixado em 5%.

- Solução anti-coagulante CPD

Citrato de sódio	2630 mg
Ácido cítrico	327 mg
Fosfato de sódio monobásico H ₂ O	222 mg
Dextrose H ₂ O	2550 mg
Água para injeção q.s.p.	1000 ml

- Solução preservadora SAG-M

Cloreto de sódio	877 mg
Adenina	16,9 mg
Dextrose H ₂ O	900 mg
Manitol.....	525 mg
Água para injeção q.s.p.	1000 ml

RESULTADOS

Foram analisados 20 concentrados de hemácias (5 a 12 dias de armazenamento) antes e depois da filtração de leucócitos (GRUPO I) e 10 concentrados de hemácias no dia em que o sangue foi coletado, no 1º, 5º, 10º e 20º dia de armazenamento (GRUPO II). Os concentrados de hemácias foram armazenados a 4°C com SAG-M.

Os números de leucócitos nos concentrados de hemácias do GRUPO I, utilizando contador automático e câmara de Newbauer, estão na tabela I.

Nas tabelas II e III estão representados as médias dos números de leucócitos dos concentrados de hemácias do GRUPO I, onde a aplicação do teste "t" de Student evidenciou uma diferença significativamente estatística.

A tabela IV mostra em, termos de porcentagens, a eficiência da filtração de leucócitos em concentrados de hemácias, em contador automático e câmara de Newbauer.

Os números de leucócitos nos concentrados de hemácias do GRUPO II, utilizando contador automático e câmara de Newbauer, estão nas tabelas V e VI, respectivamente.

A tabela VII representa as médias dos valores das tabelas V e VI, evidenciando a diferença entre aparelho automático e câmara de Newbauer, que estatisticamente não apresentou significância.

Os resultados obtidos com relação a perda leucocitária entre o dia da coleta e o vigésimo dia de armazenamento a 4°C com SAG-M, estão representados na tabela VIII.

As principais alterações morfológicas encontradas no GRUPO I e II estão na tabela IX e X, respectivamente. Além das alterações descritas na tabela IX e X, foi verificado um aumento no tamanho dos leucócitos (macrocitose) a partir do 1º dia de armazenamento.

A figura I, sintetiza de forma gráfica a taxa de redução de leucócitos em concentrados de hemácias do GRUPO II, utilizando contador automático.

TABELA I - Número de leucócitos em concentrados de hemácias, armazenados a 4°C em SAG-M, antes e depois da filtração de leucócitos. Utilizando contador automático e câmara de Newbauer.

Nº DA BOLSA	DIAS DE ARMAZENAMENTO	NÚMERO DE LEUCÓCITOS ($\times 10^3/\text{ml}$)			
		ANTES		DEPOIS	
		CONTADOR AUTOMÁTICO	CÂMARA DE NEWBAUER	CONTADOR AUTOMÁTICO	CÂMARA DE NEWBAUER
0157	8	4.8	4.0	0.3	0,0
0741	8	9.0	8.2	0.2	0,0
0771	8	5.7	4.5	0.1	0,0
0802	8	4.4	3.5	0.2	0.15
0811	8	6.0	5.1	0.4	0.05
0864	9	4.3	3.7	0.4	0,0
0933	7	5.2	4.4	0.2	0.05
1196	12	4.0	3.3	0.1	0,0
1245	9	7.0	6.5	0.1	0,0
1337	9	3.9	3.0	0.3	0,0
1417	12	5.4	4.6	0.1	0,0
1478	8	4.3	3.8	0.3	0,0
1508	12	3.8	3.1	0.2	0,0
1550	12	4.0	2.9	0.1	0,0
1603	8	5.3	5.0	0.1	0,0
1613	7	8.9	7.8	0.4	0,0
1624	7	6.3	5.1	0.5	0,0
1632	8	3.0	2.7	0.5	0,0
1417	7	5.7	5.0	0.1	0,0
1613	5	4.5	3.9	0.1	0,0

TABELA II - Média $\pm$ EPM (erro padrão médio, N=20) expressa em μ l e valores absolutos de leucócitos em concentrados de hemácias, antes e depois da filtração. Utilizando contador automático.

