H E M A F É R E S E

Coleta de concentrados plaquetários de doador único com reduzido teor de leucócitos com um novo separador de células sanguíneas: resultados de um estudo multicêntrico

Roger Moog, Thomas Zeiler, Hans-Gert Heuft, Berckard Stephan, Eike G. Fischer,Volker Kretschmer, Regina Rödel-Spieker, Stephan Strasser e Jürgen Zingsem

ANTECEDENTES: Um novo separador de células (COM.TEC, Fresenius) foi recentemente desenvolvido com vistas à coleta eficiente de concentrados plaquetários de doador único (CPDUs).com reduzido teor de leucócitos

DELINEAMENTO E MÉTODOS DO ESTUDO: Cinco centros alemães coletaram 554 CPDUs com reduzido teor de leucócitos com o auxílio do separador de células COM.TEC. Dois estudos multicêntricos de contagem de células foram realizados no início e no final do estudo para documentar os resultados de contagem uniformes entre os centros participantes.

RESULTADOS: Um total de 441 (79,6%) coletas de plaquetas foi incluído no estudo de acordo com o protocolo. Um total de 342 CPDUs de dose única e 99 de dose dupla foi coletado. Para os CPDUs de dose única, um volume de sangue médio de 2826 ± 409 ml foi processado em um tempo de doação de 55 ± 11 minutos. O rendimento médio de plaquetas desses produtos foi $3{,}11 \times 10^{11} \pm 0{,}40 \times 10^{11}$ e a contaminação por leucócitos foi de $0{,}11 \times 10^{6} \pm 0{,}20 \times 10^{6}$. Para os CPDUs de dose dupla (contagem plaquetária, $5{,}29 \pm 0{,}93 \times 10^{11}$), 3943 ± 639 ml foram processados. A diferença media entre a concentração de plaquetas alvo e a coletada foi de –2,8 ± 12,0 % para os CPDUs de dose única e –1,8 ± 9,5 para os CPDUs de dose dupla, respectivamente. A eficiência da coleta foi de 53,7 ± 5,8 % para os CPDUs de dose única e 58,2 ± 6,2% para os CPDUs de dose dupla. Se todos os resultados de cada amostra do estudo de contagem fossem ajustados para a unidade (para a média de todos os centros) a maior parte das determinações de plaquetas seria muito similar à média, por exemplo, próximo de 1, ou 1 se ajustada para a unidade.

CONCLUSÃO: A máquina COM.TEC torna possível obter CPDUs com reduzido teor de leucócitos que atendem aos padrões correntes.

A baixa contaminação por leucócitos dos concentrados plaquetários de doador único (CPDUs) pode ser conseguida por filtragem ou diretamente durante a coleta de plaquetas usando técnicas de aférese especiais.[1-9] Essas técnicas de aférese preparatórias usam a tecnologia de leito de partículas fluidizado,[1-3] o princípio da elutriação,[4-8] ou a técnica de periodicamente alternar a posição da interface[9] para a redução dos leucócitos dos CPDUs. A filtragem resulta em uma perda de plaquetas de aproximadamente 10 a 15%, inclui o risco de falha do filtro e, se realizada após o procedimento de aférese, é incômoda e dispendiosa.

Para evitar os problemas associados com a filtração, um novo separador de células foi recentemente desenvolvido (COM.TEC, Fresenius, Bad Homburg, Alemanha), destinado a coletar CPDUs com reduzido teor de leucócitos sem filtração. O dispositivo COM.TEC usa a recirculação do plasma para obter um Hct constante na câmara de separação, resultando em concentrados plaquetários com altos rendimentos e baixa contaminação de leucócitos. Este estudo relata os resultados de um estudo multicêntrico com o novo separador de células.

ABREVIAÇÃO: CPDU(s) = concentrado(s) plaquetário(s) de doador único.

Do Instituto para Medicina da Transfusão, University Clinics, Essen; Instituto para Medicina da Transfusão e Hemostaseologia, Hospital Universitário, Marburg; Departamento de Medicina da Transfusão, Faculdade de Medicina, Hannover; Departamento de Hemostaseologia Clínica e Medicina da Transfusão, University Clinics, Homburg; Aix Scientifics, Aachen; e Departamento de Medicina da Transfusão e Hemostaseologia, University Clinics, Erlangen/Nürnberg, Alemanha.

Envie solicitações de reprodução para : Rainer Moog, MD, PhD, Institute for Transfusion Medicine, University Clinics Essen, Hufelandstrasse 55, D-45122 Essen, Germany; e-mail: rainer.moog@uni-essen.de.

Apoiado pela Fresenius Hemocare (Bad Homburg, Alemanha).

Recebido para publicação em 31 de Janeiro de 2003; revisão recebida em 1 de Abril de 2003 e aceita em 3 de Abril de 2003.

TRANSFUSION 2003;43:1107-1114.

