

RENATA DE FREITAS DALAVIA VALE

**AVALIAÇÃO DE METODOLOGIAS PRECONIZADAS NO CONTROLE DE
QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DE BOLSAS DE SANGUE**

PPGVS/INCQS

FIOCRUZ

2010

AVALIAÇÃO DE METODOLOGIAS PRECONIZADAS NO CONTROLE DE
QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DE BOLSAS DE SANGUE

Renata de Freitas Dalavia Vale

Curso de Especialização em Controle da
Qualidade de Produtos, Ambientes e
Serviços Vinculados à Vigilância
Sanitária.

Instituto Nacional de Controle da
Qualidade em Saúde - Fundação
Oswaldo Cruz.

Orientadoras: Kátia Christina Leandro
Michele Feitoza Silva

Rio de Janeiro
2010

Vale, Renata de Freitas Dalavia

Avaliação das metodologias preconizadas no controle de qualidade físico-químico de bolsas de sangue / Renata de Freitas Dalavia Vale. Rio de Janeiro: INCQS / FIOCRUZ, 2010.

xvi, 69f.; il., tab.

Trabalho de conclusão do Curso de Especialização em Vigilância Sanitária - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Rio de Janeiro, 2009.

Orientadoras: Kátia Christina Leandro e Michele Feitoza Silva.

1. Bolsa de sangue. 2. Vigilância Sanitária. 3. Portaria SVS nº 950 / 1998. 3. Compêndios oficiais. 4. Controle físico-químico. 5. Linearidade I. Título

Evaluation of methodologies preconized for controlling
physical-chemical of plastics containers for human blood

AVALIAÇÃO DE METODOLOGIAS PRECONIZADAS NO CONTROLE DE
QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DE BOLSAS DE SANGUE

Renata de Freitas Dalavia Vale

Monografia submetida à Comissão Examinadora composta pelos professores e tecnologistas do Instituto Nacional de Controle de Qualidade da Fundação Oswaldo Cruz e por professores convidados de outras instituições, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Especialista a em Controle da Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços Vinculados à Vigilância Sanitária

Aprovado:

Prof. M. José Luiz Neves de Aguiar (INCQS/FIOCRUZ)

Prof. M. Wilson Camargo (FARMANGUINHOS/FIOCRUZ)

Prof. Ma. Cláudia Ribeiro Souto (INCQS/FIOCRUZ)

Dr. Filipe Soares Quirino da Silva (INCQS/FIOCRUZ)

Orientadora Dra. Kátia Christina Leandro (INCQS/FIOCRUZ)

Orientadora Ma. Michele Feitoza Silva (INCQS/FIOCRUZ)

Rio de Janeiro
2010

Aos meus pais e meu marido,
que me lembram todos os dias a
importância dos laços de amor.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado forças, coragem e determinação para realizar este trabalho;

À Direção do INCQS, por permitir a minha participação e me incentivar;

Ao Chefe de Departamento Filipe e à Chefe de Laboratório Sinéa, por permitirem e apoiarem meu desenvolvimento profissional;

Ao Nilo Dória (*in memoriam*) por idealizar o Programa de Bolsa de Sangue;

À minha orientadora Kátia Christina pelo carinho e pela presteza com que me orientou me mostrando exemplo de determinação e profissionalismo;

À minha orientadora Michele Feitoza, em especial, por me encorajar e incentivar contribuindo para meu crescimento profissional e sem a qual este estudo não seria possível;

Ao amigo Wilson Camargo por contribuir inestimavelmente na minha formação profissional;

Ao curso de Especialização por contribuir para a formação minha profissional;

Aos funcionários da Biblioteca e ao Diego do setor de Informática pela atenção e contribuição para este trabalho;

Aos amigos do Departamento de Química do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, em especial Ana Simões por torcerem e me incentivarem;

Aos amigos do curso de Especialização com os quais vivi grandes momentos, pela amizade e companheirismo que recebi;

À amiga Anna Fust sempre carinhosa e companheira nos momentos de dificuldade, pela amizade, paciência e encorajamento;

À amiga Mara pela atenção, pela ajuda e por me apresentar conceitos importantes para este estudo;

À minha família que são estímulos que me impulsionaram a buscar vida nova a cada dia, por tolerarem a minha ausência, concedendo a mim a oportunidade de me realizar ainda mais;

Em especial ao meu marido Nelson, que incentiva meus sonhos, pela paciência e compreensão, com muito amor.

“ É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver ...”

Martin Luther King

RESUMO

As bolsas de sangue são produtos destinados a coletar, identificar, armazenar, fracionar e transferir o sangue de forma eficiente e segura. Existem muitos tipos de bolsas de sangue e para manter a qualidade do sangue são utilizadas soluções anticoagulantes e/ou preservadoras. Esse produto está classificado pela RDC 185/2001 da ANVISA como um produto de Risco III e o regulamento técnico utilizado para seu registro é a Portaria SVS nº 950/1998. O Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde é responsável pelas análises prévias ao registro e controle desse produto sendo utilizadas, para esta finalidade, metodologias de controle físico, físico-químicos e biológico do produto. O objetivo deste estudo foi comprovar a criticidade do produto realizando uma revisão bibliográfica das metodologias preconizadas para o controle de qualidade físico-químico das soluções anticoagulante e/ou preservadora de bolsas de sangue. O histórico do controle de qualidade do produto foi obtido pela análise retrospectiva do produto no período de 1999 a 2008 onde foi possível verificar que os ensaios físico-químicos apresentaram maior incidência de insatisfatoriedades. A revisão bibliográfica foi baseada na comparação do controle realizado no INCQS e do controle recomendado pelo regulamento técnico vigente e pelos compêndios oficiais – Farmacopéia Européia, Farmacopéia Americana, Farmacopéia Brasileira e Farmacopéia Japonesa. Na primeira etapa foram apresentados os ensaios de controle físico, físico-químico e biológico do produto, na segunda etapa foram descritas as metodologias e técnicas recomendadas para os ensaios físico-químicos das soluções anticoagulante e/ou preservadora e na terceira etapa foi sugerida uma proposta elaborada pelo LBAIS para alteração da legislação vigente que considera o estudo preliminar do parâmetro de linearidade das metodologias desenvolvidas. O estudo justificou a investigação e a análise do impacto dos resultados no Programa de Bolsa de Sangue sendo sugeridas novas etapas para a avaliação das metodologias recomendadas no controle de qualidade físico-químico da solução anticoagulante e/ou preservadora das bolsas de sangue e ainda, documento institucional para ser encaminhado à ANVISA como sugestão técnica para novo regulamento técnico de bolsas plásticas de sangue.

Palavras-chave: Bolsa de sangue, Vigilância Sanitária, Compêndios oficiais, Controle físico-químico, Linearidade

ABSTRACT

Plastic containers for human blood are products to collect, identify, store, transfer and fractionate the blood efficiently and safely. There are many types of plastic containers for human blood and to maintain the quality of the blood anticoagulant and / or preservative solutions are used. The RDC 185/2001 ANVISA classifies this product, as a product of Risk and Regulation III class used for the record is the law nº. 950/1998. The National Institute for Health Quality Control is responsible for analyzing pre-registration and approval of the product being used for this purpose, methods of physical control, physical-chemical and biological product. The objective of this study was to test the criticality of the product by performing a literature review of the methods recommended for the control of the physical-chemical solutions anticoagulant and / or preserving the plastic containers for human blood. The history of quality control has been obtained by retrospective analysis of the product in the period 1999 to 2008 where it was possible that the physical-chemical tests showed a higher incidence of unsatisfactoriness. The literature review was based on comparison of the control carried out INCQS and the control recommended by the technical regulations in force and the official compendium - European Pharmacopoeia, United States Pharmacopeia, the Brazilian Pharmacopoeia and Japanese. In the first stage were presented tests of physical control, physical-chemical and biological product in the second stage, we described the methods and techniques recommended for testing physical and chemical solutions anticoagulant and / or preserving and third stage was proposed prepared by LBAIS to change legislation, which considers the study's primary measure of linearity of the proposed methodologies. The study justified the investigation and analysis of the impact of results on the Plastic Containers for Human Blood Program and suggested further stages to evaluate the methods recommended to control the physical-chemical units of blood and, institutional document referred to as a suggestion to ANVISA new technique for technical regulation of plastic containers for human blood.

Keywords: plastic containers, Surveillance, official compendium, physical-chemical control, Linearity

LISTA DE ABREVIações

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACD	Citrate, Citric Acid, Dextrose - Citrato, Ácido cítrico e Dextrose
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Trifosfato de adenosina
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CPD	Citrate, Phosphate, Dextrose - Citrato, Fosfato e Dextrose
CPDA	Citrate, Phosphate, Dextrose, Adenine - Citrato, Fosfato, Dextrose e Adenina
DDSS	Dodecilsulfato de sódio
DOU	Diário Oficial da União
DFT	Departamento de Farmacologia e Toxicologia
DI	Departamento de Imunologia
DM	Departamento de Microbiologia
DQ	Departamento de Química
EP	European Pharmacopoeia – Farmacopéia Européia
FB	Farmacopéia Brasileira
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
GT-AIS	Grupo Técnico de Artigo e Insumos de Saúde
IEC	International Electrotechnical Commission – Comissão Internacional Eletrotécnica
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
ISO	International Organization for Standardization – Organização Internacional de Padronização
JP	Japanese Pharmacopoeia – Farmacopéia Japonesa
LAC	Laboratório de Alimentos e Contaminantes
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública
LBAIS	Laboratório de Biológicos, Artigos e Insumos de Saúde
MMQO	Método dos Mínimos Quadrados Ordinários
MS	Ministério da Saúde

NBR	Norma Brasileira
OGM	Organismos Geneticamente Modificados
SAGM	Adenine, Dextrose, Manitol - Adenina, Dextrose e Manitol
SGA	Sistema de Gerenciamento de Amostra
SNVS	Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
SVS	Sistema de Vigilância Sanitária
RDC	Resolução Diretoria Colegiada
USP	United States Pharmacopoeia - Farmacopéia Americana
UV/VIS	Ultravioleta/Visível

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição e teor dos tipos de solução anticoagulante e/ou preservadora	20
Tabela 2: Tempo máximo e armazenamento do sangue nos diferentes tipos de soluções anticoagulante e/ou preservadora	21
Tabela 3: Ensaio físico preconizados na Portaria nº 950/1998.....	25
Tabela 4: Ensaio físico-químico preconizados na Portaria nº 950/1998 ..	26
Tabela 5: Ensaio biológico preconizados na Portaria nº 950/1998	26
Tabela 6: Parâmetros de conformidade do sistema	29
Tabela 7: Avaliação satisfatória da linearidade	30
Tabela 8: Modalidade de análise e avaliação final das amostras analisadas de bolsas de sangue no período de 1999 a 2008	40
Tabela 9: Ensaio realizado pelo LBAIS/INCQS e ensaio preconizados pelos compêndios oficiais	46
Tabela 10: Ensaio preconizados pelos compêndios oficiais	53
Tabela 11: Técnicas analíticas recomendadas pelos compêndios oficiais ..	54
Tabela 12: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de fosfato diácido de sódio	60
Tabela 13: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de teor de glicose e frutose monoidratadas e manitol	61
Tabela 14: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de 5-hidroximetilfurfural	63
Tabela 15: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de adenina	64
Tabela 16: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de citrato total	65
Tabela 17: Parâmetros da planilha de avaliação de linearidade de curva analítica desenvolvida por Souza & Junqueira	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática de bolsa de sangue	19
Figura 2: Gráfico do percentual de amostras de bolsas de sangue do programa Instrumentos de Saúde no período de 1999 a 2008	37
Figura 3: Gráfico do percentual de amostras cadastradas de bolsas de sangue no período de 1999 a 2008	38
Figura 04: Gráfico do percentual da avaliação final das amostras analisadas de bolsas de sangue no período de 1999 a 2008 quanto à satisfatoriedade	39
Figura 5: Gráfico do número de amostras analisadas de bolsas de sangue por ano no período de 1999 a 2008	39
Figura 6: Gráfico do número de amostras de cada tipo de bolsa de sangue e a avaliação final obtida no período de 1999 a 2008	41
Figura 7: Gráfico do percentual de insatisfatoriedade por tipo de ensaio nas amostras de bolsas de sangue no período de 1999 a 2008	42
Figura 8: Gráfico do percentual de insatisfatoriedade por ensaio físico-químico na solução anticoagulante e/ou preservadora no período de 1999 a 2008	43
Figura 9: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de glicose monoidratada	70
Figura 10: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de frutose monoidratada	71
Figura 11: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de manitol	72
Figura 12: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de 5-hidroximetilfurfural	73
Figura 13: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de adenina	74
Figura 14: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de citrato total	75

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	17
1.1 - Bolsas para armazenagem de sangue e o processo de transfusão	17
1.1.1 - Histórico	17
1.1.2 - Identificação dos tipos e características de bolsas de sangue	18
1.2 - Sistema Nacional de Vigilância Sanitária	21
1.2.1 – Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as parcerias dentro do SNVS	21
1.2.2 - Laboratórios Oficiais e a ANVISA	22
1.2.3 - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	23
1.3 - Controle da Qualidade de Bolsas de Sangue	24
1.3.1 - Programa de Bolsa de Sangue do Ministério da Saúde	24
1.3.2 - Legislação Sanitária para Bolsas de Sangue	25
1.3.3 - Análise de Bolsas de Sangue	26
1.3.4 - Garantia da Qualidade	28
1.3.4.1 - Sistema de Gestão da Qualidade	28
1.3.4.2 - Desenvolvimento e adaptação de metodologias ..	29
1.3.4.3 - Parâmetro estatístico de avaliação de metodologias	30
2 - OBJETIVOS	32
2.1 - Objetivo Geral	32
2.2 - Objetivos Específicos	32
3 - METODOLOGIA	33
3.1 - Avaliação retrospectiva dos dados disponíveis no SGA	33
3.1.1 - Universo de amostragem	33
3.1.2 - Tratamento dos dados	33
3.2 - Revisão bibliográfica do controle da qualidade preconizado para bolsas de sangue	34
3.2.1 - Ensaio analítico preconizado para o controle da bolsa de sangue	34

3.2.2 - Metodologias preconizadas para controle físico-químico da solução anticoagulante e/ou preservadora	34
3.2.3 - Metodologias desenvolvidas sugeridas pelo LBAIS	35
3.2.2.1 - Avaliação estatística preliminar das metodologias	35
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 - Avaliação retrospectiva dos dados disponíveis no SGA	36
4.1.1 - Universo de amostragem	36
4.1.2 - Tratamento dos dados	37
4.2 - Revisão bibliográfica do controle da qualidade preconizado para bolsas de sangue	44
4.2.1 - Ensaio analítico preconizado para o controle da bolsa de sangue	45
4.2.2 - Metodologias preconizadas para controle físico-químico da solução anticoagulante e/ou preservadora	52
4.2.3 - Metodologias desenvolvidas sugeridas pelo LBAIS	60
4.2.3.1 - Avaliação estatística preliminar das metodologias	66
5 - CONCLUSÃO	76
6 - PERSPECTIVAS	77
REFERÊNCIAS	78
APÊNDICE A: Relação dos tipos de bolsa de sangue analisados no período de 1999 a 2008	83
APÊNDICE B: Descrição da planilha de avaliação de linearidade de curva analítica desenvolvida por Souza & Junqueira	85
ANEXO A	88

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Bolsas para armazenagem de sangue e o processo de transfusão

1.1.1 - Histórico

O sangue é composto por células: hemácias (glóbulos vermelhos), leucócitos (glóbulos brancos) e plaquetas, todas suspensas no plasma. Sua produção ocorre na medula óssea e apresenta a função de transportar oxigênio aos tecidos, controlar infecções do organismo e ajudar no controle de sangramento. (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE, 2009a).