PERÍODO	<i>X $\pm$ EPM</i>	
	$\times 10^3 \mu$ l	Valores absolutos p/ unidade
antes da filtração	5,2 $\pm$ 0,35	1,3 $\times 10^9$
depois da filtração	0,23 $\pm$ 0,03*	57 $\times 10^6$

* $p < 0,001$ (teste "t" de Student)

TABELA III - Média $\pm$ EPM (erro padrão médio, N=20) expressa em μ l e valores absolutos de leucócitos em concentrados de hemácias, antes e depois da filtração. Utilizando câmara de Newbauer.

PERÍODO	<i>X $\pm$ EPM</i>	
	$\times 10^3 \mu$ l	Valores absolutos p/ unidade
antes da filtração	4,5 $\pm$ 0,34	1,1 $\times 10^9$
depois da filtração	0,0125 $\pm$ 0,0076*	3,1 $\times 10^6$

* $p < 0,001$ (teste "t" de Student)

TABELA IV - Eficiência da filtração de leucócitos em porcentagem (%) nos concentrados de hemácias.

Nº DAS BOLSAS	EFICIÊNCIA DA FILTRAÇÃO (%)	
	CONTADOR AUTOMÁTICO	CÂMARA DE NEWBAUER
0157	93,7	100
0741	97,7	100
0771	98,2	100
0802	95,4	95,7
0811	93,3	99,0
0864	90,7	100
0933	96,1	99,0
1196	97,5	100
1245	98,5	100
1337	92,3	100
1417	98,1	100
1478	93,0	100
1508	94,7	100
1550	97,5	100
1603	98,1	100
1613	95,5	100
1624	92,0	100
1632	83,3	100
1417	98,2	100
1613	97,7	100
X	95	99,7

TABELA V - Número de leucócitos ($\times 10^3 \mu\text{l}$) em concentrados de hemácias, durante o período de armazenamento a 4°C, com SAG-M. Utilizando contador automático.

Nº DAS BOLSAS	NÚMERO DE LEUCÓCITOS ($\times 10^3 \mu\text{l}$)				
	0	1º	5º	10º	20º
1531	7,6	6,8	5,0	4,1	3,7
006	8,9	8,0	6,4	5,3	4,9
0009	6,8	6,1	4,5	3,7	3,4
0012	5,0	4,3	2,9	2,0	1,7
0023	8,0	7,3	5,6	4,4	3,8
0090	9,2	8,4	6,6	5,8	5,2
0321	8,3	7,5	5,7	4,5	4,0
0327	13,0	12,2	9,8	7,8	6,7
0331	7,8	7,0	5,4	4,0	3,6
0335	8,5	7,7	6,2	5,5	5,0

TABELA VI - Número de leucócitos ($\times 10^3 \mu\text{l}$) em concentrados de hemácias, durante o período de armazenamento a 4°C, com SAG-M. Utilizando Câmara de Neubauer.

Nº DAS BOLSAS	NÚMERO DE LEUCÓCITOS ($\times 10^3 \mu\text{l}$)				
	0	1º	5º	10º	20º
1531	6,5	5,9	4,1	3,3	3,0
006	7,8	7,0	5,6	4,5	4,3
0009	6,0	5,3	3,7	2,7	2,4
0012	4,4	3,8	2,7	1,8	1,5
0023	6,9	6,0	4,3	3,5	3,2
0090	8,4	7,6	5,7	4,6	4,0
0321	7,5	6,4	4,6	3,9	3,4
0327	11,3	9,9	8,0	6,9	6,5
0331	6,9	6,0	4,6	3,7	3,0
0335	7,1	6,5	5,2	4,4	4,0

TABELA VII - Média $\pm$ EPM (erro padrão médio = 10) expressa em μ l e valores absolutos de leucócitos nos concentrados de hemácias, durante o período de armazenamento a 4°C, com SAG-M. Utilizando contador automático e câmara de Newbauer.

sem melhor explicação

DIAS DE ARMAZENAMENTO	X $\pm$ EPM			
	CONTADOR AUTOMÁTICO		CÂMARA DE NEWBAUER	
	LEUCÓCITOS		LEUCÓCITOS	
	$\times 10^3 \mu$ l	valores absolutos p/unidade	$\times 10^3 \mu$ l	valores absolutos p/unidade
0	8,31 $\pm$ 0,64	2,1 $\times 10^9$	7,28 $\pm$ 0,56	1,8 $\times 10^9$
1º	7,43 $\pm$ 0,55	1,8 $\times 10^9$	6,44 $\pm$ 0,50	1,6 $\times 10^9$
5º	5,81 $\pm$ 0,56	1,4 $\times 10^9$	4,85 $\pm$ 0,45	1,2 $\times 10^9$
10º	4,71 $\pm$ 0,48	1,2 $\times 10^9$	3,93 $\pm$ 0,43	1,0 $\times 10^9$
20º	4,20 $\pm$ 0,42	1,0 $\times 10^9$	3,53 $\pm$ 0,42	0,9 $\times 10^9$

TABELA VIII - Perda leucocitária das bolsas de sangue verificada entre o dia da coleta e o 20º dia de estocagem a 4°C em SAG-M.