Doadores

A elegibilidade dos doadores de acordo com as diretrizes alemães e as recomendações para a citaférese foi o primeiro critério de inclusão.[10,11] Além disso, peso corpóreo acima de 50 kg, valores plaquetários de 180 a 350 por nL, nível de Hb de pelo menos 12,5 g por dL nas mulheres e pelo menos 13,5g por dL nos homens, contagem de hemácias acima de 4,00 por pL, e contagem de leucócito abaixo de 10,0 por nL foram exigidos de acordo com o protocolo do estudo. Os doadores com valores plaquetários da linha de base de 180 a 280 por nL foram submetidos a uma coleta de CPDU de dose única com um rendimento alvo de $3{,}0 \times 10^{11}$ a $3{,}3 \times 10^{11}$ plaquetas por unidade. Os doadores com contagens plaquetárias acima de 280 por nL foram designados para doar uma dose única ou uma dose dupla com mais de $4{,}4 \times 10^{11}$ plaquetas por unidade. Os critérios de exclusão foram condição de doador pela primeira vez e plaquetaférese nos últimos 14 dias. Todos os doadores deram o consentimento informado por escrito antes do procedimento de aférese.

Separador de células

O separador de células sanguíneas foi usado de acordo com as instruções do fabricante usando o programa de plaquetaférese de agulha dupla (PLT5d DN). O dispositivo é equipado com uma nova câmara de separação (C5) que tem o formato de espirais contínuas com a via de fluxo interrompida por uma barreira incorporada (Fig. 1). O fluxo sanguíneo do doador é automaticamente ajustado para a altura e peso corpóreo do doador. Uma bomba adicional torna possível manter um nível de Hct constante na câmara de separação pela recirculação do plasma (Fig. 2). A taxa de fluxo da recirculação do plasma depende do nível de Hct do doador antes do procedimento, do fluxo sanguíneo e da taxa de fluxo do anticoagulante. A separação das plaquetas é completamente automatizada usando uma câmera CCD, que detecta a posição da interface a cada revolução na câmara de separação. Os desvios são compensados mudando a taxa de fluxo do plasma. Há um pequeno tempo de pausa dentro da centrífuga e as plaquetas são removidas da centrífuga conforme são coletadas. O dispositivo usa a C5L de plaquetas descartável com duas bolsas de armazenamento onde as plaquetas podem ser armazenadas por até 5 dias A velocidade da centrifugação foi 2200 rpm, resultando em uma força da gravidade de $578 \times g$ na porta do sangue total e $740 \times g$ na porta das plaquetas. Em uma escala de 1 a 56, a interface foi ajustada em 31.

O ponto final foi automaticamente ajustado pelo separador de células de acordo com o rendimento plaquetário alvo inserido para um CPDU de dose única ou de dose dupla, dependendo da contagem plaquetária do doador na linha de base. Para esse fim, a altura, peso, contagem plaquetária antes da aférese e nível de Hct do doador foram inseridos no computador do separador de células e a máquina calculou o desempenho do procedimento de aférese (fluxo sanguíneo, fluxo do anticoagulante, proporção entre anticoagulante e sangue total, tempo).

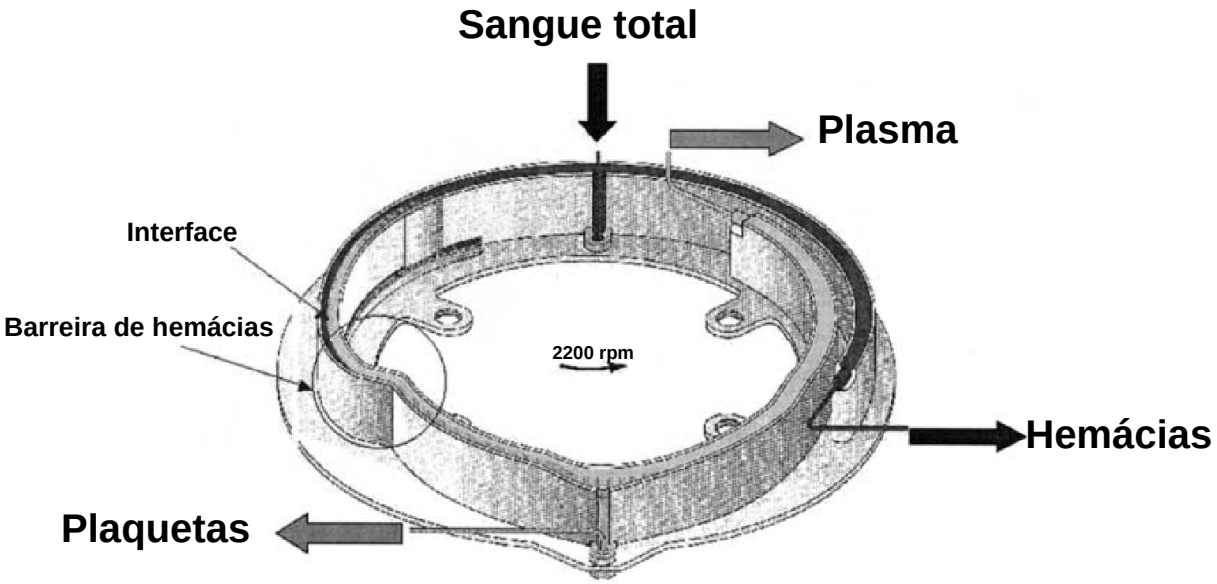

Fig. 1. Nova câmara de separação. O sangue total anticoagulado entra na câmara de separação e é separado em seus componentes por centrifugação. A posição da interface é automaticamente detectada por uma câmera CCD do separador de células. Os desvios são compensados pela mudança na taxa de fluxo do plasma. As hemácias e os leucócitos não conseguem cruzar um ângulo, que é integrado à câmara de separação (barreira de hemácias) e saem da câmara através da porta de hemácias. O plasma e as plaquetas cruzam a barreira de hemácias e são separados na porta de plaquetas. As plaquetas são bombeadas para a bolsa de armazenamento enquanto o plasma sai da câmara através da porta do plasma.