A transfusão sanguínea apresenta indicação para o tratamento de anemias graves, reposição do volume sanguíneo, restauração da capacidade de transporte de oxigênio aos tecidos e suplementação de hemocomponentes (O'ROURKE, 1983; CHIARAMONTE, 2004; KRISTENSEN e FELDMAN, 1997; ROZANSKI e LAFORCADE, 2004; LUCAS et al. 2004; apud COSTA JÚNIOR, 2006). Por esta finalidade pode ser considerada uma forma de transplante correspondendo a um tecido transportado para outro indivíduo (NUSBACHER, 1994; KRISTENSEN e FELDMAN, 1997; ROZANSKI e LAFORCADE, 2004 apud COSTA JÚNIOR, 2006).

A primeira transfusão sanguínea apresenta-se historicamente descrita no século XV onde o tecido sanguíneo de dois jovens foi retirado e infundido em um religioso. Procedimento este ausente de sucesso pois acarretou no falecimento dos jovens e do religioso (KRISTENSEN e FELDMAN, 1997; SCHMIDT e LEACOCK, 2002 apud COSTA JÚNIOR, 2006).

A circulação sanguínea foi inicialmente descrita por William Harvey e permitiu o desenvolvimento de novos estudos para a prática transfusional. Neste período foram iniciadas transferências do sangue em animais como cachorro, bezerro e ovelha. Esta prática foi proibida pela igreja embora demonstrasse um avanço claramente identificado (VICENTE, 2002).

No século XVIII foram relatados alguns avanços por Pontick e Landois, que obtiveram resultados positivos realizando transfusões homólogas¹ (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE, 2009b).

¹ Transfusão homóloga: Transfusão entre doadores de mesma espécie.

Somente no século XIX devida a preocupação com as severas hemorragias pós-parto foram reiniciados estudos da prática transfusional de forma satisfatória. Nesses estudos foi possível concluir que o ideal seria transfundir sangue de humanos para humanos para reduzir casos de reações severas, contra-indicando a transfusão de sangue de animais. O próximo desafio da época passou a ser a necessidade de se evitar a coagulação do sangue e para esta finalidade foram surgindo os primeiros estudos sobre anticoagulantes (VICENTE, 2002).

Ainda segundo Vicente (2002), novas descobertas tecnológicas continuaram no século XX onde os primeiros bancos de sangue apareceram nos Estados Unidos no por volta da década de 30 com o armazenamento do sangue pelo período de até 21 dias em frascos reutilizáveis. Esta forma de coleta apresentava grande risco de contaminação por corresponder a um sistema aberto. O aperfeiçoamento das técnicas transfusionais procedeu-se durante as duas guerras e após a 2ª Guerra Mundial iniciou-se o uso de bolsas plásticas para substituir os frascos de vidro usados na coleta, o que permitiu a redução do risco de contaminação pelo sistema fechado de coleta. Neste momento, surgiram também as centrífugas destinadas ao fracionamento do sangue e obtenção dos hemocomponentes (células vermelhas, plasma, plaquetas, crio-precipitado² e albumina). Entretanto, o grande aperfeiçoamento veio na década de 80, com o acréscimo de bolsas satélites, o que permitiu um fracionamento do sangue mais seguro.

1.1.2 - Identificação dos tipos e características de bolsas de sangue

Conforme descrição da norma brasileira NBR ISO 3826-1/2003, o produto bolsa de sangue consiste em bolsas plásticas estanques e estéreis, completas com tubo de coleta, tubos de saída e agulha para coleta, armazenamento, processamento, transporte, separação e administração de sangue e seus componentes. Podem conter soluções anticoagulantes e/ou preservadoras e os tubos de transferência e recipientes associados, dependendo da aplicação. Apresenta como finalidade:

- Manter a qualidade do sangue e seus componentes;

²Crio-precipitado: Precipitado constituído de proteínas plasmáticas (fator VIII, fator V e fibrinogênio)

- Permitir coleta, identificação, armazenamento, fracionamento e transfusão de sangue eficiente e segura;
- Possibilitar compatibilidade funcional com os equipamentos para transfusão de sangue;
- Fornecer resistência à ruptura e deterioração.

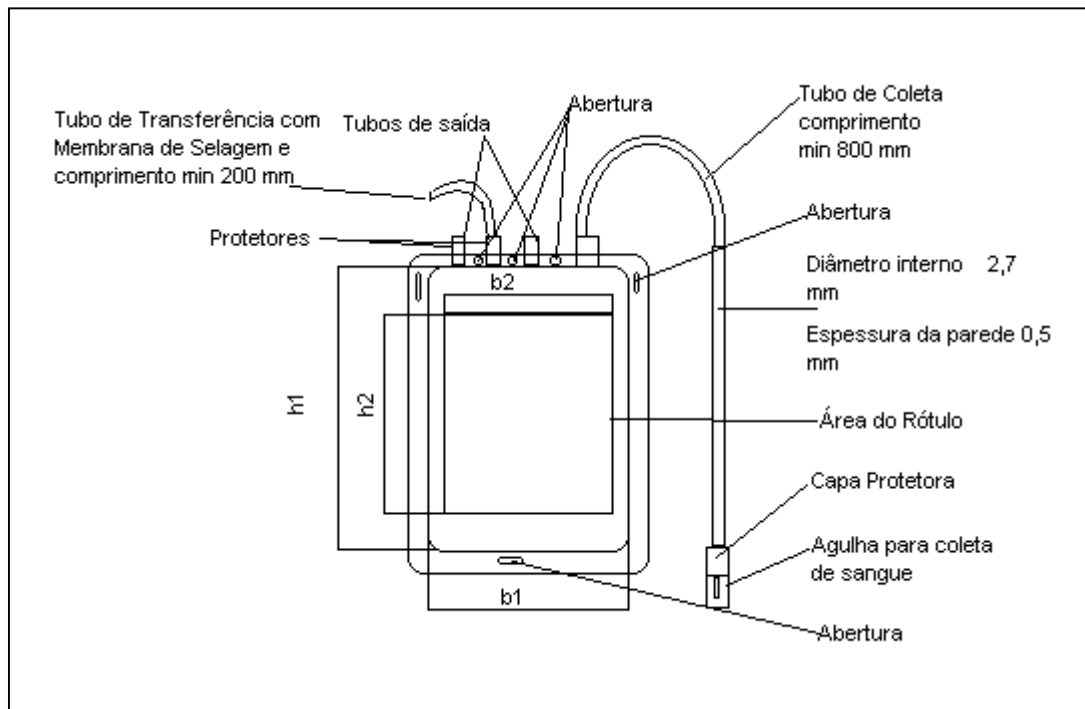


Figura 1: Representação esquemática de bolsa de sangue.

(Adaptado de BRASIL,1998)

A figura 1 demonstra os principais componentes da bolsa de sangue e nas condições ideais para uso, são transparentes, incolores, flexíveis, estéreis, apirogênicas, isentas de toxicidade, resistentes e compatíveis com o conteúdo sob condições normais de estocagem. Apresentam estabilidade biológica, química e física em relação ao seu conteúdo durante o período de validade, não permitindo a entrada de microorganismos nem a liberação de qualquer substância acima dos limites especificados para a solução anticoagulante e/ou preservadora, sangue ou componentes (BRASIL,1998).

Logo, a viabilidade do sangue estocado apresenta-se dependente da técnica da coleta, do anticoagulante, da temperatura de conservação, dos parâmetros bioquímicos e da frequência de homogeneização durante o armazenamento

(WILLER e RIEDESEL, 1985; AUTHEMENT et al., 1986; LOPES et al., 1995; HÖGMAN et al., 2002, apud COSTA JÚNIOR, 2006).

A principal característica da bolsa de sangue consiste no tipo de solução anticoagulante e/ou preservadora que apresentam. Os tipos de soluções anticoagulante e/ou preservadora diferem nos componentes que possuem e no tempo de conservação do sangue. Na tabela 1 estão descritos os tipos de soluções anticoagulante e/ou preservadora que existem:

Tabela 1: Composição e teor dos tipos de solução anticoagulante e/ou preservadora

Tipo de Solução	Componente	Teor (g/L)
Solução ACD	ácido cítrico anidro	Sol A: 6,93 – 7,66 Sol B: 4,18 – 4,62
	citrato de sódio diidratado	Sol A: 20,59 – 22,75 Sol B: 12,37 – 13,67
	glicose monoidratada	Sol A: 23,28 – 25,73 Sol B: 13,96 – 15,44
Solução CPD	citrato de sódio diidratado	24,98 – 27,61
	ácido cítrico anidro	2,85 – 3,15
	fosfato diácido de sódio monoidratado	2,11 – 2,33
	glicose monoidratada	24,22 – 26,77
	sódio	6,21 – 6,86
Solução CPDA	citrato de sódio diidratado	24,98 - 27,61
	ácido cítrico anidro	2,85 - 3,15
	fosfato diácido de sódio monoidratado	2,11 - 2,33
	glicose monoidratada	30,30 - 33,50
	adenina	0,247 - 0,303
	sódio	6,21 - 6,86
Solução SAG-M	adenina	Sol A: 0,161 – 0,177 Sol B: 0,256 – 0,283
	glicose monoidratada	Sol A: 8,55 – 9,45 Sol B: 20,90 – 23,10
	manitol	Sol A: 4,99 – 5,51 Sol B: 7,12 – 7,87
	cloreto de sódio	Sol A: 8,33 – 9,20 Sol B: 8,55 – 9,45

(Adaptado de BRASIL, 1998)

Conforme descrito na Farmacopéia Americana (WHOLE, 2009), o sangue e seus componentes podem ser utilizados logo após a coleta ou num período de até 42 dias se conservado à temperatura de 1 a 6 °C no tipo de solução anticoagulante

e/ou preservadora adequada. Assim, obedecendo a temperatura recomendada, o período de armazenamento do sangue dependerá do tipo de hemocomponente a ser extraído ou utilizado e da solução anticoagulante e/ou preservadora.

A composição da solução interfere diretamente no tempo de armazenagem do sangue, seus componentes apresentam finalidades distintas e em conjunto possibilitam sua conservação. Por exemplo, o citrato, o fosfato e o manitol contribuem para a estabilização da membrana celular mantendo o controle do pH, o citrato ainda atua na anticoagulação e a glicose fornece energia, contribuindo para a manutenção dos níveis de ATP (COSTA JÚNIOR, 2006).

A tabela 2 descreve o tempo máximo de armazenamento permitido pela solução anticoagulante e/ou preservadora:

Tabela 2: Tempo máximo e armazenamento do sangue nos diferentes tipos de soluções anticoagulante e/ou preservadora

Tipo de solução	Tempo de armazenamento
Solução ACD	até 21 dias
Solução CPD	até 21 dias
Solução CPDA	até 35 dias
Solução SAG-M1	até 42 dias
Solução SAG-M2	até 42 dias

(Adaptado de BRASIL, 1998)

1.2 - Sistema Nacional de Vigilância Sanitária

1.2.1 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária e parcerias dentro do SNVS

Na Constituição Federal, a Vigilância Sanitária apresenta-se definida nos artigos 196 e 200 como obrigação do Estado, não pairando dúvidas sobre a posição que desfruta o conjunto de ações desse campo como componente do conceito atual de saúde. A Constituição reconheceu a saúde como direito fundamental do ser humano e vinculou sua obtenção às políticas sociais e econômicas para redução do risco de agravos e ao acesso às ações e serviços destinados, não só, à sua recuperação, mas também, à sua promoção e proteção (COSTA, 2003).

Neste contexto, o sistema de vigilância sanitária surge para assegurar aos cidadãos a disponibilidade de insumos e produtos de saúde que cumpram requisitos de garantia de qualidade e apresenta-se baseado no controle do registro dos produtos comercializados, da verificação do cumprimento de Boas Práticas de Fabricação, do controle da qualidade de insumos e produtos e do monitoramento pós-comercial (INCQS, 1998).

A ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária – teve sua criação estabelecida pela Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999 e é definida como uma autarquia sob regime especial, ou seja, uma agência reguladora caracterizada pela independência administrativa, estabilidade de seus dirigentes durante o período de mandato e autonomia financeira. Apresenta como finalidade promover a proteção da saúde da população por intermédio do controle sanitário da produção e da comercialização de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária, inclusive dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados. Além disso, a agência atua junto ao Ministério das Relações Exteriores e instituições estrangeiras exercendo o controle de portos, aeroportos e fronteiras nos assuntos relacionados à vigilância sanitária (ANVISA, 2009a).

1.2.2 - Laboratórios Oficiais e ANVISA

As análises realizadas em produtos com finalidade sanitária devem ser realizadas em laboratórios oficiais, exigem para isto metodologias adequadas para o desenvolvimento científico e tecnológico do seu campo de ação. O laboratório integra, portanto, a estrutura da Vigilância Sanitária e na sua ausência não existirá ação consistente, especialmente para o controle sanitário de produtos (COSTA, 2003).

São laboratórios oficiais, o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) e os Laboratórios Centrais de Saúde Pública dos Estados (LACEN) aptos pela Lei nº 6437 (BRASIL, 1977) a realizarem análises de âmbito fiscal e também análises prévias, segundo legislação específica.

No caso do produto bolsa de sangue apenas o INCQS está autorizado a realizar análises com a finalidade de registro ou revalidação de registro (ANVISA, 2009b).

1.2.3. - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) é o laboratório central de referência no país, apresenta-se tecnicamente vinculado à Agência Nacional de Vigilância Sanitária e, administrativamente, à estrutura da Fundação Oswaldo Cruz. Seu papel é fornecer padrões de referência e métodos de análise de produtos, bem como procedimentos amostrais para servir de parâmetro aos demais laboratórios oficiais que integram a rede laboratorial de apoio às ações de Vigilância Sanitária (COSTA, 2003).

Apresenta a missão de “contribuir para a promoção e recuperação da saúde e prevenção de doenças, atuando como referência para as questões científicas e tecnológicas relativas ao controle da qualidade de produtos, ambientes e serviços vinculados à Vigilância Sanitária” (INCQS, 2009a).