Nº DAS BOLSAS	PERDA LUCOCITÁRIA	
	CONTADOR AUTOMÁTICO	CÂMARA DE NEWBAUER
	LEUCÓCITOS ($\times 10^3 \mu$ l)	LEUCÓCITOS ($\times 10^3 \mu$ l)
1531	3,9	3,5
006	4,0	3,5
0009	3,4	3,6
0012	3,3	2,9
0023	4,2	3,7
0090	4,0	4,4
0321	4,3	4,1
0327	6,3	4,8
0331	4,2	3,9
0335	3,5	3,1

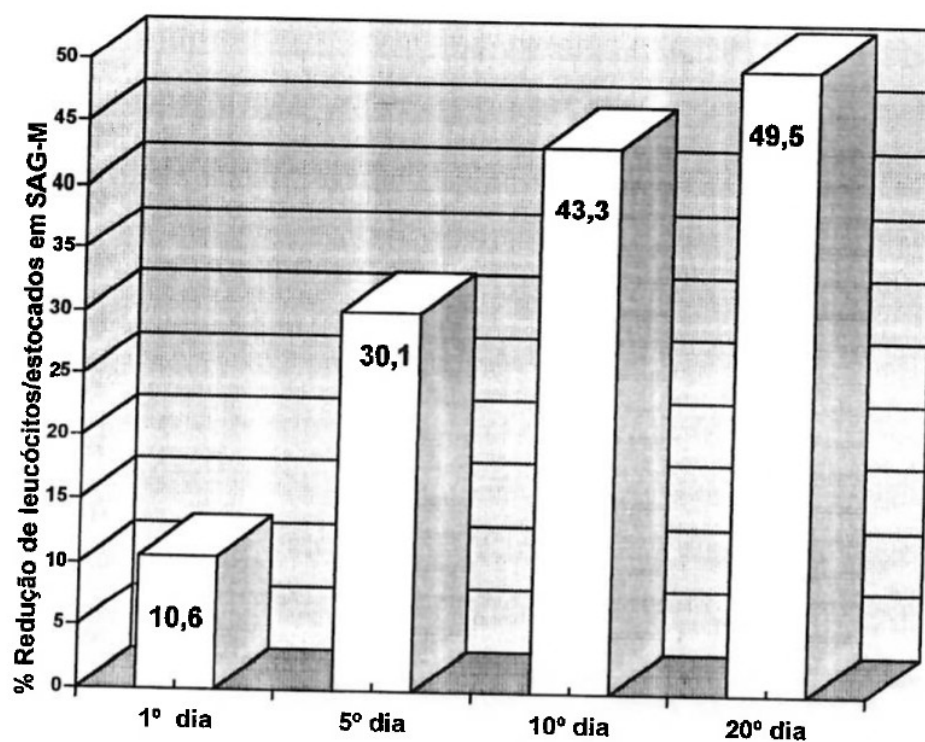
TABELA IX - Aspecto morfológico dos leucócitos de concentrados de hemácias armazenados a 4°C em solução SAG-M.

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS	DIAS DE ARMAZENAMENTO				
	X DE LEUCÓCITOS C/ ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS				
	0	1º	5º	10º	20º
VACÚOLOS	—	2	10	18	20
FRAGMENTAÇÃO CELULAR	—	3	25	45	70

TABELA X - Aspecto morfológico dos leucócitos de concentrados de hemácias antes e depois da filtração de leucócitos.

ALTERAÇÃO MORFOLÓGICAS	X DE LEUCÓCITOS C/ ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS	
	ANTES	DEPOIS
VACÚOLOS	17	ausência de leucócitos
FRAGMENTAÇÃO CELULAR	41	ausência de leucócitos

FIGURA I - Taxa de redução de leucócitos em concentrados de hemácias verificada no 1º, 5º, 10º e 20º dia de armazenamento a 4°C em SAG-M, utilizando contador automático.