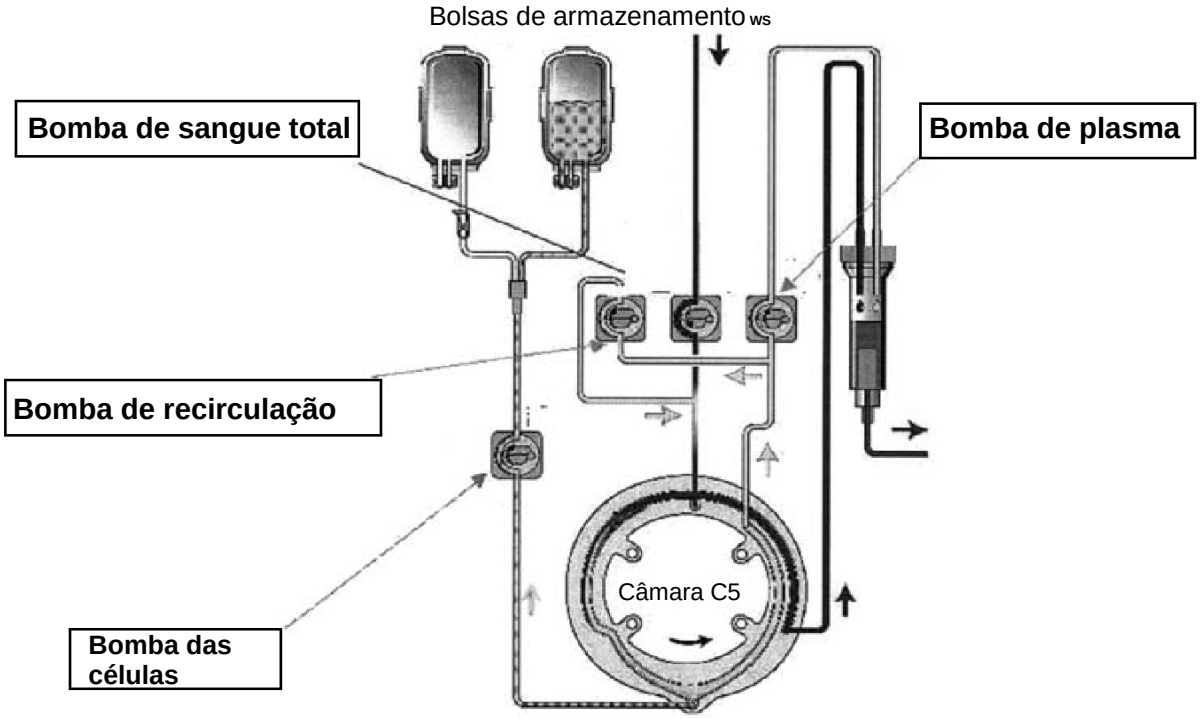

Fig. 2. Recirculação do plasma. Uma parte do plasma separado na câmara volta para o doador através da bomba do plasma, enquanto que a outra parte é recirculada através da bomba de recirculação na câmara de separação. Desse modo, um nível de Hct constante é mantido na câmara de separação durante todo o curso do procedimento de aférese.

TABELA 1. Número de código dos centros universitários participantes, número total de procedimentos, número de procedimentos avaliáveis de acordo com o protocolo do estudo, porcentagem de doadores masculinos e idade dos doadores.

Código do centro	Número total de procedimentos	Número de procedimentos avaliados (%)	Doadores masculinos (%)	Idade (anos)*
A	54	45 (83,3)	66,7	40,0 ± 9,6
B	52	40 (76,9)	80,0	41,9 ± 12,6
C	75	60 (80,0)	76,7	NA
D	135	99 (73,3)	99,0	37,0 ± 9,8
E	238	197 (82,8)	74,6	31,7 ± 9,2
Soma/média cumulativa	554	441 (79,6)	80,0	35,1 ± 10,5

* Média ± DP.

Centros participantes e estudo da contagem de células

Cinco serviços universitários de transfusão participaram deste estudo multicêntrico. O número de código de cada centro e o número de procedimentos de plaquetaférese realizados são mostrados na Tabela 1. No início e no final do estudo multicêntrico, o Centro D enviou três amostras de sangue para os centros participantes. O Centro D também enviou as amostras para ele mesmo para evitar um possível desvio sistemático pelo correio. Uma amostra foi retirada do sangue periférico do doador e as duas outras dos CPDUs, a uma das quais foram adicionadas hemácias.