Apresenta uma estrutura composta de 28 setores laboratoriais distribuídos em quatro departamentos técnicos, de acordo com a área de conhecimento: Farmacologia e Toxicologia (DFT), Imunologia (DI), Microbiologia (DM) e Química (DQ). Além do serviço de experimentação animal, produção de materiais químicos e biológicos de referência, análise de Organismos Geneticamente Modificados (OGM), biblioteca, setor de informática, sala de treinamento, auditório, área de lazer, salas para cursos de pós-graduação, oficinas de manutenção elétrica, mecânica e construção de dispositivos, marcenaria, laboratório de metrologia/calibração, almoxarifado, central de esterilização, setor de recebimento e armazenamento de amostras, departamentos e setores administrativos, gerenciais e educacionais. (INCQS, 2009b).

Conforme mencionado anteriormente no item 1.2.2 deste estudo, o INCQS consiste no único instituto a realizar análises em bolsas de sangue para fins de controle sanitário. Devido sua complexidade, as análises envolvem os departamentos de farmacologia e toxicologia, microbiologia e química, estando neste último centralizado o maior número de análises. No Departamento de Química, essas análises são responsabilidade do Laboratório de Artigos e Insumos para Saúde (LBAIS).

Para o controle das amostras é utilizado como programa gerencial o Sistema de Gerenciamento de Amostras – SGA. Esta ferramenta é utilizada pelo INCQS, desde 1999, para o controle da qualidade de produtos sujeitos à vigilância sanitária

e apresenta como principal finalidade informatização do fluxo operacional de análise. Este programa engloba todo percurso pelo qual a amostra deve seguir desde sua entrada até a liberação do laudo de análise, que no caso de bolsa de sangue é realizado sob a coordenação do Grupo Técnico de Artigos e Insumos de Saúde (GT-AIS) permitindo o perfeito acompanhamento do processo, visualização dos dados cadastrais e demais relatórios gerenciais (INCQS, 2009c).

1.3 - Controle da Qualidade de Bolsas de Sangue

1.3.1 - Programa de Bolsa de Sangue do Ministério da Saúde

Conforme descrito pela Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo, que consiste no maior banco de sangue da América Latina, em média, são coletadas 200.000 bolsas de sangue ao ano e este quantitativo corresponde a cerca de 50% do fornecimento de sangue utilizado pela população da cidade de São Paulo que em 2002 já possuíam em torno de 18 milhões de habitantes (SALLE, 2003). Esta demanda reflete a importância do controle de qualidade das bolsas de sangue.

As bolsas de sangue fazem parte do grupo de produtos classificado como produtos para saúde, anteriormente descrita como correlato e que correspondem aos produtos que não se enquadram nas definições de insumo farmacêutico, medicamento ou droga. Devido a sua complexidade são, em grande parte, importadas, havendo pequena participação, ainda em fase crescente, da indústria nacional (ANVISA, 2009c).

Sendo, considerada um produto de risco III segundo a RDC 185/2001, este se apresenta sob controle direto do Ministério da Saúde (MS).

O produto bolsa de sangue é gerenciado quanto aos ensaios estabelecidos pelo Grupo Técnico de Artigos e Insumos de Saúde (GT-AIS). Este grupo avalia as demandas dos programas do Ministério da Saúde e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e ainda, direciona as análises fiscais de acordo com a denúncia. Nesta função é responsável por coordenar análises prévias, orientações técnicas para aquisição de produtos nos processos licitatórios do MS, além de programas de monitoramento dos mesmos (INCQS, 2009d). O controle deste produto envolve os departamentos de Farmacologia e Toxicologia (DFT), de

Microbiologia (DM) e de Química (DQ) do INCQS estando submetido à legislação vigente – Portaria nº 950 de 26 de novembro de 1998 da ANVISA. (BRASIL, 1998).

1.3.2 - Legislação Sanitária para Bolsas de Sangue

O controle de qualidade das bolsas de sangue segue os parâmetros descritos na legislação vigente - Portaria nº 950/1998. Este consiste no principal instrumento legal de controle da qualidade das bolsas de sangue e está relacionado com os principais compêndios oficiais e às normas técnicas internacionais.

Esta legislação preconiza uma avaliação inicial de aspectos gerais pela verificação de parâmetros de transparência, flexibilidade, resistência, compatibilidade com o conteúdo sob condições normais de estocagem, dimensão, embalagem e rotulagem. Além da verificação de tubos de coleta, agulha para coleta e tubos de saída.

A avaliação dos aspectos específicos é recomendada por ensaios físicos, biológicos e físico-químicos (BRASIL, 1998). Esses ensaios apresentam-se relacionados nas tabelas 3, 4 e 5 de acordo com os tipos de ensaios envolvidos.

Tabela 3: Ensaios físicos preconizados na Portaria nº 950/1998

Ensaios Físicos	
Esvaziamento sob pressão	Permeabilidade ao vapor d'água
Tração nos tubos	Resistência e deformação a vazamento
Fixação de agulha	Alça de suspensão
Permanência do rótulo	Estabilidade térmica
Velocidade de coleta	Volume de conteúdo
Transparência	Absorvância
pH	

(Adaptado de BRASIL, 1998)

Tabela 4: Ensaios físico-químicos preconizados na Portaria nº 950/1998

Ensaios Físico-químicos	
Teor de fosfato diácido de sódio	Teor de cloreto
Teor de glicose, frutose e manitol	Acidez/alcalinidade
Teor de citrato de sódio	Resíduo por evaporação
Teor de sódio total	Absorção do extrato (UV)
Teor de adenina	Di (2- etil- hexil) ftalato extraível
Teor de ácido cítrico	Teor de 5 - Hidroximetilfurfural)
Matéria oxidável	Teor de amônia

(Adaptado de BRASIL, 1998)

Tabela 5: Ensaios biológicos preconizados na Portaria nº 950/1998

Ensaios Biológicos	
Citotoxicidade	Pirogênio / Endotoxinas bacterianas
Toxicidade sistêmica aguda	Hemólise
Esterilidade	

(Adaptado de BRASIL, 1998)

1.3.3 - Análise de Bolsas de Sangue

As análises de controle de qualidade são procedimentos ou ensaios realizados para a verificação da conformidade do produto em relação a informações declaradas. No Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, as análises contribuem para a avaliação da qualidade de insumos, produtos, ambientes ou mesmo serviços sujeitos à vigilância sanitária (INCQS, 2009e).

A legislação estabelece algumas modalidades de análise descritas conceitualmente pela Lei nº 6437 (BRASIL, 1977) e pelo Decreto nº 3.961 (BRASIL, 2001) e definidas como:

- Análise Prévia - análise “efetuada em determinados produtos sob o regime de vigilância sanitária, a fim de ser verificado se podem eles ser objeto de registro” (Decreto nº 3.961, art.3.º, inciso XXXIII);
- Análise de Controle - análise “efetuada em amostras de produtos sob regime de vigilância sanitária, após sua entrega ao consumo, e destinada a comprovar a conformidade do produto com a fórmula que deu origem ao registro” (Decreto nº 3.961, art.3.º, inciso XXXIV);

- Análise Fiscal - análise “efetuada em amostras de produtos submetidos ao sistema de vigilância sanitária, em caráter de rotina, para apuração de infração ou verificação de ocorrência de desvio quanto à qualidade, segurança e eficácia dos produtos e matérias-primas” (Decreto nº 3.961, art 3.º, inciso XXXV);
- Análise de Contraprova ou Perícia de Contraprova - análise efetuada em amostras de produtos sob regime de vigilância sanitária, quando ocorrer discordância do resultado condenatório da análise fiscal (Lei nº 6.437, art . 27 § 4º);

E ainda também, preconizadas apenas pelo INCQS, as modalidades de análises de orientação, especial e estudo colaborativo. A análise de orientação apresenta-se relacionada com programas nacionais e/ou regionais de saúde e com o Poder Judiciário, a análise especial para atendimento a programas de pesquisa, desenvolvimento de metodologias analíticas, materiais de referência e o estudo colaborativo relacionado com validações interlaboratoriais de metodologias analíticas para proficiência (INCQS, 2009f).

Conforme descrito no manual de coleta (INCQS, 1998), a análise prévia apresenta-se como imprescindível para a avaliação dos produtos mesmo que a legislação sanitária apresente ausência de considerações explícitas. A relevância técnico-científica desta modalidade de análise pode ser justificada pelas considerações:

- Comprovação das condições sanitárias indispensáveis para utilização do produto no processo de registro acompanhado de laudo laboratorial;
- Verificação da eficácia da metodologia analítica adotada no caso de divergência com a metodologia oficial;
- Solicitação de amostra para análise ou experimentação, por razões científicas, de acordo com a avaliação do analista do processo de registro; e
- Funcionalidade de padrão de referência na ausência de produto de referência aplicável à análise do produto após aprovação de registro.

A Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 185/2001 refere-se ao produto bolsa de sangue submetendo à análise prévia para posterior participação nos programas do MS. Na ANVISA, existem registros de apenas 11 fabricantes de bolsas de sangue.

1.3.4 - Garantia da Qualidade

1.3.4.1 - Sistema de Gestão da Qualidade

O INCQS apresenta seu Sistema de Gestão da Qualidade implementado sob as diretrizes da norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas ABNT NBR ISO/IEC 17025. Desde 2004 participa de processos de acreditação de ensaios microbiológicos, toxicológicos, farmacológicos e químicos coordenados pelo Inmetro – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INCQS, 2009g).

A norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 apresenta como finalidade fornecer ao laboratório subsídios para a elaboração de um programa da qualidade que demonstre sua competência técnica na produção de resultados. Contempla as fases que compreendem desde amostragem até o desenvolvimento de metodologias conferindo ao laboratório a responsabilidade da execução de atividades que atendam os requisitos da norma e satisfaçam a necessidade dos clientes, das autoridades regulamentadoras ou das organizações que fornecem reconhecimento.

De acordo com este sistema da qualidade, o laboratório segue uma série de procedimentos necessários para assegurar a qualidade dos ensaios, dentre os quais podemos citar:

- Qualificação de seus profissionais para a realização das atividades;
- Controle das condições ambientais de forma a não interferirem nos resultados obtidos,
- Materiais, padrões de referência e equipamentos necessários para a realização das atividades;
- Disponibilidade da documentação necessária para a comprovação da eficiência analítica, e
- Rastreabilidade e uniformidade de resultados na forma de laudos analíticos padronizados.

Sendo, a bolsa de sangue, um produto analisado no INCQS, este se apresenta como parte integrante do programa da Garantia da Qualidade na busca de resultados confiáveis (ABNT, 2005).

1.3.4.2 - Desenvolvimento e adaptação de metodologias

A obtenção de medições analíticas com qualidade garantida através da comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade estão sendo cada vez mais reconhecidas e exigidas. Este fato é justificado por dados analíticos não confiáveis poderem conduzir a possíveis decisões desastrosas e prejuízos financeiros irreparáveis (RIBANI, 2004).

Na química analítica, muitos estudos estão sendo desenvolvidos baseados nas técnicas de cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência e eletroforese capilar para análises quantitativas e qualitativas (RIBANI, 2004).

Nesta finalidade, a metodologia utilizada deve apresentar dados de qualidade aceitáveis e resultados analíticos confiáveis. Para isto, o equipamento, o procedimento analítico, os padrões e as amostras devem ser verificados antes e durante a análise (AGUIAR, 2006).

De acordo com a Farmacopéia Americana, a verificação da conformidade do método e do equipamento é denominada de “System Suitability” e consiste numa sequência de testes para verificação da resolução e reprodutibilidade do sistema cromatográfico na realização da análise (SYSTEM, 2009). A tabela 6 demonstra os parâmetros de conformidade desejáveis para o sistema cromatográfico (RIBANI, 2004).

Tabela 6: Parâmetros de conformidade do sistema:

Parâmetro	Recomendação
Fator de retenção (k)	$k > 2$
Repetibilidade (RSD)	$RSD < 2\%$ para $n > 5$
Resolução (Rs)	$R_s > 2$
Fator de alargamento (TF)	$TF < \text{ou} = 2$
Número de pratos da coluna (N)	$N > 2000$

(Adaptado de RIBANI, 2004)

Considerando que, durante o tempo de utilização da metodologia pode ser necessário, a realização de ajustes, estes podem acumular efeitos no desempenho do sistema e podem exigir revalidação da metodologia (SYSTEM, 2009).

Um estudo minucioso das alterações promovidas na metodologia deve ser realizado para que permita que o efeito de pequenas alterações possa ser analisado no parâmetro de robustez da validação analítica e apenas o caso de grandes variações sejam realizadas revalidações (RIBANI, 2004).

1.3.4.3.- Parâmetro estatístico de avaliação de metodologias

A avaliação completa e segura de uma metodologia é realizada pelo processo de validação. A Farmacopéia Americana conceitua validação de um procedimento analítico como processo pelo qual se estabelece as características de desempenho para satisfazer os requisitos necessários para sua aplicabilidade (VALIDATION, 2009).

Segundo o INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial, a linearidade consiste em um dos parâmetros de validação. Este parâmetro corresponde à capacidade do método em obter resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na faixa analítica especificada. Pode ser obtido pelo gráfico dos ensaios em função da concentração do analito ou calculado a partir da equação da regressão linear. Este último utilizado em maior frequência permite obter coeficiente de correlação linear (r) que indica se a reta pode ser considerada um modelo matemático e os coeficientes de regressão (a) e (b) (INMETRO, 2007).

Na avaliação da qualidade da curva realizada pelo coeficiente de correlação linear são verificadas abordagens diferenciadas pela Anvisa em 2003 e pelo Inmetro em 2007 conforme descrito na tabela 7.

Tabela 7: Avaliação satisfatória da linearidade

Parâmetro	ANVISA (2003)	INMETRO (2007)
Coeficiente de correlação linear	0,99	0,90
Número de níveis utilizado	5	7 (mínimo)

(Adaptado de RIBANI, 2004)

O método proposto por Souza & Junqueira (2005) para avaliação da linearidade consiste em uma série de testes que avaliam a resposta da metodologia.

Esta avaliação é iniciada pelo método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO) e permite obter, além da regressão linear, as informações descritas no APÊNDICE B:

- Verificação da homocedasticidade;
- Significância da regressão e o desvio de linearidade;
- Verificação da normalidade dos resíduos;
- Autocorrelação dos resíduos;
- Normalidade dos resíduos; e
- Limite de detecção e o limite de quantificação (AGUIAR, 2008).

Embora uma avaliação preliminar da metodologia pelo parâmetro de linearidade indique suas características de desempenho, estudos posteriores nos demais parâmetros de validação devem ser realizados para uma completa avaliação da eficiência da metodologia. Onde poderão ser avaliados minuciosamente: a especificidade e seletividade, a faixa linear de trabalho, a sensibilidade, o limite de detecção, o limite de quantificação, a exatidão, a precisão, a robustez e a incerteza de medição (INMETRO, 2007).

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo Geral

Avaliar as metodologias preconizadas no controle de qualidade físico-químico do INCQS das soluções anticoagulante e/ou preservadora de bolsas de sangue.