DISCUSSÃO

Em nossos resultados verificamos que há redução dos leucócitos dos concentrados de hemácias que foram submetidos a filtração com filtros de adsorção. O número de leucócitos residuais após a filtração foi de $3,1 \times 10^6$, quando a contagem foi realizada em câmara de Neubauer e de 57×10^6 , quando em contador automático. A variação dos resultados está relacionada com os métodos e técnicas empregadas para contagens dos números de leucócitos residuais pós-filtração. Wenz et al (31) em seu estudo, fizeram uma análise dos métodos de contagens dos leucócitos remanescentes pós-filtração, afirmando que contadores automáticos são ineficientes para realizar contagens de componentes intensamente leucoreduzidos, com menos de 500 leucócitos/ μ l. Brecher et al (4) relataram a superioridade da câmara de Neubauer (detecção de 5,6 leucócitos/ μ l) e da citometria de fluxo para contagem de leucócitos em componentes sanguíneos deleucotizados. As determinações de leucócitos residuais pós-filtração em unidades de concentrados de hemácias variam amplamente em diversos estudos ($0,1$ a 60×10^6 leucócitos/unidade) em parte por causa da dificuldade em contar número muito baixo de leucócitos (10-30), mesmo assim, observamos que nossos resultados estão de acordo com os encontrados na literatura (12-4-31-25).

O uso de filtros de adsorção reduz 99,9% dos leucócitos nos componentes sanguíneos (10-19). Nossos resultados foram de 95 e 99,7% em aparelho e câmara de Neubauer respectivamente, estes achados, que estão um pouco abaixo do esperado, podem ser explicados pelos dias de estocagem das bolsas; o fabricante recomenda o uso de filtros em bolsas que tenham no máximo 24 horas de estocagem, no entanto, o nosso grupo apresentou de 5 a 12 dias de armazenamento. A idade das bolsas representa um dado importante para a eficácia dos filtros leucoredutores (18). Quando o concentrado de hemácias apresenta dias de estocagem, os leucócitos se fragmentam, estes fragmentos (membranas, grânulos) atravessam os filtros leucoredutores, que estão destinados a reter leucócitos intactos (21).

- pode ser explicado
com

O número de leucócitos dos concentrados de hemácias, no dia em que a coleta foi realizada ($1,8 - 2,1 \times 10^9$) estavam de acordo com os resultados encontrados na literatura (20).

A diminuição no número de leucócitos em concentrados de hemácias (SAG-M) em 20 dias de armazenamento ficou evidente em nosso estudo. Notamos que, nossos resultados apresentaram uma taxa de redução semelhante ao trabalho de Humbert, Fermin and Winsor (9). Vários estudos mostram que os granulócitos se deterioram rapidamente. Easthind et al (7) demonstraram que a quimiotaxia é a primeira função a ser afetada e que a presença de radicais livres leva a fragmentação celular em condições de estocagem (a 4°C). Entretanto, quando armazenados a curto prazo e a temperatura ambiente minimiza as disfunções (11-13), sugerindo que granulócitos presentes em unidades de plaquetas podem ser mais problemáticos que aqueles presentes em concentrados de hemácias sob condições normais de estocagem (9).

Evidenciamos diferença entre as contagens em câmara de Newbauer e aparelho automático, em amostras onde o número de leucócitos não estava reduzido (TABELA VII), este achado pode ser explicado pela maior sensibilidade do aparelho em relação à Câmara de Newbauer quando o número de leucócitos é $> 500/\mu\text{l}$. O contador celular eletrônico evita erros humanos e, em virtude do maior número de células contadas, é mais acurado. A câmara de Newbauer apresenta a desvantagem do erro humano (manuseio da amostra, preenchimento da câmara e na contagem (22)). Contudo, em nossos resultados a diferença entre as técnicas não apresentou significância estatística.

As principais alterações morfológicas encontradas em nosso estudo foram macrocitose, vacúolos e fragmentação celular (TABELA IX e X), comparando com um estudo realizado, utilizando microscopia eletrônica, verificamos que estes achados estão de acordo, se levarmos em consideração o microscópio utilizado. As alterações observadas na literatura foram: vacuolização, diminuição do número de grânulos, ausência de interrupções da membrana celular a partir de 24 horas de estocagem. A desintegração celular é citada só após o sétimo dia de estocagem (9).