Métodos de contagem de células

Hemogramas completos foram realizados nas amostras dos doadores antes e após a aférese e nos CPDUs usando um contador automático de células. Os Centros A e B usaram um contador de células (T660 e AcT diff, Coulter Electronics, Krefeld, Alemanha) e os Centros C a E usaram outro (Sysmex K-1000 e K-4500, TOA Medical, Kobe, Japão). Nos Centros A, C e E. a concentração residual de leucócitos nos CPDUs foi determinada pelo método de Masse et al.[12] com as seguintes modificações: as amostras foram diluídas a 1 em 5 com solução de Türk (Merck, Darmstadt, Alemanha). Para permitir a coloração dos leucócitos, a amostra foi incubada por pelo menos 10 minutos à temperatura ambiente. Uma alíquota foi colocada em uma câmara Nageotte modificada e deixada assentar por 10 minutos antes da contagem. A contagem foi realizada por microscopia de luz com uma objetiva com ampliação de 20x. Duas grades eram sempre avaliadas (80 retângulos, 100-µl de amostra diluída), exceto quando 10 ou mais células já tivessem sido contadas na primeira grade (40 retângulos). Uma célula observada em ambas as grades da câmara Nageotte corresponde a 0,05 leucócitos por µl.

Os Centros B e D usaram um kit de contagem de leucócitos (Leuco-COUNT, Becton Dickinson, Heidelberg, Alemanha) para análise citométrica do fluxo dos leucócitos. Uma amostra de 100 µl foi adicionada ao tubo usado para a contagem absoluta de leucócitos (TruCOUNT, Becton Dickinson) contendo um número definido de glóbulos. A amostra foi incubada com 400 µl do reagente Leuco-COUNT no escuro à temperatura ambiente durante 5 minutos. Um citômetro de fluxo (FACSCalibur, Becton Dickinson) foi usado para criar um gráfico de pontos (fluorescência 1 vs. fluorescência 2). Duas regiões foram criadas, uma para os glóbulos e uma para os leucócitos. Todos os eventos foram obtidos e armazenados. Quando 10.000 eventos tinham sido coletados na região dos glóbulos, a aquisição de dados foi interrompida. A estatística da região nos dados das amostras foi obtida e os cálculos foram realizados como segue: o número absoluto de leucócitos residuais foi determinado dividindo o número obtido de eventos de leucócitos pelo número de glóbulos fluorescentes obtidos e multiplicando este resultado pela concentração de glóbulos.

Para a contagem de hemácias, foi usado o método de Müller et al.[13]. Basicamente, as amostras foram diluídas a 1 em 10 com solução de Hayem (Merck, Darmstadt, Alemanha). Após a incubação de uma alíquota em atmosfera úmida, as hemácias foram contadas microscopicamente na câmara Neubauer. Quatro retângulos grandes da câmara foram contados. Uma célula observada corresponde a 25 hemácias por µl.

Análise estatística

Os resultados são dados em média e DP. O teste exato de Fisher foi usado para examinar as associações nas tabelas r x s. Um teste da soma das classificatórias foi usado para comparar as diferenças estatísticas entre dois grupos independentes e um teste das classificatórias assinaladas foi realizado para comparar as diferenças estatísticas entre dois grupos dependentes para medições contínuas. O teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparar as diferenças entre os vários grupos independentes. Para a comparação dos resultados obtidos no estudo de contagem multicêntrico, os valores contados dos centros participantes foram divididos pela média de todos os centros. "Ajustado para a unidade", um valor ótimo seria 1. Um teste t de uma amostra foi usado para comparar uma medição contínua de uma amostra com um valor dado.

A eficiência da coleta (EC) foi calculada como segue:

$$EC(\%) = \frac{\text{Rendimento plaquetário } (x10^{11}) \times 100}{\text{Contagem média de plaquetas } (x10^{9}/L) \times \text{volume de sangue processado (ml)}}$$

A contagem media de plaquetas foi calculada pelas contagens obtidas antes e após a aférese. O volume de sangue processado foi o volume processado menos o volume de anticoagulante.

RESULTADOS

Foram realizadas 554 separações; 441 (79,6%) destas puderam ser incluídas na avaliação. Os vários motivos para a exclusão de 123 (21,8%) procedimentos foram os seguintes: problemas técnicos (n = 44) tais como erros de software e alarmes; valores plaquetários (n = 28), Hemácias (n = 7) e Leucócitos (n = 12) antes da aférese fora da faixa normal; múltiplas doações em 14 dias (n = 15); desvio de Hct de mais de 5% antes e após a aférese (n = 15) e término prematuro devido a problemas com o acesso venoso (n = 6). Vários casos tiveram que ser excluídos devido a dois desses motivos.

Características dos doadores

A idade e o sexo dos doadores incluídos não foram igualmente distribuídos entre os centros (Tabela 2). No entanto, não existem diferenças estatísticas entre os casos incluídos e os excluídos (teste da soma das classificatórias). A Tabela 2 mostra a distribuição do sexo nos vários centros. A freqüência da exclusão não foi diferente para doadores femininos e masculinos em relação à sua proporção do número total (teste exato de Fisher, p = 0,38).

As características da linha de base laboratorial são dadas na Tabela 3, mostrando nenhuma diferença significativa entre os procedimentos incluídos e os excluídos (teste da soma das classificatórias). Entretanto, diferenças significativas foram encontradas entre os casos incluídos nos diferentes centros para Hct, Hb e plaquetas ($p < 0,001$), mas não para hemácias e leucócitos. Essas diferenças são consideradas como não clinicamente relevantes e podem ser devidas à distribuição desigual de idade e sexo. Os valores das plaquetas foram significativamente diferentes entre os doadores masculinos e femininos (p = 0,0247).