2.2 - Objetivos Específicos

- Realizar um estudo retrospectivo através do levantamento das informações disponíveis no SGA / INCQS de todos os produtos que apresentam bolsas plásticas com a finalidade de coletar, identificar, armazenar, fracionar ou transferir sangue e de todos os respectivos ensaios;
- Estabelecer um histórico das metodologias e justificar a relevância deste estudo para planejamentos científicos através da avaliação dos resultados de ensaios realizados em bolsas de sangue no período de 1999 a 2008 pelo INCQS;
- Analisar o perfil de insatisfatoriedade encontrado nos ensaios físico-químicos para verificação da conformidade das soluções anticoagulantes e/ou preservadoras de bolsas de sangue;
- Descrever os ensaios preconizados por compêndios oficiais e pela legislação vigente para o controle de qualidade do produto comparando com os ensaios realizados no LBAIS/INCQS;
- Comparar as metodologias preconizadas com as utilizadas especificamente, para o controle de qualidade físico-químico; e
- Propor sistemática de desenvolvimento de metodologias e respectivas validações de acordo com a análise comparativa dos ensaios preconizados na legislação vigente e em compêndios oficiais.

3 - METODOLOGIA

A metodologia para realização deste estudo foi dividida em duas partes. Na primeira etapa foram avaliados os dados disponíveis no programa Instrumentos de Saúde do Sistema de Gerenciamento de Amostras (SGA) do INCQS no período de 1999 a 2008 de modo a obter o histórico do produto no Brasil. Na segunda etapa procedeu-se a revisão bibliográfica das metodologias e técnicas envolvidas no controle de qualidade do produto com avaliação comparativa das metodologias utilizadas em desenvolvimento no LBAIS/INCQS frente às metodologias recomendadas pela legislação e pelos compêndios oficiais.

3.1 - Avaliação retrospectiva dos dados disponíveis no SGA

3.1.1 - Universo de amostragem

A avaliação retrospectiva foi realizada utilizando os dados das amostras analisadas no INCQS no programa Instrumentos de Saúde disponíveis no SGA, no período de 1999 a 2008.

A seleção do universo de análise foi realizada em duas etapas. Na primeira etapa obteve-se um grupo de amostras baseado nas consultas das informações técnicas de cada produto para seu enquadramento nos tipos de bolsas de sangue existentes. Na segunda etapa, esses dados foram avaliados por meio de sucessivos filtros sendo excluídas as amostras consideradas não conclusivas.

3.1.2 - Tratamento dos dados

Para avaliação dos dados foram utilizadas diferentes variáveis buscando descobrir a incidência quanto às insatisfatoriedades encaminhadas aos entes do SNVS no laudo do INCQS.

Utilizou-se como variáveis analíticas:

- Demanda do produto no programa Instrumentos de Saúde;
- Perfil analítico do produto;
- Avaliação final das amostras;
- Data da análise das amostras;

- Tipos de bolsas de sangue analisadas;
- Modalidade de análise das amostras;
- Tipos de ensaios realizados;
- Avaliação de cada ensaio físico-químico realizado.

Os resultados obtidos foram descritos através de gráficos com auxílio do programa Microsoft Office Excel versão 2007.

3.2 - Revisão bibliográfica do controle da qualidade preconizado para bolsas de sangue

Na etapa inicial da revisão bibliográfica foram identificados todos os ensaios preconizados para bolsas de sangue, incluindo os controles físico, físico-químico e biológico do produto. Na segunda etapa do estudo, foram focados os ensaios de controle físico-químico da solução anticoagulante e/ou preservadora e na terceira etapa apresentou-se a proposta de alteração da legislação vigente para os ensaios físico-químicos com estudos de linearidade para as metodologias desenvolvidas.

3.2.1 - Ensaio analítico preconizado para o controle da bolsa de sangue

Os ensaios analíticos preconizados para controle físico, físico-químico e biológico das bolsas de sangue foram apresentados na forma de tabela indicando os ensaios realizados no LBAIS/INCQS e relacionando os ensaios preconizados pelos compêndios oficiais. Adotou-se a nomenclatura de presente (P) e ausente (A) para informar os ensaios recomendados ou realizados.

Posteriormente o LBAIS/INCQS e cada compêndio oficial foram avaliados separadamente para descrever a abordagem realizada no produto.

3.2.2 - Metodologias preconizadas para controle físico-químico da solução anticoagulante e/ou preservadora

Apresentação dos ensaios de controle físico-químico da solução anticoagulante e/ou preservadora foi realizada estabelecendo critérios comparativos entre as metodologias preconizadas nos compêndios oficiais e avaliando os ensaios e as técnicas envolvidas para cada ensaio separadamente.

3.2.3 - Metodologias desenvolvidas sugeridas pelo LBAIS

As metodologias desenvolvidas pelo LBAIS para o controle de qualidade físico-químico como atualização da legislação vigente foram indicadas, assim como as justificativas e conclusões a respeito das alterações realizadas.

3.2.3.1 - Avaliação estatística preliminar dos ensaios

As metodologias foram avaliadas separadamente pelo tratamento dos dados obtidos no ensaio baseado nos parâmetros estipulados pela planilha de avaliação de linearidade de curva analítica desenvolvida por Souza & Junqueira (2005).

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Avaliação retrospectiva dos dados disponíveis no SGA

Esta etapa inicial do estudo é imprescindível para a verificação da relevância e do impacto de cada ensaio envolvido na avaliação deste produto de alta complexidade e risco, conforme RDC nº 185/2001 da ANVISA. Os dados extraídos do SGA no período de 1999 a 2008 revelaram o perfil de qualidade deste produto assim como sua criticidade.

4.1.1 - Universo de amostragem

A seleção do universo de amostragem foi realizada conforme descrito no item 3.1.1. As informações técnicas sobre os produtos foram importantes para a sua classificação como bolsa de sangue, isto devido alguns produtos não possuírem a denominação bolsa de sangue, mas apresentarem bolsa plástica para coleta, armazenamento, processamento, transporte, separação e administração de sangue e seus componentes, um exemplo é o produto denominado kit de aférese.

O SGA apresentou um quantitativo de 1160 amostras cadastradas no programa de Instrumentos de Saúde, sendo 411 amostras correspondentes a bolsas de sangue. A relação dos tipos de amostras de bolsa de sangue pertencentes ao primeiro grupo apresenta-se descrita no APÊNDICE A.

Analisando a demanda do programa de Instrumentos de Saúde, verificamos que o número de amostras de bolsas de sangue cadastradas, 411 amostras, correspondeu a 35,4% da demanda total de produtos neste período, esta informação apresenta-se descrita na figura 2 e demonstra a elevada importância do controle deste produto.

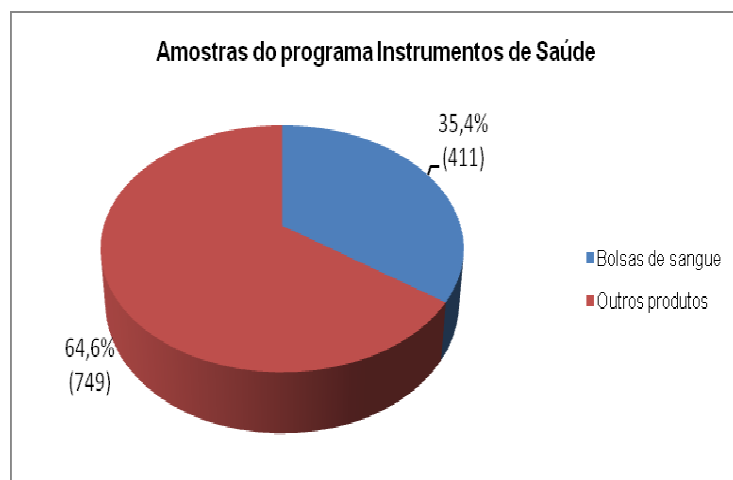


Figura 2: Gráfico do percentual de amostras de bolsas de sangue do programa Instrumentos de Saúde no período de 1999 a 2008.

Na segunda etapa, foram obtidas as informações de cadastro de análise correspondente a 411 amostras de bolsas de sangue e para a seleção do grupo de amostras de trabalho foram excluídas as amostras canceladas, correlativos de amostras e amostras com resultados ausentes ou não determinados segundo os critérios:

- Amostras canceladas – amostras cadastradas no SGA, porém não distribuídas para análise;
- Correlativos de amostras – alterações de laudos finalizados das amostras correspondentes não sendo considerado como novas amostras;
- Amostras com resultados ausentes ou não determinados – amostras com ausência de avaliação conclusiva.

Sendo assim, foram excluídas 23 amostras canceladas, 7 amostras de correlativos e 6 amostras com resultados ausentes ou não determinados e obteve-se um grupo de amostras para trabalho correspondente a 375.

4.1.2 - Tratamento dos dados

A avaliação do produto no período de 1999 a 2008 foi realizada segundo a análise de variáveis de forma a obter a descrição do histórico do produto no país.

Conforme descrito no item 4.1.1 durante o período proposto 411 amostras foram cadastradas no SGA. Desconsiderando as amostras correspondentes a correlativos, obtivemos um quantitativo de 404 amostras cadastradas, entre as quais 375 amostras (92,8%) foram concluídas, 23 amostras (5,7%) foram canceladas e 6 amostras (1,5%) não obtiveram avaliação conclusiva como descrito na figura 3. Esta informação revela o grande envolvimento institucional na questão de controle do produto.

Cabe ressaltar que alguns dos motivos de cancelamento foram amostras violadas ou quantidades insuficientes para análise.

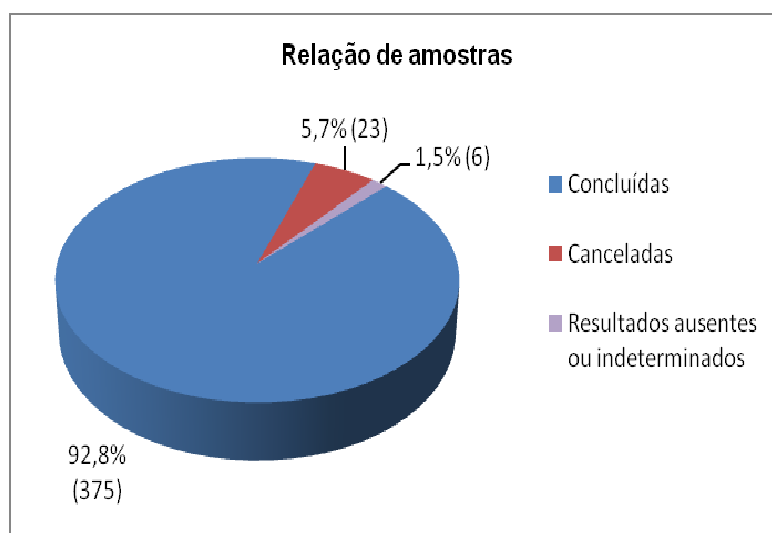


Figura 3: Gráfico do percentual de amostras cadastradas de bolsas de sangue no período de 1999 a 2008.

Realizando uma análise geral da avaliação final das amostras no período de estudo verificou-se que a insatisfatoriedade do produto correspondeu a 17,9%, ou seja, 67 amostras do número total de amostras analisadas conforme descrito na figura 4. É importante destacar que cada amostra de bolsa de sangue pode ser submetida a um quantitativo que varia de 5 a 16 ensaios e apenas uma insatisfatoriedade compromete toda avaliação.

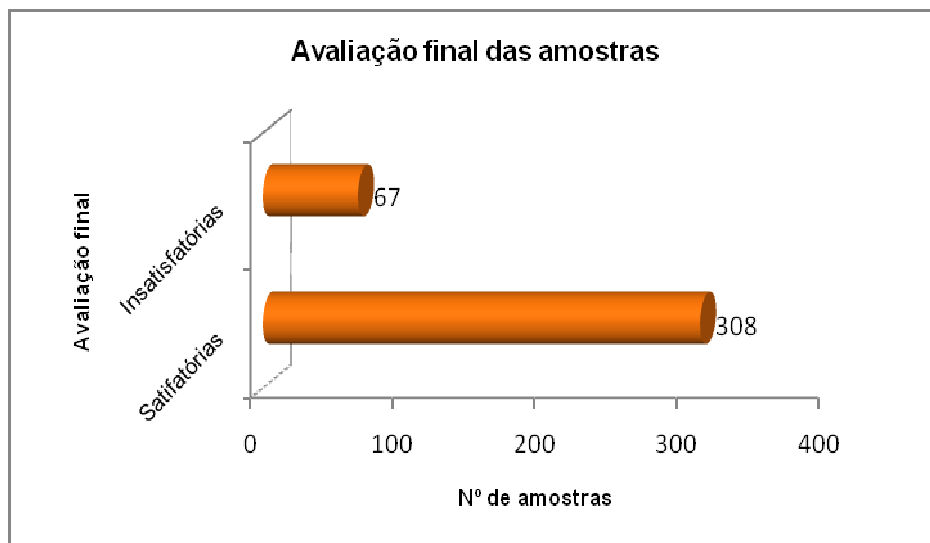


Figura 4: Gráfico do percentual da avaliação final das amostras analisadas de bolsas de sangue no período de 1999 a 2008 quanto à satisfatoriedade.

O parâmetro de avaliação da data de análise das amostras informou o número de amostras analisadas em cada ano. A figura 5 demonstra o perfil do produto com relação aos anos em que foram realizadas análises.

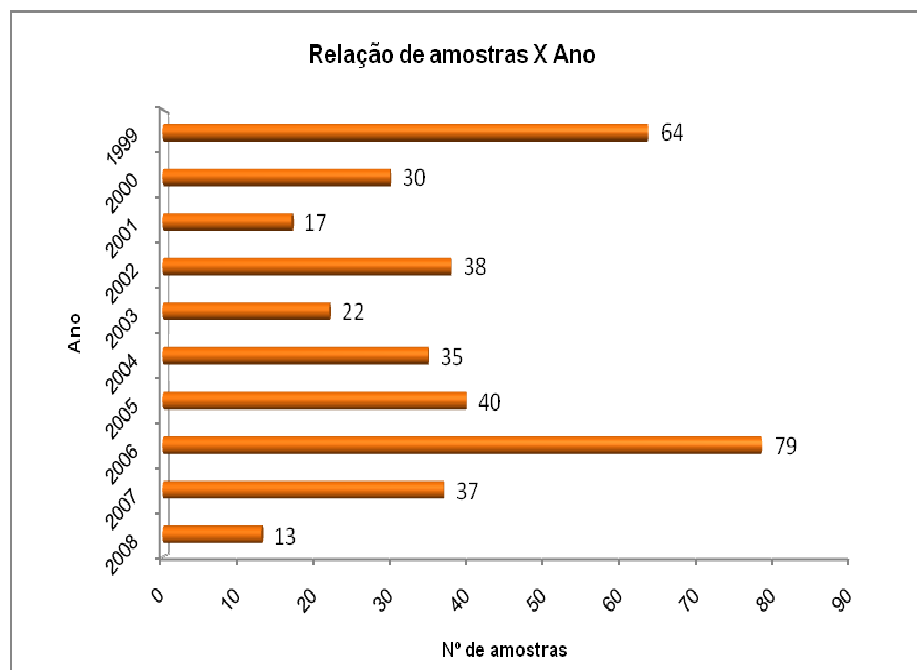


Figura 5: Gráfico do número de amostras analisadas de bolsas de sangue por ano no período de 1999 a 2008.