A análise morfológica realizada antes da filtração demonstrou as mesmas alterações já mencionadas no nosso estudo. Após a

deleucotização, utilizando o processo de filtração por adsorção, não formam encontrados leucócitos no esfregaço sanguíneo.

CONCLUSÃO

Concluimos que o uso de filtros de adsorção para redução de leucócitos em concentrados de hemácias reduz os leucócitos de 95,0 a 99,7%, sofrendo influência do tempo de armazenamento do concentrado de hemácias assim como da técnica utilizada para a contagem dos leucócitos.

Concluimos também que há alterações morfológicas e uma diminuição do número de leucócitos dos concentrados de hemácias (4°C) em SAG-M, à medida que aumenta o tempo de armazenamento.

SUMMARY

^{howe} We've carried out a study to evaluate the ²Leukocyte's reduction by using adsorption filters in packed red cell, storeds at 4°C in solution of SAG-M. The number of leukocytes after the filtration was ^{sample} $3,1 \times 10^6$ ^{and} 57×10^6 in a ⁴⁰⁰⁰ Newbauer chamber and in an automatic counter respectively; the blood smear analyse after the filtration demonstrated a lack of leukocytes ^{no leukocyte was found}

^{is} We've made an account of leukocytes numbers ^{howe} and the morfologic analyse of the blood smear in a packed of red cell in twenty morfologicals alteration and a decrease of the leukocytes' numbers proportional to the storage day.

The results are in agreement with the ones found in the literature.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ✓ 1 - ADLER S.P. Cytomegalovirus and tranfusion. Transfusion. 1988;4:235-44
- ✓ 2 - ANDREU L.G.: Protocole clinique allo-immunisation: PS deleucocytes et irradiés par les UV (2-6). 1990
- ✓ 3 - ANDREU L.G., DEWAILLY J. LEBERRE C., QUARRE M.C. BIDET M.L, Tardivel R., Devers L., Lam Y., Soreau E., Boccaccio C., Piard N., Bidet J.M., Genetet B; and Fauchet R. Prevention of HLA immunization with Leukocyte-poor packed red cells and platelet concentrates obtaines by filtration. Blood: 72(3), p. 964-969; 1988.
- ✓ 4 - BRECHER M.E., HARBOUGH C.A., PINEDA A.A. Accurate counting of low numbers of leukocytes. Use of flow cytometry and a manual low-cont chamber Am. J. Clin. Pathol. 97:872-875; 1992.
- ✓ 5 - BRUIL A. leukocyte filters: Filtration Mechanisms and Material Design. p. 1-28, 1993.
- ✓ 6 - BUELVAS A.C. ABC de la Medicina Transfusional. Talleres Gráficos de Impressora Feriva LTDA. p. 44-47. 1994;
- ✓ 7 - EASTLUND T., CHARBONNEAU T. BRITTEN A., Changes in neutrophil aggregation and chemotaxis response during 18 hour cold storage. Transfusion 24: 513-515, 1994.
- ✓ 8 - HARMENING D., CALHOUN L. AND POLESKI H. F. Tecnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão. Ed. Revinter. 2ª edição. pp. 181-209. Rio de Janeiro. 1992
- ✓ 9 - HUMBERT J.R., Flermin C.D., Winsor E.L. Early damage granulocytes during storage. Seminars in Hematol 28(5): 10-13; 1991.
- ✓ 10 - LANE T.A., ANDERSON K.C., GOODNOUGH L.T., Kurtz S., MOROFF G., PISCIOOTTO P.T., SAYERS M. And SILBERSTEIN L.E. leukocyte reduction in blood component therapy. Annals of internal medicine. 117(2): 151-162. 1992.
- ✓ 11 - LANE T.A., WINDLE B.: GRANULACYTE concentrate function during preservation: Effect ot temperature. Blood 54: 216. 1979.
- ✓ 12 - LICHTER B. Primer Simposio Anual en la Florida. Componentes sanguineos com leucocitos removidos: indicaciones, tecnicas y controversias. p. 1-16. Texas. EUA. 1994
- ✓ 13 - -----, Manual Técnico AABB, 10ª edicion, Editorial PECALO, Arlington, Virginia 1990 pp. 45-71