TABELA 2. Dados hematológicos antes da aférese dos doadores incluídos na avaliação*

Centro	Número de leucócitos por nL	Número de hemácias por pL	Nível de Hb (g/dL)	Nível de Hct (%)	Número de plaquetas por nL
A	6,4 ± 1,5	4,9 ± 0,4	14,7 ± 1,0	42,7 ± 2,7	241 ± 35
B	6,2 ± 1,4	4,9 ± 0,4	15,0 ± 1,0	45,1 ± 2,9	275 ± 34
C	5,9 ± 1,4	NA	NA	43,0 ± 3,1	253 ± 40
D	5,8 ± 1,2	4,8 ± 0,3	14,6 ± 0,8	41,7 ± 2,2	249 ± 42
E	5,8 ± 1,4	4,9 ± 0,4	14,7 ± 1,1	43,1 ± 2,9	248 ± 38
Média cumulativa	5,9 ± 1,4	4,9 ± 0,4	14,7 ± 1,1	42,9 ± 2,9	251 ± 39

* Os dados são apresentados como a média ± DP.

Separações

O volume de sangue processado, o consumo de ACD e o tempo de doação foram significativamente diferentes para os CPDUs de dose única e de dose dupla (Tabela 3). O protocolo do estudo intencionalmente deu liberdade total para os centros participantes usarem seu equipamento de aférese de acordo com as rotinas existente nos centros para refletir uma ampla faixa de condições operacionais de rotina. Considerando os valores médios, uma boa correlação entre o volume alvo e o medido foi conseguida. Os volumes médios foram 276 (alvo) e 266 (volume medido) para CPDUs de dose única e 434 (alvo) e 436 (volume medido) para CPDUs de dose dupla.

Concentrados plaquetários

O rendimento absoluto das plaquetas foi significativamente ($p < 0,05$) mais baixo para CPDUs de dose única ($3,11 \times 10^{11} \pm 0,40 \times 10^{11}$) comparados aos CPDUs de dose dupla ($5,29 \times 10^{11} \pm 0,93 \times 10^{11}$). Deve ser mencionado que os centros usaram diferentes rendimentos de plaquetas com alvo ajustado para CPDUs de dose dupla: os Centros A e B, $5,5 \times 10^{11}$; o Centro C, $4,3 \times 10^{11}$ e o Centro E, $5,8 \times 10^{11}$. Para CPDUs de dose única, a eficiência da coleta foi 53,7 ± 5,8% e para CPDUs de dose dupla, 58,3 ± 6,2% (Fig. 3), respectivamente. A diferença entre a eficiência da coleta de CPDUs de dose única e de dose dupla foi altamente significativa ($p < 0,001$). A contaminação de leucócitos por unidade monta a uma média de $0,11 \times 10^6 \pm 0,20 \times 10^6$ em um CPDU de dose única e $0,12 \times 10^6 \pm 0,22 \times 10^6$ em um CPDU de dose dupla ($p > 0,05$). Somente em 3 entre 441 CPDUs houve uma contaminação de leucócitos de mais de 1×10^6 por unidade observada. Os números de leucócitos nesses produtos foram $1,4 \times 10^6$, $1,7 \times 10^6$ e $3,0 \times 10^6$, respectivamente. Não foram encontrados motivos – tais como paradas da centrífuga durante o procedimento de aférese – para essas contagens de leucócitos elevadas. A máquina não dá um aviso ao operador quando há alta contaminação de leucócitos no produto. A contaminação média das hemácias foi $10,0 \times 10^6 \pm 11,89 \times 10^6$ por unidade de CPDU de dose única e $7,51 \times 10^6 \pm 13,35 \times 10^6$ por unidade para CPDU de dose dupla. Com relação à contaminação das hemácias, houve uma diferença significativa, embora não relevante, entre os CPDUs de dose única e de dose dupla. Não houve CPDUs com mais de 1×10^8 hemácias por unidade.

Segurança do doador

Nenhuma complicação severa ocorreu durante ou após o procedimento. Alguns casos de leve reações ao citrato foram observados e tratados com suplementação de cálcio oral.

Estudos de contagem

Os dados dos dois estudos de contagem são mostrados na Tabela 4. Os valores plaquetários foram similares aos números de hemácias e leucócitos na amostra de sangue total. A diluição das amostras de CPDU resultou em apenas pequena variação das contagens plaquetárias. Os valores plaquetários no Centro A mostraram uma tendência em direção a valores mais baixos. As contagens bastante baixas de leucócitos e hemácias nos CPDUs mostraram considerável desvio da média. Se os resultados de cada amostra fossem ajustados para a unidade (para a média de todos os centros) a maioria das contagens estariam muito próximas à média, por exemplo, perto do valor ótimo de 1 (Tabela 5). Não houve tendências significativas que permitissem o ajuste.

Nenhum efeito do envio pelo correio foi encontrado no centro de referência (dados não mostrados).