Foi verificado que os anos de 1999 e 2006 apresentaram maior número de análises do produto, isto devido, principalmente, à implementação da Portaria nº 950/1998, revalidações de registros e revalidações de registros dos produtos.

A redução do número de amostras nos anos de 2007 e 2008 é justificada pela alteração da amostragem da análise prévia que era realizada em triplicata, ou seja, 3 amostras de lotes consecutivos, e passou a ser realizada como amostragem única (1 lote apenas). Esta alteração foi baseada nos estudos realizados pelo grupo técnico do INCQS e não influenciou a relevância dos resultados obtidos.

A análise do parâmetro de modalidade de análise revelou a preocupação com a necessidade de um controle pós-comercial para a prevenção de danos ou reações adversas e que se apresenta ausente nos dias atuais. Esta preocupação pode ser observada e está evidente no Boletim Informativo da Tecnovigilância para investigação pós comercial em produtos para saúde elaborado pela ANVISA (ANVISA, 2009d).

Na avaliação deste parâmetro, descrita na tabela 8, a modalidade de análise prévia apresentou-se muito superior às demais modalidades de análise. A tabela também permite observar os baixos índices de insatisfatoriedades encontrados.

Tabela 8: Modalidade de análise e avaliação final das amostras analisadas de bolsas de sangue no período de 1999 a 2008.

Modalidade	Nº amostras	Satisfatórias	Insatisfatórias
Controle	1	0 (0%)	1 (100%)
Especial	2	0 (0%)	2 (100%)
Estudo colaborativo	15	14 (93,3%)	1 (6,7%)
Fiscal / Contra-Prova	30	19 (63,3%)	11 (36,7%)
Orientação	23	22 (96,2%)	1 (3,6%)
Prévia	304	253 (83,1%)	51 (16,9%)

(Fonte: SGA/INCQS)

Vale ressaltar que as modalidades de análise especial, estudo colaborativo e orientação não fazem parte da legislação vigente (BRASIL, 1977) sendo particulares ao INCQS. Essas modalidades representam para o instituto recursos de trabalho com enfoque de qualidade, no caso do estudo colaborativo, e também funcionam como instrumentos técnicos para o SNVS.

No grupo de amostras de trabalho (amostras analisadas e concluídas) temos as amostras de bolsas de sangue com solução anticoagulante e/ou preservadora e as amostras de bolsas secas, ou seja, produtos com bolsas de sangue sem solução anticoagulante e/ou preservadora. Conforme descrito no item 1.1.2 da introdução, os tipos de solução anticoagulante e/ou preservadora caracterizam o tipo de bolsa de sangue e correspondem às bolsas de sangue CPDA, CPD, CPD-SAGM e ACD. A avaliação por tipo de bolsa de sangue apresenta-se descrita na figura 6 assim como a avaliação final obtida.

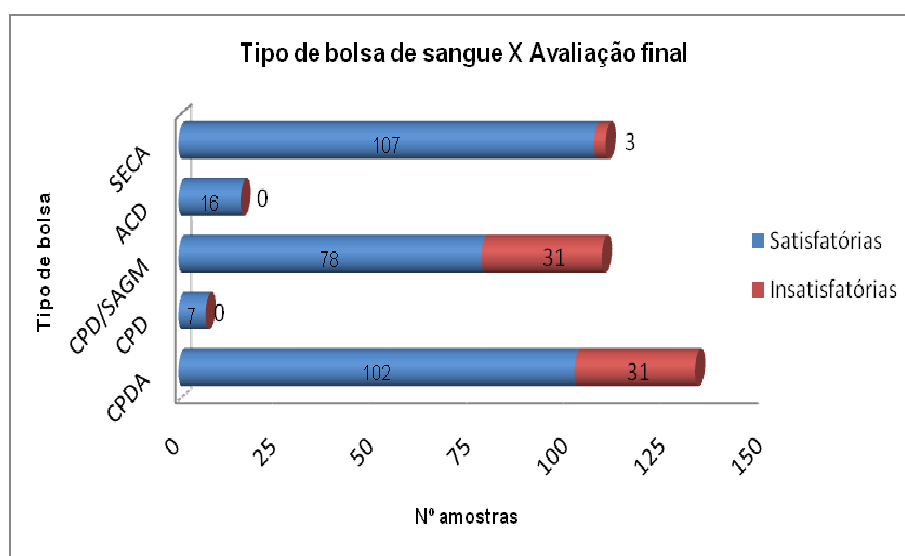


Figura 6: Gráfico do número de amostras de cada tipo de bolsa de sangue e a avaliação final obtida no período de 1999 a 2008.

Verificamos a ausência de insatisfatoriedades em bolsas do tipo CPD e ACD, além da elevada incidência de bolsas secas analisadas que compreende um grande número de produtos entre os quais encontramos os kits de aférese, as bolsas de criopreservação e as bolsas para coleta e armazenamento.

A prevalência da maior incidência do número de bolsas do tipo CPDA é justificada pela maior utilização deste produto. Entretanto, estudos revelaram que a bolsa que apresenta acoplada bolsa CPD e bolsa SAGM (CPD/SAGM) demonstra vantagens quando comparadas com bolsas do tipo CPDA, mantendo o sangue viável por tempo de estocagem superior (COSTA, 2006).

O monitoramento do controle de qualidade (físico, físico-químico e biológico) do produto justifica sua complexidade. Um exemplo da importância da avaliação ou do controle físico do produto é a necessidade da determinação do controle do teor de di-(2-etilhexil) ftalato, componente do plastificante da embalagem que lhe confere flexibilidade. Estudos em animais demonstraram que os produtos de sua decomposição em índices elevados promovem o desenvolvimento de carcinomas (ABRANTES e DUARTE, 1992).

A figura 7 descreve a proporção de insatisfatoriedades encontradas entre os ensaios físicos, físico-químicos e biológicos.

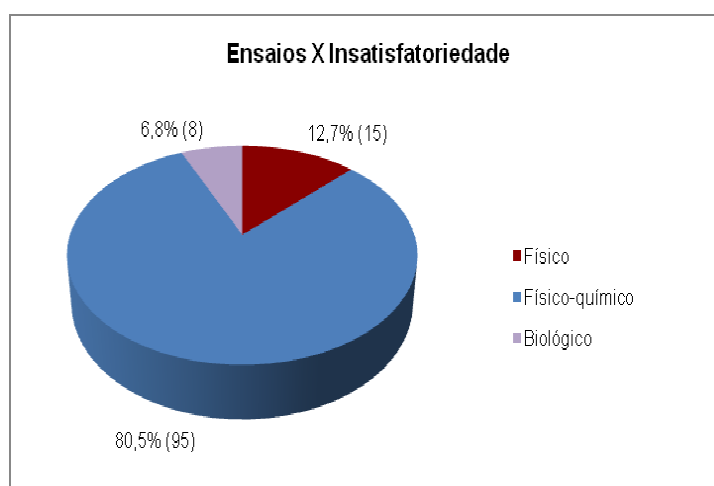


Figura 7: Gráfico do percentual de insatisfatoriedade por tipo de ensaio nas amostras de bolsas de sangue no período de 1999 a 2008.

Os ensaios físico-químicos corresponderam a 80,5% de todas as insatisfatoriedades justificando seu impacto no controle de qualidade do produto. Na grande maioria esses ensaios são realizados para verificação da conformidade da solução anticoagulante e/ou preservadora e são imprescindíveis para manutenção da qualidade do sangue.

Sendo, o objetivo deste estudo avaliar os ensaios envolvidos neste controle, foi realizada a análise de cada ensaio isoladamente para verificar sua relevância. Os percentuais obtidos apresentam-se relacionados com o número de amostras que realizam estes ensaios e estão descritos na figura 8.

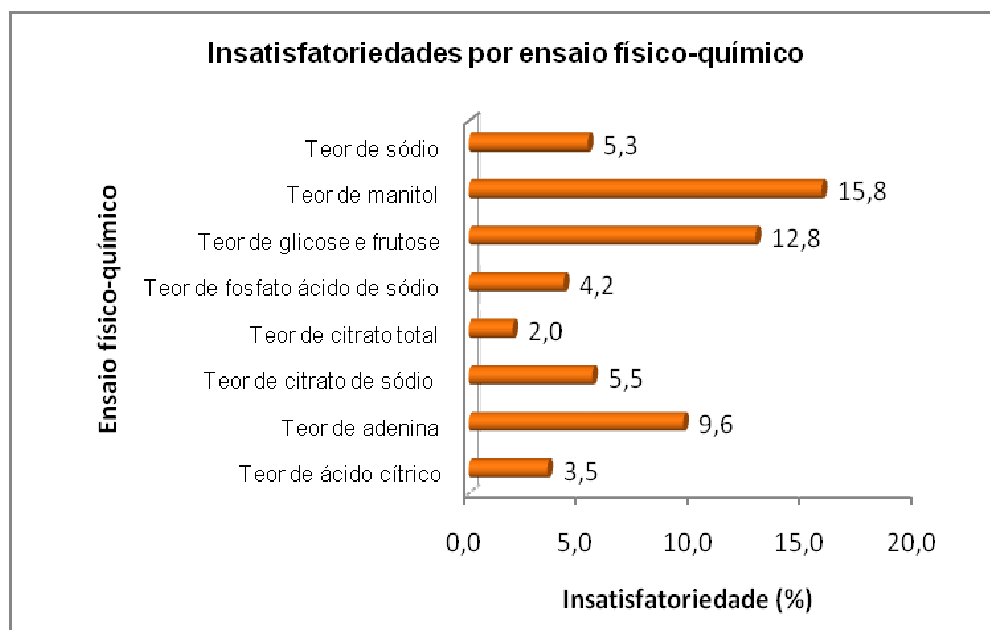


Figura 8: Gráfico do percentual de insatisfatoriedade por ensaio físico-químico na solução anticoagulante e/ou preservadora no período de 1999 a 2008.

Nesta análise verificou-se que os ensaios considerados mais críticos foram os ensaios de determinação dos teores de glicose e frutose monoidratadas, manitol e adenina, isto em decorrência dos percentuais de reprovações encontrados:

- Manitol: 15,8%
- Glicose e frutose monoidratadas: 12,8%
- Adenina: 9,6%

É importante destacar que os ensaios de glicose e frutose e manitol fazem parte de uma mesma metodologia conforme a Portaria nº 950/1998, o que nos sugere a necessidade de revisão de todos os pontos da metodologia para garantir os resultados, já que a determinação quantitativa dessas substâncias é muito relevante.

Em virtude da adenina, no gráfico anterior, apresentar índice de insatisfatoriedade de 9,6% e sendo as bolsas que possuem adenina (CPDA e SAGM) as mais reprovadas, este ensaio possui prioridade no planejamento dos processos de revisão de metodologia e processos de validação.

O ensaio de determinação do teor de 5-hidroxiacetilfurfural consiste no único ensaio físico-químico que apresenta 100% de satisfatoriedade. Esta substância é produzida pela decomposição térmica da glicose e seu controle é extremamente

importante pois estudos demonstram que em concentrações superiores a 5 mgL^{-1} pode provocar febre e em situações extremas o óbito do paciente apresenta-se como uma das justificativas deste controle (ANDRADE, 2009).

Na solução anticoagulante e/ou preservadora ainda são realizados os ensaios físicos de determinação do pH e determinação do volume médio. Avaliando as informações a respeito desses ensaios verificou-se que o ensaio de determinação de pH apresentou índice de insatisfatoriedade baixo (2,8%) e o ensaio de determinação do volume médio apresentou satisfatoriedade em todas as amostras no período de estudo.

4.2. - Revisão bibliográfica do controle da qualidade preconizado para bolsas de sangue

Esta etapa do estudo possui a finalidade de explicar detalhadamente como o controle da qualidade do produto é realizado comparando, explicando e justificando as metodologias recomendadas para os ensaios.

Inicialmente procedeu-se uma revisão bibliográfica adotando a Portaria nº 950/1998 como referência e comparando os ensaios realizados no LBAIS e os preconizados nos compêndios oficiais. Num segundo momento, de acordo com o objetivo do estudo, destacaram-se os ensaios físico-químicos da solução anticoagulante e/ou preservadora. Na última etapa deste estudo foram apresentadas as propostas elaboradas pelo LBAIS para alterações na legislação vigente, levando em consideração a avaliação retrospectiva (item 4.1) que elegeu os ensaios com maior índice de insatisfatoriedade.

Os compêndios utilizados na revisão bibliográfica foram: Farmacopéia Brasileira, Farmacopéia Européia, Farmacopéia Americana e Farmacopéia Japonesa segundo recomendação da ANVISA (BRASIL, 2009).

A Farmacopéia Brasileira consiste em um compêndio oficial de nosso país. A Farmacopéia Européia, a Farmacopéia Americana e a Farmacopéia Japonesa foram escolhidas devido a harmonização existente entre elas mencionada na Farmacopéia Européia. Esta harmonização busca a intercambialidade de capítulos gerais e monografias apresentando preocupação na obtenção de métodos permutáveis e requisitos idênticos para todos os atributos de um produto. Embora este seja o

objetivo, foram verificadas abordagens diferenciadas e estas se apresentam descritas neste estudo (PHARMACOPOEIA, 2008).

Outras farmacopéias descritas na RDC 37/2009 (BRASIL, 2009) não foram utilizadas pela dificuldade do acesso e por não possuírem descrições metodológicas para bolsa de sangue.

4.2.1 - Ensaios analíticos preconizados para o controle da bolsa de sangue

A revisão bibliográfica dos ensaios analíticos recomendados para controle de qualidade do produto apresenta a finalidade de demonstrar a complexidade do produto pelo número de ensaios preconizados e, principalmente, pelas divergências nas metodologias recomendadas, incluindo técnica, equipamento e preparo de amostra.

A Portaria nº 950/1998 consiste no principal instrumento de controle da qualidade das bolsas de sangue analisadas pelo INCQS. Sendo este instituto, laboratório referência do país, a revisão bibliográfica foi desenvolvida baseada nos ensaios preconizados nesta legislação (BRASIL, 1998).

São verificadas abordagens diferenciadas para a bolsa de sangue na Farmacopéia Brasileira, na Farmacopéia Americana, na Farmacopéia Européia e na Farmacopéia Japonesa

Uma análise geral dos compêndios oficiais permite verificar que os ensaios recomendados no produto visam o controle da solução anticoagulante e/ou preservadora e da embalagem.

Na solução anticoagulante e/ou preservadora são realizados ensaios para verificação da conformidade da concentração dos componentes presentes e testes de segurança biológica.

Na embalagem são recomendados ensaios para verificação da compatibilidade da embalagem com o sangue e a solução anticoagulante e/ou preservadora mantendo sua qualidade além dos limites tolerados (CONTAINERS, 2008) e de alterações prejudiciais à qualidade do sangue e seus componentes pela liberação de contaminantes do material plástico em quantidades suficientes para alterarem a qualidade do produto (PLASTICS, 2008).