- ✓ 14 - MERYMANT H.T. Transfusion - induced alloimmunization and immunosuppression and the effects of leukocytes depletion, *Transfusion Med. Rev.*, 3:180-193 (1989).
- 15 - MERYMAN H.T., Cleaning up red cells and platelets: alloimmunization, immunosuppression and disease transmission, in *Controversies of leukocyte-poor Blood and Components*, American Association of Blood Banks, Arlington, 1989; pp1-26.
- ✓ 16 - MERYMAN H.T., BROSS I. and LEBOUVITZ R. The preparation of leukocyte-poor red blood cells: a comparative study. *Transfusion*:20 (3):285-292.
- ✓ 17 - MERYMAN H.T. And HORNBLLOWER M. The preparation of cells depleted of leukocytes. Review and evaluation. *Transfusion* 26(1):101-106;1986.
- ✓ 18 - PARRAVICINI A., REBULLA P., APUZZO J., WENZ B., SIRCHIA G., The preparation of leukocyte-poor red cells for transfusion by a simple cost-effective technique. *Transfusion* 1984; 29: 508-509.
- ✓ 19 - PIETERSZ RNI, STENEKER I., REESINT H.W., DEKKER W. J. A., AL E. J. M., Huisman J. G. , Biewenga J., Comparison of five different filters for the removal of leukocytes from red cell concentrates. *Vox Sang*, 62: 76-81 (1992).
- ✓ 20 - PISCIOTTO P. T., CIAVARELLA D., KURTZ S. R., LANE T. A., MOROFF G., MORRISON F. S., ROBERTS S. C. *Terapeutica Transfusional- Manual para médicos AABB*. 1993. pp. 15-16.
- ✓ 21 - RAMOS R. R. , CURTIS B. R., DUFFLY B. F. et al: Low retention of WBC fragments by polyester fiber leukocyte reduction platelet filters. *ISBT/AABB*. 1990. Joint Congress, abstr S25.
- ✓ 22 - RAPHAEL S. S., HYDE T. A., MELLOR L., SPENCER F. INWOOD M. J., THONSON S., BRYANT J.N., Lynch: *Técnicas de Laboratório*. 4ª edição. Editora Mandel. 1988. pp. 765-938.
- 23 - SAARINEN U. M., KEKOMAKI R., SIIMES M., MYLLYLÄ G., Effective prophylaxis against platelet refractoriness in multitransfused patients by use of leukocyte-free blood components. *Blood*. 1990; 75:512-507.
- ✓ 24 - SIRCHIA G., PARRAVICINI A., REBULLA P., GREPPI N., SCALAMOGNA M. AND MORELATI F. Effectiveness of red blood leukocyte antibody production in multitransfused patients. *Vox Sang*. 42: 190-197. (1982).
- ✓ 25 - SIRCHIA G., REBULLA P., PARRAVICINI A., CARNELLE V., GIANOTTI G. A., BERTOLINI F., Leukocyte depletion of red cell units at the bedside by transfusion through a new filter. *Transfusion*. 1987; 27:402-405.

- ✓ 26 - SNIECINSKI I., O'DONNELL M.R., NOWICKI B., and HILL L.R. Prevention of refractoriness and HLA-alloimmunization using filtered blood products. Blood. 71(5): 1402-1407 (1988).
- ✓ 27 - SNYDER E. L. Clinical use of white cell poor blood components. Transfusion. 1989; 29:568-571.
- ✓ 28 - VEGA C. M. ALBEROLA J. A. M. Manual de Medicina Transfusional. Doyna Libros S. A. 1994. pp. 100-102.
- ✓ 29 - WENZ B. MICROAGGREGATE blood filtration and the febrile transfusion reaction. A comparative study. Transfusion. 23(2): 95-98 (1983).
- 30 - WENZ B., BESSON. Quality control and evaluation of leukocyte-depleting filters. Transfusion. 29: 186-187; 1989.
- ✓ 31 - WENZ B., BURNS E.R., LEE V. and MILLER W.K. A rare-event analysis model for quantifying white cells in white cell-depleted blood. Transfusion. 31: 156-159 (1991).

*irregular a mania de c-tacac
co am entes-pavantes*

Trabalho bem planejado e eficiente com resultados que me parecem convincentes

Alguns erros devem ser corrigidos para eventual publicação principalmente nos ref. bibliográficos -

Devia fazer melhores comentários sobre meios laboratoriais e o imp.

NOTA 10 (dist)

Phil Frank