TABELA 3. Resultados dos CPDUs de dose única e de dose dupla*

	CPDUs de dose única	CPDUs de dose dupla
	(n =342)	(n =99)
Volume de sangue processado (ml)	2826 ± 409	3943± 639
Consumo de ACD (ml)	369± 63	524± 79
Tempo de doação (min)	55± 11	71± 13
Volume do produto (ml)	266± 26	436± 39
Rendimento plaquetário ($x10^{11}$)	3,11± 0,93	5,29± 0,40
Número de hemácias ($x10^6$/unidade)	10,94± 12,04	12,67± 23,68
Número de leucócitos ($x10^6$/unidade)	0,11± 0,20	0,12± 0,22

* Os dados são apresentados como a média ± DP.

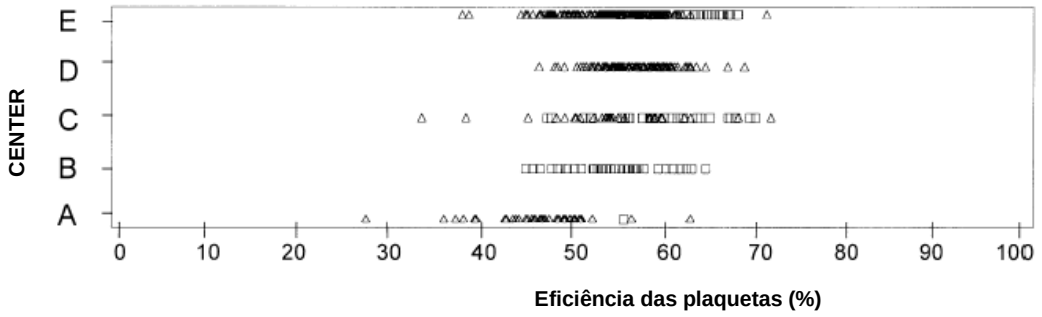

Fig. 3. Eficiência da coleta de plaquetas de 342 CPDUS de dose única (△) e 99 CPDUs de dose dupla (□) nos cinco centros participantes.

TABELA 4. Resultados dos dois estudos de contagem multicêntricos *

		Amostra 1 (CPDU)					Amostra 2 (CPDU)					Amostra 3 (sangue total)			
Dentro	Estudo	Número de Hemácias por μL	Número de Leucócitos por μL	Número de plaquetas por nL			Número de Hemácias por μL	Número de Leucócitos por μL	Número de plaquetas por nL			Nível de Hct (%)	Número de Hemácias por pL	Número de Leucócitos por nL	Número de plaquetas por nL
				1 em 1	1 em 2	1 em 4			1 em 1	1 em 2	1 em 4				
A	1	NA	0,05	948	948	948	25	11,6	909	930	960	45,4	5,25	4,6	202
	2	12,5	0,1	1027	1094	1084	2437	3,7	903	862	908	48,3	5,8	5,0	183
B	1	0	0,22	1209	1224	1244	100	4,3	1181	1226	1208	46,2	5,15	4,8	198
	2	7,05	1,0	1191	952	1360	3200	0,3	1086	988	1100	52,5	6,00	5,2	195
C	1	0	0,5	1214	1190	1164	50	8,5	1214	1194	1124	NA	5,29	4,3	200
	2	125	0,5	1279	1288	1292	3887	5,0	1067	1066	1116	52,3	5,92	4,87	209
D	1	0	0,11	1061	1052	1088	100	8,35	1052	1066	1080	44,7	5,06	4,52	221
	2	25	1,27	1113	1140	1124	2775	7,84	968	1000	988	49,0	5,80	4,25	196
E	1	0	0,1	1192	1144	1216	100	10,5	1174	1174	1176	47,5	5,24	4,6	212
	2	0	0,4	1334	NA	NA	2700	6,0	1123	NA	NA	49,7	5,68	4,7	192

* Duas amostras de CPDUs (amostra 2 adicionada de leucócitos) e uma amostra de sangue total foram enviadas e analisadas. As plaquetas nos CPDUs foram contadas não-diluídas (1 em 1) e diluídas 1 em 2 e 1 em 4.

TABELA 5. Comparação dos dois estudos de contagem para três amostras não-diluídas

	Estudo Ring 1			Estudo Ring 2		
Centro	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
A	0,834	0,807	0,977	0,855	0,875	0,942
B	1,063	1,049	0,958	0,991	1,053	1,004
C	1,067	1,078	0,968	1,065	1,034	1,076
D	0,933	0,934	1,069	0,926	0,938	1,009
E	1,048	1,043	1,026	1,110	1,089	0,986

* Número de plaquetas por μl após ajustar para unidade (a média de todos os centros).

DISCUSSÃO

O novo separador de células COM.TEC é uma versão melhorada do separador de células Fresenius AS.TEC 204. Ele é mais silencioso e oferece um menu simplificado, mais amigável. Um algoritmo de menu otimizado permite uma melhor personalização do procedimento (especialmente da anticoagulação) e do produto. As taxas de fluxo da retirada e retorno para o doador são automaticamente ajustadas ao volume de sangue calculado por altura e peso corpóreo. O valores de Hct e de plaquetas do doador antes da doação são inseridos no algoritmo do menu, assegurando a coleta do rendimento de plaquetas previsto. Além disso, o dispositivo torna possível coletar adicionalmente uma unidade de plasma, que é particularmente de interesse para os centros que realizam doações de múltiplos componentes.