Os ensaios preconizados pelos compêndios oficiais e os ensaios realizados no LBAIS/INCQS apresentam-se descritos na tabela 9 pela indicação de presença (P) e ausência (A).

Tabela 9: Ensaios realizados pelo LBAIS/INCQS e ensaios preconizados pelos compêndios oficiais

Ensaio	Portaria nº 950/1998	LBAIS/ INCQS	FB	USP	EP	JP
Físico	Esvaziamento sob pressão	A	P	A	P	A
	Tração nos tubos	A	P	A	P	A
	Fixação de agulha	A	A	A	A	A
	Permanência do Rótulo	A	A	A	A	A
	Velocidade de coleta	A	P	A	P	A
	Transparência	A	A	A	P	A
	Permeabilidade ao vapor d'água	P	P	A	P	A
	Resistência a deformação e vazamento	A	P	A	P	A
	Alça de suspensão	A	A	A	A	A
	Estabilidade térmica	A	P	A	P	A
	Volume de conteúdo	P	P	A	P	A
	Absorvância	A	A	A	P	A
	pH	P	P	P	P	P
Físico-Químico	Teor de fosfato diácido de sódio	P	P	P	P	A
	Teor de glicose e frutose	P	P	P	P	A
	Teor de manitol	P	A	A	A	A
	Teor de citrato de sódio	P	P	P	P	A
	Teor de sódio	P	P	P	A	A
	Teor de adenina	P	A	P	A	A
	Teor de ácido cítrico	P	A	P	P	A
	Matéria oxidável	A	A	A	P	A
	Teor de amônia	A	P	A	P	A
	Teor de cloreto	A	P	P	P	A
	Acidez/alcalinidade	A	P	A	P	A
	Resíduo por evaporação	A	P	P	P	P
	Absorção do extrato	A	P	A	P	P
	Di (2-etil-hexil) ftalato extraível	P	P	A	P	A
	Teor de 5 – Hidroximetilfurfural	P	A	A	P	A
Biológico	Citotoxicidade	P	A	A	A	P
	Toxicidade Sistêmica Aguda	P	P	A	P	P
	Esterilidade	P	P	P	P	A
	Pirogênio / Endotoxinas bacterianas	P	P	P	P	A
	Hemólise	P	P	A	P	P

(Adaptado de: LBAIS; Farmacopéias; BRASIL,1998)

- **LBAIS / INCQS**

Conforme já mencionado, o Laboratório de Artigos e Insumos de Saúde utiliza a Portaria nº 950/1998 como referência. Entretanto, devido a problemas de infraestrutura do instituto alguns ensaios não são realizados. Cabe ressaltar que todos os ensaios considerados necessários para o perfeito acondicionamento e verificação da conformidade da solução são realizados.

Os ensaios realizados apresentam-se descritos na tabela 9. Conforme pode ser observado, o INCQS não realiza alguns ensaios físicos como, por exemplo, esvaziamento sob pressão, velocidade de coleta e alça de suspensão, por apresentar deficiência técnica. Espera-se que com a parceria da ANVISA sejam obtidos os recursos necessários para a implementação dos equipamentos necessários para a realização desses ensaios. Por fim, o ensaio de absorbância apresenta-se excluído da relação de ensaios por gerar dúvida em relação à simulação do processo industrial de autoclavação.

Já quanto aos ensaios físico-químicos, o INCQS não realiza 6 ensaios por considerar que estes são relevantes enquanto matéria-prima e não para o produto acabado. Pretende-se, inclusive, propor a retirada desses ensaios da norma. Na análise dos ensaios físico-químicos será possível verificar as metodologias desenvolvidas sugeridas pelo laboratório para controle do produto.

- **Farmacopéia Brasileira**

A Farmacopéia Brasileira recomenda os ensaios relacionados na tabela 9. Esta descreve as soluções anticoagulante CPD e ACD apresentando seu preparo, sua identificação, sua caracterização, seus ensaios de segurança biológica e ensaios para verificação do doseamento (SOLUÇÃO, 2005 a, b).

Para controle da embalagem estão relacionados ensaios de resistência, de determinação de possíveis contaminações e de segurança biológica apresentando-se ausente na tabela os ensaios de impermeabilidade, impermeabilidade ao vapor d'água e determinação de substâncias redutoras (RECIPIENTES, 2005).

Os ensaios não descritos na Farmacopéia Brasileira referem-se, enquanto a ensaios físico-químicos, aos direcionados à bolsa com solução contendo adenina e manitol (CPDA e SAGM), não descrevendo ensaios para determinações destes. A

farmacopéia também não faz referência à determinação de hidroximetilfurfural, extremamente importante. A determinação de ácido cítrico e fosfato apresentam-se em termos de citrato total e fosfato total, respectivamente.

A necessidade de revisão da Farmacopéia Brasileira apresenta-se evidente nesta abordagem onde atualizações proporcionarão um controle mais efetivo.

- **Farmacopéia Americana**

A Farmacopéia Americana se refere às bolsas de sangue como conjuntos de administração de sangue que devem atender aos requisitos aplicáveis quanto à solução anticoagulante e quanto à composição da embalagem (TRANSFUSION, 2009).

A farmacopéia apresenta descrição de preparo e de identificação das soluções anticoagulantes dos tipos ACD, CPD e CPDA para conservação do sangue. Os ensaios da solução recomendados para seu controle de qualidade estão indicados na tabela 9 e correspondem aos ensaios físico-químicos de verificação de conformidade de teor, os ensaios físicos de pH e determinação de volume médio e o ensaio biológico de endotoxina (ANTICOAGULANT, 2009 a,b,c).

Neste compêndio também é verificada a ausência da abordagem da determinação do teor de manitol e hidroximetilfurfural e alguns ensaios na matéria-prima como é o caso da determinação de matéria oxidável, do teor de amônia, acidez/alcalinidade, absorção do extrato, teor de di (2-etil-hexil)ftalato extraível.

Conforme descrição do compêndio, os parâmetros de controle de qualidade da embalagem estão relacionados com os ensaios biológicos descritos na tabela 9 (TRANSFUSION, 2009). Entretanto é verificada a preocupação com a composição do plastificante recomendando a caracterização por ensaios de espectrometria de infravermelho e calorimetria diferencial de varredura e os ensaios físico-químicos não descritos na portaria: determinação do teor de metais pesados, resíduo de ignição e capacidade de tamponamento além do ensaio de resíduo de determinação da evaporação presente na tabela 9.

O único ensaio físico presente consiste na determinação do pH da solução anticoagulante, estando ausente todos os demais. Estão excluídos também os ensaios biológicos de citotoxicidade, toxicidade sistêmica aguda e hemólise.

Foi observado que este compêndio apresenta enfoque no controle físico-químico do produto, permitindo questionamentos sobre a necessidade de outros ensaios.

- **Farmacopéia Européia**

A Farmacopéia Européia descreve bolsas de sangue como recipientes de plástico estéreis contendo ou não soluções anticoagulantes e/ou preservadoras de sangue humano com a função de recolher, armazenar, processar e administrar o sangue e seus componentes (STERILE, 2008).

Avaliando os ensaios relacionados na tabela 9 concluímos que em relação aos ensaios físicos, a farmacopéia não recomenda os ensaios de fixação da agulha, permanência do rótulo e alça de suspensão sendo observado como característica particular destes ensaios o fato de que nenhum dos demais compêndios utilizados na avaliação os recomenda. Em relação aos ensaios físico-químicos, por não relacionar os tipos de bolsa de sangue CPDA e SAGM, não preconiza ensaios de determinação do teor de manitol e adenina. A determinação do teor de sódio também se apresenta ausente, porém apresenta referência à determinação do teor de hidroximetilfurfural. Quanto ao controle biológico não recomenda o ensaio de citotoxicidade.

É verificada uma abordagem mais detalhada em relação aos demais compêndios, descrevendo ensaios para controle da solução anticoagulante e/ou preservadora, da embalagem do produto (bolsa com solução, bolsa sem solução e conjuntos para transfusão sanguínea) e da composição do plastificante.

As soluções anticoagulantes e/ou preservadoras são estéreis, apirogênicas preparadas com água para injeções e distribuídas em recipientes esterilizados. Seu preparo apresenta-se descrito, assim como as características e o método de identificação para as soluções anticoagulantes do tipo ACD e CPD (ANTICOAGULANT, 2008). Os ensaios recomendados para o controle de qualidade das soluções apresentam descritos na tabela 9 e, assim como a Farmacopéia Brasileira e a Farmacopéia Americana, referem-se à verificação da conformidade do teor, esterilidade, pirogênio e determinação de pH.

A recomendação para controle da qualidade da embalagem difere quanto ao tipo de bolsa de sangue, sendo verificada a necessidade de um maior detalhamento

desta abordagem, ou seja a descrição do controle de qualidade da embalagem recomendado para cada tipo de bolsa de sangue isoladamente.

Para verificação da compatibilidade da embalagem em bolsas de sangue com solução anticoagulante e/ou preservadora são recomendados os ensaios para verificação de parâmetros relativos à composição do plastificante, os ensaios biológicos, os ensaios físicos exceto o ensaio de determinação de pH e incluindo o ensaio de vazamento e os ensaios físico-químicos exceto os ensaios de determinação de teor, determinação de resíduo de evaporação, determinação de matéria oxidável, determinação da acidez/alcalinidade e absorção do extrato todos descritos na tabela 9 (STERILE, 2008).

Nas bolsas que não contém solução anticoagulante e/ou preservadora são recomendados os ensaios relatados no parágrafo anterior e os ensaios: determinação de teor de amônio, determinação de matéria oxidável, determinação da acidez/alcalinidade, determinação do resíduo de evaporação e absorção do extrato (EMPTY, 2008).

Os conjuntos de transfusão sanguínea e seus componentes são identificados como tubos de plástico montados com as peças necessárias para permitir a transfusão de maneira apropriada. Apresentam número de ensaios inferiores aos de bolsas de sangue indicados na tabela 9. Relaciona os ensaios de controle da composição do plastificante e os ensaios: determinação da acidez/alcalinidade, absorção do extrato, transparência, determinação do resíduo de evaporação, esterilidade e pirogênio em adição aos ensaios recomendados não descritos na tabela:

- Aspecto³;
- Determinação de resíduo de óxido de etileno;
- Determinação de substâncias redutoras;
- Determinação de partículas estranhas; e
- Resistência à pressão (SETS, 2008).

O estudo sobre a composição do plastificante descreve as características, o teste de identificação e os ensaios referentes ao controle de qualidade da composição do material da embalagem. Os ensaios de determinação da acidez / alcalinidade, determinação de teor de cloretos, determinação de teor de amônia e

³ Verificação do aspecto da solução adicionada ao produto e posteriormente recolhida.

absorção do extrato apresentam-se relatados na tabela 9, entretanto são recomendados outros ensaios conforme abaixo descrito:

- Determinação do teor de cloreto de vinil;
- Determinação de substâncias redutoras;
- Determinação de aminas aromáticas;
- Identificação de aditivos plásticos;
- Determinação do teor de bário;
- Determinação do teor de cálcio;
- Determinação do teor de cádmio;
- Determinação do teor de estanho;
- Determinação do teor de zinco;
- Determinação de metais pesados; e
- Determinação de substâncias extraíveis em água.

Para os conjuntos de transfusão sanguínea alguns dos ensaios citados acima para controle do plastificante são dispensados e desta forma apresentam número de ensaios inferior. Os ensaios dispensados são determinação do teor de cálcio, determinação do teor de zinco, determinação do teor de cloretos, determinação do teor de amônia e determinação de aminas aromáticas (MATERIALS, 2008).

Sendo esta abordagem a mais completa, oferecendo abordagens detalhadas sobre os diferentes aspectos a serem considerados no produto, observamos que este instrumento consistiu na maior influência para a elaboração da Portaria nº 950/1998.

- **Farmacopéia Japonesa**

A Farmacopéia Japonesa não descreve o controle a ser realizado na solução anticoagulante e/ou preservadora, apresentando apenas preocupação com a embalagem. Recomenda o conhecimento das informações completas sobre o plastificante em relação à composição, aos processos de fabricação, aos aditivos adicionados e sua compatibilidade com o sangue (PLASTICS, 2006).

São recomendadas, ao plastificante, algumas características e propriedades físicas, como transparência, dureza, flexibilidade, resistência ao choque, resistência à tração, ao rasgamento, resistência ao calor e similares, em conformidade com o

uso pretendido. Entretanto, para o controle da qualidade das embalagens plásticas é recomendado um número de ensaios inferior aos demais compêndios avaliados.

Conforme verificado na tabela 9, não são recomendados ensaios de controle físico e para controle físico-químico apenas os ensaios de resíduo de evaporação e absorção do extrato estão relacionados, no entanto, além destes, os outros ensaios de controle físico-químico recomendados são:

- Determinação de substâncias extraíveis;
- Determinação do resíduo de ignição;
- Determinação dos metais pesados;
- Determinação do teor de chumbo;
- Determinação do teor de cádmio; e
- Determinação do teor de estanho (TESTS, 2006).

Uma abordagem um pouco mais aprofundada é realizada em relação aos ensaios de controle biológico, onde são recomendados os ensaios de citotoxicidade, toxicidade aguda e hemólise, além do ensaio de sensibilização não descrito na tabela.

A abordagem é finalizada pela indicação de alguns ensaios para a fase de linha de produção que apresentam além dos ensaios de controle a determinação de pH, absorção do extrato e determinação de substâncias redutoras (PLASTICS, 2006).

A abordagem realizada apresentou-se bastante particular em relação aos demais compêndios. Isto devido ao número reduzido de ensaios preconizados e à recomendação de ensaios na linha de produção. Novos estudos devem ser realizados para que o controle do produto segundo esta farmacopéia seja confiável e eficiente.

4.2.2 - Metodologias preconizadas para controle físico-químico da solução anticoagulante e/ou preservadora

Na avaliação retrospectiva foi possível verificar o impacto destes ensaios no controle do produto uma vez que correspondeu à maior incidência de insatisfatoriedades (80,5%) em todas as análises realizadas no período de estudo. Aliada a fato de que durante a armazenagem do sangue, embora a redução da temperatura retarde reações bioquímicas e moleculares, podem ocorrer possíveis

alterações, como por exemplo, variações de concentrações de glicose e redução de pH que comprometam a viabilidade do sangue armazenado (COSTA, 2006; LEONART et al, 1997). Essas duas justificativas comprovam a relevância desta fase do estudo.

Assim, nesta etapa são destacados os ensaios de controle físico-químico preconizados para a solução anticoagulante e/ou preservadora. Na sua realização, os ensaios foram avaliados separadamente para melhor compreensão das metodologias envolvidas Onde os ensaios preconizados pela Portaria nº 950/1998, pela Farmacopéia Brasileira, pela Farmacopéia Americana e pela Farmacopéia Européia foram contrastados.

No desenvolvimento desta etapa foram excluídos os ensaios realizados no LBAIS que apresenta uma proposta de alteração no item seguinte e a Farmacopéia Japonesa que não apresenta estudos sobre o controle físico-químico da solução anticoagulante e/ou preservadora. O ensaio de sódio também foi excluído da avaliação por não ser realizado no LBAIS sendo realizado no LAC/INCQS.

Os ensaios de controle físico-químico apresentam-se relacionados na tabela 10, assim como os compêndios oficiais que os preconizam. A indicação pela nomenclatura de presença (P) e ausência (A) corresponde à recomendação da realização do ensaio (P) ou ausência desta recomendação (A).

Tabela 10: Ensaios preconizados pelos compêndios oficiais

Portaria nº 950/1998	FB	USP	EP
Teor de fosfato diácido de sódio	P	P	P
Teor de glicose e frutose monoidratadas	P	P	P
Teor de manitol	A	A	A
Teor de 5 – Hidroximetilfurfural	A	A	P
Teor de adenina	A	P	A
Teor de citrato de sódio	P	P	P
Teor de ácido cítrico anidro	A	P	P
Teor de sódio	P	P	A

(Adaptado das Farmacopéias e de BRASIL,1998)

A tabela demonstra que a abordagem realizada pela Farmacopéia Brasileira apresenta-se inferior às demais devido a indicação de apenas 50%, ou seja 4, dos ensaios necessários para este controle. Embora a Farmacopéia Americana

preconize um ensaio a mais que a Farmacopéia Européia, podemos concluir que ambas são importantes para esta avaliação. A determinação do teor de manitol apresenta-se ausente em todos os compêndios. A importância da determinação do teor de hidroximetilfurfural é apenas reconhecida pela Farmacopéia Européia e o mesmo ocorre com a adenina, onde apenas a Farmacopéia Americana descreve esta determinação. A Farmacopéia Brasileira recomenda a determinação do teor de citrato total, excluindo a necessidade da determinação do teor de ácido cítrico. A determinação do teor de sódio não é recomendada pela Farmacopéia Européia.

As técnicas analíticas recomendadas para a determinação dos ensaios pelos compêndios oficiais em estudo apresentam-se relacionados na tabela 11, onde as cores diferenciadas indicam a utilização de mesma técnica. A tabela indica a utilização das técnicas:

- Cromatografia em fase líquida;
- Espectrometria;
- Gravimetria;
- Polarimetria; e
- Volumetria.

Tabela 11: Técnicas analíticas recomendadas pelos compêndios oficiais

	Portaria nº 950/1998	FB	USP	EP
Teor de fosfato diácido de sódio	A) Cromatografia Fase Líquida B) Espectrofotometria	Espectrofotometria	Cromatografia Fase Líquida	Espectrofotometria
Teor de dextrose	A) Cromatografia Fase Líquida B) Gravimetria	A) Polarimetria B) Gravimetria	A) Polarimetria B) Gravimetria	Volumetria
Teor de 5 – Hidroximetilfurfural	Cromatografia Fase Líquida	Ausente	Espectrofotometria	Ausente
Teor de adenina	A) Cromatografia Líquida B) Cromatografia líquida	Ausente	Cromatografia Líquida	Ausente
Teor de citrato de sódio	A) Espectrofotometria B) Cromatografia Fase Líquida	Espectrofotometria	A) Cromatografia Fase Líquida B) Espectrofotometria	Volumetria
Teor de ácido cítrico anido	Cromatografia Fase Líquida	Ausente	Cromatografia Fase Líquida	Volumetria

(Adaptado de: Farmacopéias; BRASIL,1988)

Avaliando as informações desta tabela é possível observar que a grande maioria das metodologias preconizadas utiliza a técnica de cromatografia de fase líquida. Isto é justificado pelo destaque crescente das técnicas de separação para análises qualitativas e quantitativas (RIBANI, 2004).

- **Teor de fosfato diácido de sódio**

A Portaria 950/1998 recomenda a utilização da metodologia descrita na Farmacopéia Americana. Esta recomendava a técnica de espectrofotometria até a 29ª edição e nas edições seguintes (30ª, 31ª e 32ª) passou a recomendar a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para esta determinação. A metodologia por cromatografia em fase líquida utiliza como padrão fosfato diácido de sódio, fase móvel solução de hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio sob o fluxo de 2,0 mL por minuto, temperatura do forno em 30 °C, coluna de troca iônica e detector eletroquímico. A determinação do teor é realizada pela comparação de áreas (amostra e padrão) e expresso em termos de fosfato total. Este método também é indicado para determinação do teor de citrato total (BRASIL, 1998; ANTICOAGULANT, 2009b,c).

A 29ª edição da Farmacopéia Americana, a Farmacopéia Européia e a Farmacopéia Brasileira recomendam a técnica de espectrofotometria para determinação (ANTICOAGULANT, 2007b; ANTICOAGULANT, 2008; SOLUÇÃO, 2005b). As farmacopéias recomendam a utilização como padrões de fosfato de potássio monobásico nas metodologias. Na Farmacopéia Européia é recomendada uma reação com molibdato de vanádio para formação de complexo lido a 450 nm (ANTICOAGULANT, 2008). Na Farmacopéia Brasileira e na 29ª edição da Farmacopéia Americana, é recomendada uma reação com ácido sulfúrico, ácido 1,2,4-aminonaftolsulfônico, metabissulfito de sódio, sulfito de sódio e molibdato de amônio para formação de complexo lido a 660nm (ANTICOAGULANT, 2007b; SOLUÇÃO, 2005b). A determinação do teor é realizada pela comparação das absorvâncias obtidas (amostra e padrão) e expresso em termos de fosfato diácido de sódio (ANTICOAGULANT, 2007b; ANTICOAGULANT, 2008; SOLUÇÃO, 2005b).

A determinação por cromatografia em fase líquida apresenta bons resultados, assim como as metodologias baseadas na espectrometria que variam em relação ao complexo formado pela sequência de reações e na região de absorção utilizada.

- **Teor de dextrose**

A Portaria 950/1998 recomenda duas metodologias: por cromatografia líquida de alta eficiência ou por gravimetria. O processo por cromatografia em fase líquida consiste numa única metodologia para quantificação conjunta de glicose, frutose e manitol. Utiliza como fase móvel água deionizada sob o fluxo de 0,5 mL por minuto, temperatura do forno entre 80 e 90 °C, coluna de troca catiônica e detector de índice de refração. O resultado é obtido pela comparação das áreas obtidas (amostra e padrão) em tempos de retenção diferenciados e expresso em termos de glicose e frutose monoidratadas (pelo somatório dos resultados) e manitol (BRASIL, 1998). Pela técnica de gravimetria ocorre reação com tartarato cúprico alcalino seguido de secagem para determinação de resíduo equivalente ao teor de glicose monoidratada apenas. Este mesmo método também é recomendado pela Farmacopéia Brasileira e Farmacopéia Americana (BRASIL, 1998; SOLUÇÃO, 2005b; ANTICOAGULANT, 2009b,c)

A Farmacopéia Brasileira e Farmacopéia Americana recomendam também a utilização da polarimetria empregando luz de sódio a 589,3 nm para determinação de glicose anidra em solução anticoagulante ACD (SOLUÇÃO, 2005a; ANTICOAGULANT, 2009a).

A metodologia da Farmacopéia Européia recomendada uma extração seguida da acidificação para titulação com tiosulfato de sódio utilizando amido como indicador. O resultado obtido corresponde ao teor de glicose anidra (ANTICOAGULANT, 2008).

Observamos maior viabilidade da técnica de cromatografia em fase líquida, pois a técnica por polarimetria não permite a visualização do quantitativo de glicose convertido em frutose em soluções anticoagulantes contendo fosfato ácido de sódio durante a autoclavação, determinando apenas o teor de glicose, assim como a técnica por gravimetria e associado à vantagem da técnica por cromatografia em fase líquida permitir obter numa mesma análise os teores de glicose, frutose e manitol (BRASIL, 1998).

- **Teor de manitol**

A Portaria 950/1998 recomenda a utilização da metodologia para determinação de glicose e frutose monoidratadas determinado pela diferença de tempo de retenção (BRASIL, 1998). Este ensaio apresenta-se ausente em todas as abordagens dos compêndios oficiais, sendo apenas encontrado na monografia específica para manitol da Farmacopéia Americana sob condições de determinação bastante semelhantes à Portaria nº 950/1998 (MANITOL, 2009).

- **Teor de 5 Hidroximetilfurfural**

A decomposição térmica da glicose e possivelmente de outras substâncias ocasiona a formação de hidroximetilfurfural (ANDRADE et al, 2009). Sua determinação apresenta-se recomendada apenas pela Portaria 950/1998 e pela Farmacopéia Européia (BRASIL, 1998; ANTICOAGULANT, 2008).

A Portaria 950/1998 recomenda duas metodologias: a metodologia descrita na Farmacopéia Européia e a metodologia por cromatografia líquida de alta eficiência. Esta utiliza como fase móvel solução de metanol sob o fluxo de 0,8 mL por minuto, coluna C18⁴ e detector ultravioleta no comprimento de onda de 280 nm. A comparação das áreas obtidas (amostra e padrão) permite obter o teor de hidroximetilfurfural (BRASIL, 1998).

A Farmacopéia Européia recomenda metodologia baseada na espectrometria, onde uma reação com p-toluidina, ácido acético e ácido barbitúrico produz complexo que absorve em 550 nm para determinar a concentração de hidroximetilfurfural (ANTICOAGULANT, 2008).

No estudo desenvolvido por TEMPLETON e REED (2003) a metodologia de determinação deste composto pela técnica de espectrometria, conforme preconizado pela USP XIX apresenta como desvantagem a possível presença de interferentes. Além disso, outros estudos revelam a reprodutividade das condições analíticas da cromatografia de fase líquida e favorecem a sua utilização (ANDRADE, 2009; SANTOS et al, 2006; AQUINO et al, 2004; TEMPLETON e REED, 2003).

⁴ Coluna C18 – Coluna cromatográfica para fase reversa que apresenta em sua fase móvel composto químico com 18 átomos de carbono

- **Teor de adenina**

A determinação do teor de adenina é recomendada apenas na Portaria nº 950/1998 e na Farmacopéia Americana (BRASIL, 1998; ANTICOAGULANT, 2009c). A portaria propõe dois métodos por cromatografia líquida de alta eficiência: o método descrito na Farmacopéia Americana e um método alternativo. Este último também é recomendado para a determinação do teor de citrato total e utiliza como fase móvel solução de ácido fosfórico, dodecilbenzenossulfonato (DDSS) e metanol sob o fluxo de 0,8 mL por minuto, coluna C18 e detector ultravioleta no comprimento de onda de 235 nm. Os resultados são obtidos pela comparação das áreas obtidas (amostra e padrão) em tempos de retenção diferenciados e expresso em termos de adenina e citrato total (BRASIL, 1998).

A metodologia recomendada pela Farmacopéia Americana utiliza como fase móvel solução de ácido acético e dihidrogenofosfato de amônio sob o fluxo de 2,0 mL por minuto, coluna de aço inoxidável com empacotamento L9 e detector ultravioleta no comprimento de 254 nm. O teor de adenina é calculado pela comparação das áreas obtidas (amostra e padrão) (ANTICOAGULANT, 2009c).

As duas metodologias apresentam como recomendação a mesma técnica (cromatografia em fase líquida) diferindo nas condições de análises como fase móvel e na região de absorção. Tecnicamente devem apresentar resultados equivalentes e reprodutíveis, no entanto outros fatores podem ser considerados prejudiciais e podem favorecer a escolha de uma das metodologias, como é o caso do desgaste de coluna por exemplo. Sendo assim, baseado no pH da fase móvel, podemos concluir que uma metodologia desenvolvida sob condições próximas à metodologia recomendada pela Farmacopéia Americana apresenta resultados favoráveis em condições analíticas menos agressivas (FUST, 2009).

- **Teor de citrato de sódio / Teor de ácido cítrico**

Para a determinação do teor de citrato de sódio a Portaria 950/1998 recomenda duas metodologias. A primeira metodologia recomendada consiste na metodologia indicada para a determinação de adenina e seu resultado corresponde ao teor de citrato total, ou seja, o somatório de citrato de sódio e ácido cítrico livre. Para obter o teor de citrato de sódio é necessário subtrair a quantidade de ácido

cítrico livre presente e para esta determinação é recomendada a metodologia descrita na Farmacopéia Americana. Tecnicamente a metodologia por volumetria descrita na Farmacopéia Européia consiste numa boa alternativa, uma vez que a metodologia descrita na Farmacopéia Americana, embora indicada, não permite obter isoladamente o teor de ácido cítrico livre (BRASIL, 1998; ANTICOAGULANT, 2008; ANTICOAGULANT, 2009a, b, c). A metodologia baseada na espectrometria recomendada pela Farmacopéia Americana consiste na alternativa à primeira metodologia recomendada, esta se apresenta descrita na 29^o edição da Farmacopéia America e consiste numa reação com piridina, anidrido acético para formação de complexo que absorve em 425 nm. Este ensaio também se apresenta recomendado na Farmacopéia Brasileira e permite obter o teor de citrato total, o teor de ácido cítrico e o teor de citrato de sódio (ANTICOAGULANT, 2007a,b; SOLUÇÃO, 2005 a ,b).

A versão mais atualizada da Farmacopéia Americana não apresenta este método, a metodologia recomendada é baseada na cromatografia líquida de alta eficiência e, conforme já mencionado, embora esteja indicada para determinar ácido cítrico pela Portaria 950/1998 esta permite a determinação de citrato total. Este método é também recomendado para a determinação do teor de fosfato total (BRASIL, 1998; ANTICOAGULANT, 2009a, b, c).

A Farmacopéia Européia recomenda a metodologia para a determinação de ácido cítrico por titulação direta com solução de hidróxido de sódio e fenolftaleína como indicador. A determinação do teor de citrato de sódio é recomendada por uma extração em coluna pré-preparada, seguida da titulação descrita anteriormente. O resultado do teor de citrato de sódio deve ser calculado após a obtenção do teor de ácido cítrico da titulação direta e na solução anticoagulante e/ou preservadora com presença de fosfato este teor também deverá ser utilizado para este fim (ANTICOAGULANT, 2008).

As metodologias preconizadas apresentam a utilização de 3 técnicas diferentes: espectrometria, volumetria e cromatografia de fase líquida. Sendo a técnica mais recomendada a cromatografia em fase líquida uma vez que as demais técnicas apresentam como desvantagem a possibilidade do comprometimento dos resultados obtidos devido a possível presença de interferentes na técnica de espectrometria ou perdas no processo de extração na técnica de volumetria.

4.2.3- Metodologias desenvolvidas sugeridas pelo LBAIS

O LBAIS elaborou uma proposta de alteração da legislação vigente para alteração das metodologias recomendadas. Este proposta envolve os ensaios físicos e físico-químicos. Neste estudo estão abordados apenas os ensaios físico-químicos realizados no controle da qualidade da solução anticoagulante e/ou preservadora.

- **Teor de fosfato diácido de sódio**

A proposta e a Portaria 950/1998 recomendam a utilização das metodologias para determinação do teor de fosfato diácido de sódio descritas na Farmacopéia Americana. Embora seja recomendada a metodologia pela técnica de cromatografia em fase líquida desde a 30ª edição desta farmacopéia, a proposta considera que a metodologia descrita na 29ª edição pela técnica de espectrofotometria apresenta maiores vantagens. A tabela 12 descreve as técnicas empregadas e suas condições analíticas.