O objetivo do presente estudo multicêntricos foi avaliar a adequabilidade da máquina para coletar CPDUs de dose única e de dose dupla com reduzido teor de leucócitos. Os resultados deste estudo multicêntrico mostram que houve apenas um pequeno desvio entre o rendimento plaquetário previsto e o real de −2,8 ± 12,0% para os CPDUs de dose única e −1,8 ± 9,5% para os de dose dupla, respectivamente. A eficiência da coleta do COM.TEC foi maior do que com os separadores de células AS.TEC 204[5,7,9] e AS 104[23,24] (ambos da Fresenius), mostrando o potencial melhorado da nova máquina. A eficiência da coleta para CPDUs de dose dupla foi um tanto maior em nosso estudo do que em um estudo francês (52,4 ± 7,3%) com o separador de células sanguíneas COM.TEC.[25] A eficiência do coletor de 53,7 ± 5,8% para CPDUs de dose única e 58,2 ± 6,2% para os CPDUs de dose dupla é comparável aos resultados relatados de outros separadores de células (tal como o Spectra, Cobe, Lakewood, CO e o Amicus, Baxter-Fenwal, Deerfield, IL).[3,6] Os CPDUs de dose única puderam ser coletados em menos de 1 hora, resultando em mais conveniência para o doador e mais produtividade da unidade de aférese. O alto número de doadoras em nosso estudo pode ter influenciado o tempo de doação e pode levar mais tempo para coletar CPDUs em mulheres com taxas de fluxo sanguíneo mais baixas. Além do mais, os diferentes valores plaquetários da linha de base dos doadores e doadoras deve ser considerado na análise dos resultados.

O rendimento plaquetário dos CPDUs de dose dupla foi similar ao rendimento plaquetário obtido com os separadores de células Amicus[4-7] e Spectra[3]. Esses produtos podem ser fracionados na Alemanha, pois a dose de plaquetas mínima solicitada por unidade é $2,0 \times 10^{11}$. O fracionamento dos CPDUs reduz os custos e minimiza a exposição do doador aos receptores quando as duas doses do CPDU de dose dupla são transfundidas para o mesmo paciente em dias consecutivos.

Os CPDUs com reduzido teor de leucócitos podem ser coletados com o COM.TEC durante a plaquetaférese sem filtração. Isto é conseguido por uma nova câmara de separação com formato semelhante a espirais contínuas. Portanto, a perda de plaquetas e/ou a ativação por filtragem é evitada. O uso de componentes do sangue com reduzido teor de leucócitos diminui o risco de aloimunização,[14,15] a geração de citocinas durante o armazenamento,[16-18] e a transmissão de CMV.[19-22] Os CPDUs coletados atenderam aos requisitos para componentes de sangue com reduzido teor de leucócitos conforme estabelecido pelos regulamentos dos EUA, Europa e Alemanha.[10,26,27] Somente três CPDUs mostraram uma contaminação de leucócitos ligeiramente além de 10^6 , atendendo ainda as diretrizes alemães e européias que exigem que 90% das unidades contenham menos de 1×10^6.[10,27] Com o COM.TEC, a contaminação de leucócitos nos CPDUs de menos de 1×10^6 pode ser conseguida com uma confiança de 99,9 a 98,1%. A barreira de hemácias da separação evita o derramamento de hemácias durante o processo de separação, resultando também em baixa contaminação de hemácias nos CPDUs. Portanto, todos os CPDUs mostraram números de hemácias de menos de 1×10^8, atendendo aos padrões alemães.[10] Estudos multicêntricos em separadores de células fornecem dados válidos somente se os métodos de contagem de células fornecerem

resultados comparáveis. Isto deve ser demonstrado por estudos de contagem. Os dois estudos de contagem que fizeram parte do estudo multicêntricos apresentado mostraram apenas pequena variação das contagens plaquetárias entre os centros participantes. As diferenças foram devido aos diferentes contadores de células usados nos centros participantes.[28] A variação um tanto alta para hemácias e leucócitos nas amostras com contaminação celular bastante baixa não é surpresa.

Houve várias falhas técnicas durante os procedimentos de separação com o COM.TEC resultantes de erros de software, o que exigiu a exclusão dos resultados. Essa taxa de exclusão foi similar à taxa de 6% de problemas técnicos reportada em um estudo sobre as primeiras versões de software do separador de células sanguíneas AS 104.[13] É fato bem conhecido que o software protótipo mostra uma alta taxa de falhas técnicas quando em uso de rotina. Entrementes, uma nova versão de software, voltada para essas falhas, foi lançada. Além dos problemas com a venopunção e os efeitos colaterais induzidos pelo anticoagulante, nenhuma reação adversa do doador foi observada. Devido ao baixo volume extracorpóreo de 180 ml, nenhum efeito colateral circulatório ocorreu.

Em resumo, o separador de células COM.TEC permite uma coleta segura e eficiente de CPDUs com reduzido teor de leucócitos. A contaminação de leucócitos nos CPDUs atende bem aos padrões correntes dos EUA e Europa.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a todos os doadores, enfermeiros e técnicos envolvidos neste estudo.

REFERÊNCIAS

1. Fournel JJ, Zingsem J, Riggert J, et al. A multicenter evaluation of the routine use of a new white cell-reduction system for collection of platelets. Transfusion 1997; 37:487-92.
2. Zingsem J, Zimmermann R, Weisbach V, et al. Comparison of a new WBC-reduction system and the standard plateletpheresis protocol in the same donors. Transfusion 2001;41:396-400.
3. Riggert J, Humpe A, Simson G, Kohler M. Quality and safety of platelet apheresis concentrates produced with a new leukocyte reduction system. Vox Sang 1998;74:182-8.
4. Burgstaler EA, Pineda AA, Potter BM, Brown R. Platelet-apheresis with a next generation blood cell separator. J Clin Apheresis 1997;12:55-62.
5. Moog R, Müller N, Goergens D. Platelet collection with the Amicus and AS.TEC 204 blood cell separators. Transfusion 1998;38:285-9.
6. Yockey C, Murphy S, Eggers L, et al. Evaluation of the Amicus separator in the collection of apheresis platelets. Transfusion 1998;38:848-54.
7. Moog R, Müller N. White cell reduction during plateletpheresis: a comparison of three blood cell separators. Transfusion 1999;39:572-7.
8. Benjamin RJ, Rojas P, Christmas S, et al. Plateletpheresis efficiency: a comparison of the Spectra LRS and AMICUS separators. Transfusion 1999;39:895-9.
9. Zeiler T, Zingsem J, Moog R, et al. Periodic alternating interface positioning to lower WBC contamination of apheresis: a multicenter evaluation. Transfusion 2000;40:687-92.
10. [Guidelines for the collection of blood components and the usage of blood products (hemotherapy)]. Revised ed. Cologne: Deutscher Ärzteverlag; 2000.
11. [Performance of preparative cellular hemaphereses for the collection of blood component concentrates. II. Recommendations of the German Society for Transfusion Medicine and Immunhematology for the preparative leuka- and plateletpheresis.] Infusionsther Transfusionsmed 1998; 25:376-82.
12. Masse M, Naegelen C, Pellegrini N, et al. Validation of a method of a simple method to count very low white cell concentrations in filtered red cells and platelets. Transfusion 1992;32:565-71.
13. Müller N, Kretschmer V, Godehardt E, et al. Improvement of separation efficiency and concentrate purity of the Fresenius AS 104: results of a multicenter study. Haemapheresis Scientific Workshop Group of DGTI. Transfus Sci 1993;14:105-14.
14. Sniecinski I, O'Donnell MR, Nowicki B, Hill LR. Prevention of refractoriness and HLA-alloimmunization using filtered blood products. Blood 1988;71:1402-7.
15. Kao KJ, Mickel M, Braine HG, et al. White cell reduction in platelet concentrates and packed red cells by filtration: a multicenter clinical trial. The Trap Study Group. Transfusion 1995;35:13-9.
16. Muylle L, Joos M, Wouters E, De Bock R, Peetermans ME. Increased tumor necrosis factor a (TNFa), interleukin 1, and interleukin 6 (IL-6) levels in the plasma of stored platelet concentrates: relationship between TNFa and IL-6 levels and febrile transfusion reactions. Transfusion 1993;33:195-9.
17. Aye MT, Palmer DS, Giulivi A, Hashemi S. Effect of filtration of platelet concentrates on the accumulation of cytokines and platelet release factor during storage. Transfusion 1995;35:117-24.
18. Muylle L, Wouters E, Peetermans ME. Febrile reactions to platelet transfusion: the effect of increased interleukin 6 levels in concentrates prepared by the platelet-rich plasma method. Transfusion 1996;36:886-90.
19. Gilbert GL, Hayes K, Hudson IL, James J. Prevention of transfusion-acquired cytomegalovirus infection in infants by blood filtration to remove leukocytes. Neonatal Cytomegalovirus Infection Study Group. Lancet 1989;1: 1228-31.
20. de Graan-Hentzen YC, Gratama JW, Mudde GC, et al. Prevention of cytomegalovirus infection in patients with hematologic malignancies by intensive white blood cell depletion of blood products. Transfusion 1989;29:757-60. 21.
21. van Prooijen HC, Visser JJ, van Oostendorp WR, de Gast GC, Verdonck LF. Prevention of primary transfusion-associated cytomegalovirus infection in bone marrow recipients by the removal of white cells from blood components. Br J Haematol 1994;87:144-7.

22. Bowden RA, Slichter SJ, Sayers M, et al. A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant. Blood 1995;86:3598-603.

23. Kretschmer V, See A, Söhngen D, et al. First results with the new cell separator AS 104. Plasma Ther Transfus Technol 1987;8:298-301.

24. Coffe C, Couteret Y, Devillers M, et al. First results obtained in France with the latest model of Fresenius cell separator: AS 104. Transfus Sci 1993;14:51-5.

25. Coffe C, Benguella M, Domy M, et al. Plateletpheresis concentrates produced with the COMTEC cell separator: the French experience. Transfus Apheresis Sci 2001;25:67-72. 26. Standards for blood banks and transfusion services. 21st ed. Bethesda: American Association of Blood Banks; 2002. 27. Guide to the preparation use and quality assurance of blood components. 8th edn. Strasbourg: Council of Europe Publishing; 2002.

28. Godehardt E, Kretschmer V, Krampitz B, Kunert J, Neumann HJ. Multicenter study of standardization of cell counting. Transfus Sci 1993;14:119-26.