Tabela 12: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de fosfato diácido de sódio

Portaria nº 950/1998	Proposta
Cromatografia líquida Fase móvel: Hidróxido de sódio ou Hidróxido de potássio Fluxo: 2,0 mL / minuto Temperatura do forno: 30 °C Coluna de troca iônica (250x4)mm Detector eletroquímico Volume de injeção: 10 µL Padrões: Indicação de concentração final	Espectrometria Complexo: Reação com molibdato de amônia, hidroquinona e sulfito de sódio λ= 660 nm

(Adaptado de BRASIL, 1998 e ANTICOAGULANT, 2007b)

O ensaio da proposta consiste na formação de um complexo pela reação com molibdato de amônio em meio fortemente ácido, hidroquinona e sulfito de sódio que absorve em 660 nm. Esta técnica de espectrometria de absorção molecular no UV/VIS está relacionada diretamente com a capacidade de absorção da espécie

sendo a intensidade de absorção diretamente proporcional à concentração e facilmente mensurável. O estudo sobre a validação e estimativa da incerteza do método de determinação de fósforo por espectrofotometria UV-VIS consiste em dos exemplos de comprovação da eficiência desta técnica (LEAL, 2007). O mesmo ocorre para a determinação de fosfato, a metodologia proposta apresenta como inúmeras vantagens, dentre as quais podemos citar a comprovação de sua eficiência por estar preconizada na Farmacopéia Americana, o baixo custo analítico e o curto tempo de análise empregado.

- **Teor de glicose e frutose monoidratadas e manitol**

A Portaria 950/1998 e a proposta recomendam a utilização da metodologia descrita na Farmacopéia Americana para determinação apenas do teor de glicose (gravimetria) e uma segunda metodologia para determinação conjunta do teor de glicose e frutose monoidratadas e manitol. A tabela 13 descreve as condições analíticas dos ensaios onde é possível observar que a proposta não apresenta alterações na técnica empregada.

Tabela 13: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de teor de glicose e frutose monoidratadas e manitol

Portaria nº 950/1998	Proposta
Gravimetria Reação com tartarato cúprico alcalino Secagem a peso constante	Gravimetria Reação com tartarato cúprico alcalino Secagem a peso constante
Cromatografia líquida Fase móvel: Água deionizada Fluxo: 0,5 mL / minuto Coluna de troca catiônica (300x6,5) mm Temperatura do forno: 80 - 90 °C Detector índice de refração Volume de injeção: 20 µL Padrões: Indicação de concentração final	Cromatografia líquida Fase móvel: Água deionizada Fluxo: 0,5 mL / minuto Coluna de troca catiônica (300x6,5) mm Temperatura do forno: 80 °C Temperatura da célula: 60 °C Detector índice de refração Volume de injeção: 20 µL Padrões: Indicação do preparo

(Adaptado de BRASIL, 1998, ANTICOAGULANT, 2009b,c)

A proposta não altera significativamente a metodologia, entretanto permite a reprodutividade do experimento fixando condições que anteriormente se apresentavam dispersas.

O ensaio de gravimetria continua a ser recomendado nesta proposta. As condições analíticas do ensaio cromatográfico recomendado pela proposta fixa a temperatura do forno em 80 °C menciona a temperatura da célula em 60 °C, o volume de injeção e o preparo dos padrões. Na portaria, os padrões apresentam-se em termos de concentração final de solução e na proposta apresenta-se descrito minuciosamente o seu preparo. A fase móvel, o fluxo utilizado, a coluna e o detector não apresentam alterações na proposta.

Embora sejam recomendadas duas metodologias, tanto na portaria quanto na proposta elaborada apresenta-se recomendado a preferência pela técnica de cromatografia em fase líquida devido ao método gravimétrico determinar apenas o teor de glicose anidra. Esta escolha se confirma na medida em que muitos estudos justificam a utilização de cromatografia em fase líquida com detecção por índice de refração para quantificação de carboidratos e por apresentar como vantagens maior confiabilidade, maior sensibilidade e menor tempo de análise. Cabe destacar que a utilização do detector de índice de refração, também é justificada pela não absorção na região do ultravioleta e visível ocasionando pouca reprodutividade de resultados na utilização de detectores de ultravioleta (AQUINO, 2004).

- **Teor de 5 Hidroximetilfurfural**

Assim como para a determinação do teor de glicose, frutose e manitol, a proposta não altera as técnicas recomendadas, apresenta apenas um detalhamento das condições analíticas do ensaio cromatográfico. A tabela 14 descreve as condições analíticas dos ensaios.

Tabela 14: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de 5-Hidroximetilfurfural

Portaria nº 950/1998	Proposta
<p>Espectrometria Complexo: Reação com p-toluidina em propanol, ácido acético e ácido barbitúrico $\lambda = 550 \text{ nm}$</p>	<p>Espectrometria Complexo: Reação com p-toluidina em propanol, ácido acético e ácido barbitúrico $\lambda = 550 \text{ nm}$</p>
<p>Cromatografia líquida Fase móvel: água deionizada/ Metanol (95:5) Fluxo: 0,8 mL / minuto, Coluna de fase reversa C18 (150x4) mm Detector de UV $\lambda = 280 \text{ nm}$ Volume de injeção: 500 μL Padrões: Indicação de concentrações finais</p>	<p>Cromatografia líquida Fase móvel: água deionizada/ Metanol (95:5) Fluxo: 0,8 mL / minuto Coluna de fase reversa C18 (150x4) mm Temperatura do forno: 40 °C Detector de UV $\lambda = 280 \text{ nm}$ Volume de injeção: 50 μL Padrões: Indicação do preparo</p>

(Adaptado de BRASIL, 1998 e ANTICOAGULANT, 2008)

O ensaio de espectrometria continua a ser recomendado nesta proposta. As condições analíticas do ensaio cromatográfico recomendado pela proposta determinam a utilização de forno na temperatura de 40 °C, altera o volume de injeção e descreve o preparo dos padrões. Na portaria, os padrões apresentam-se indicados em termos de concentração final de solução. A fase móvel, o fluxo utilizado, a coluna, o detector e o comprimento de onda não apresentam alterações na proposta.

Estudos realizados no método cromatográfico em condições semelhantes para esta determinação apresentaram bons resultados e oferecem uma larga faixa de variação de concentração (AQUINO, 2004; SANTOS et al, 2006).

- **Teor de adenina**

A proposta continua, assim como a Portaria 950/1998, indicando duas alternativas para ensaios de determinação do teor de adenina que recomendam a utilização da mesma técnica analítica: cromatografia em fase líquida. A tabela 15 descreve as condições analíticas desses ensaios.

Tabela 15: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de adenina

Portaria nº 950/1998	Proposta
<p>Cromatografia líquida Fase móvel: Ácido acético e dihidrogenofosfato de amônio Fluxo: 2,0 mL / minuto Coluna de aço inox (300x4)mm Detector de ultravioleta $\lambda = 254 \text{ nm}$ Volume de injeção: 20 μL Padrões: Indicação de concentração final</p>	<p>Cromatografia líquida Fase móvel: Ácido acético e dihidrogenofosfato de amônio Fluxo: 2,0 mL / minuto Coluna de aço inox (300x4)mm Detector de ultravioleta $\lambda = 254 \text{ nm}$ Volume de injeção: 20 μL Padrões: Indicação de preparo</p>
<p>Cromatografia líquida Fase móvel: ácido fosfórico, dodecilbenzenossulfonato (DDSS) e metanol Fluxo: 0,8 mL / minuto, Coluna de fase reversa C18 (250x4)mm Detector de ultravioleta $\lambda = 235 \text{ nm}$ Volume de injeção: 20 μL Padrões: Indicação de concentração final</p>	<p>Cromatografia líquida Fase móvel: Ácido acético, heptanosulfonato de sódio e acetato de amônio Fluxo: 0,6 mL / minuto Coluna de fase reversa C18 (150x3,9) mm Temperatura do forno: 40°C Detector de ultravioleta $\lambda = 262 \text{ nm}$ Volume de injeção: 20 μL Padrões: Indicação do preparo</p>

(Adaptado de BRASIL, 1998 e ANTICOAGULANT, 2009c)

A metodologia descrita na Farmacopéia Americana, que utiliza o comprimento de onda de 254 nm continuou a ser recomendada na proposta. O segundo método cromatográfico recomendado apresentou grandes alterações correspondendo a uma nova metodologia de determinação. Foram alterados a fase móvel e seu fluxo, o tamanho da coluna, o volume de injeção, o comprimento de onda e a utilização de forno. Neste método, é possível verificar semelhança com o método preconizado na Farmacopéia Americana na recomendação da fase móvel. As alterações indicam como vantagem a conservação da coluna pela substituição do ácido fosfórico na fase móvel e trata-se de um método menos agressivo pela substituição do ácido clorídrico (FUST, 2009).

De acordo com FUST (2009), na avaliação o método proposto considera-se como vantagens o menor ataque à coluna pela substituição do ácido clorídrico e redução da acidez da fase móvel e a eliminação de possíveis interferentes de

mesma região de absorção. Estudos iniciais na metodologia comprovam sua eficiência na determinação do teor de adenina.

- **Teor de citrato de sódio / Teor de ácido cítrico**

Na proposta, os ensaios independentes para determinação do teor de citrato de sódio e ácido cítrico apresentam-se substituídos por apenas um ensaio para determinação de citrato total expresso em termos de ácido cítrico anidro. A tabela 16 indica as metodologias recomendadas pela portaria para citrato de sódio e a metodologia alternativa proposta. Cabe ressaltar que a metodologia recomendada pela portaria para a determinação do teor de ácido cítrico não se apresenta aqui descrita pois este ensaio está excluído na proposta elaborada, conforme já mencionado.

Tabela 16: Metodologia recomendada e proposta pelo LBAIS para determinação do teor de citrato total

Portaria nº 950/1998	Proposta
Espectrofotometria Complexo: Reação com piridina e anidrido acético $\lambda = 425 \text{ nm}$	Espectrofotometria Complexo: Reação com piridina e anidrido acético $\lambda = 425 \text{ nm}$
Cromatografia líquida Fase móvel: ácido fosfórico, dodecilbenzenossulfonato (DDSS) e metanol Fluxo: 0,8 mL / minuto, Coluna de fase reversa C18 (250x4)mm Detector de ultravioleta $\lambda = 235 \text{ nm}$ Volume de injeção: 20 μL Padrões: Indicação de concentração final	Cromatografia líquida Fase móvel: Ácido sulfúrico 0,009M Fluxo: 0,5 mL / minuto Coluna de troca catiônica (150x3,9) mm Temperatura do forno: 40°C Detector de ultravioleta $\lambda = 230 \text{ nm}$ Volume de injeção: 20 μL Padrões: Indicação do preparo

(Adaptado de BRASIL, 1998 e ANTICOAGULANT, 2007b)

A metodologia de espectrometria descrita na Farmacopéia Americana continua sendo recomendada e como segunda opção, a proposta apresenta uma nova metodologia que determina o teor de citrato total. Apresenta alterações na fase

móvel e seu fluxo, na coluna, no comprimento de onda, volume de injeção e no preparo do padrão. Apenas o detector de ultravioleta é mantido.

A exclusão do ensaio de ácido cítrico está presente também na abordagem realizada na Farmacopéia Brasileira onde determina o teor de citrato total expresso em termos de ácido cítrico (SOLUÇÃO, 2005b).

A especificação da coluna utilizada no processo e a literatura disponível apresentam estudos semelhantes à metodologia proposta que oferecem resultados satisfatórios quanto a comprovação de eficiência pela validação (VIGNOLI, 2007).

Buscando otimizar as condições analíticas, a nova metodologia oferece melhor conservação da coluna pela substituição do ácido fosfórico e redução do tempo de análise.

4.2.3.1 - Avaliação estatística preliminar das metodologias

Na avaliação estatística preliminar das metodologias foi escolhido o parâmetro de linearidade. Esta avaliação foi realizada através da planilha de avaliação de linearidade de curva analítica desenvolvida por Souza & Junqueira. A exposição das considerações e cálculos envolvidos apresenta-se descritas no APÊNDICE B.

Os parâmetros envolvidos na avaliação, além da linearidade pelo coeficiente de correlação são:

- Homocedasticidade (Teste de Brown-Forsythe);
- Significância da regressão e o desvio de linearidade;
- Verificação da dispersão dos resíduos;
- Autocorrelação dos resíduos (Teste de Durbin-Watson);
- Normalidade dos resíduos (Teste de Ryan-Joiner); e
- Limite de detecção e o limite de quantificação (SOUZA e JUNQUEIRA, 2005; AGUIAR, 2008).

Cabe ressaltar que a avaliação correspondeu apenas a uma reprodução do ensaio e para maiores conclusões a respeito das metodologias propostas, etapas de otimização e validação deverão ser realizadas. A tabela 17 descreve os parâmetros envolvidos na avaliação, a justificativa de sua utilização e avaliação realizada.

Tabela 17: Parâmetros da planilha de avaliação de linearidade de curva analítica desenvolvida por Souza & Junqueira

Teste	Justificativa	Avaliação
Significância da regressão	Verificar se a regressão é significativa.	Na regressão: $p < 0,001$
Desvio de linearidade	Verificar a adequação do modelo estatístico	No ajuste: $p > 0,05$
Coeficiente de correlação linear	Verificar a correlação entre os resultados e a concentração do analito	$r > 0,90$ (Inmetro) $r > 0,99$ (ANVISA)
Gráfico de resíduos	Observar a dispersão de resíduos nos limites estabelecidos	Desejável que estejam o mais próximo possível da linha central
Normalidade de resíduos	Verificar a tendências dos resíduos obedecerem a distribuição normal	$R_{eq} > R_{crit}$
Autocorrelação de resíduos	Verificar a independência dos resíduos	Independentes: $d_{calc} > dU$ Dependentes: $d_{calc} < dL$ Inconclusivo: $dL < d_{calc} < dU$
Homogeneidade	Verificar a homogeneidade das variâncias dos resíduos	$p > 0,05$

(Adaptado de SOUZA e JUNQUEIRA, 2005; AGUIAR, 2008)

- **Teor de fosfato diácido de sódio**

Esta metodologia não foi avaliada por corresponder a uma descrição exata no compêndio oficial (Farmacopéia Americana) possuindo, assim, comprovação de sua eficiência. Outro fator considerado na exclusão desta avaliação foi a presença de apenas 3 níveis de concentração na curva analítica. Conforme descrito anteriormente, a ANVISA considera necessário a presença de no mínimo 5 níveis de concentração e o INMETRO no mínimo 7 níveis para que sejam aplicados os testes de comprovação da eficiência (RIBANI, 2004).

- **Teor de glicose e frutose monoidratadas e manitol**

A avaliação da metodologia que permite a determinação conjunta de glicose e frutose monoidratadas e manitol apresentou satisfatoriedade na linearidade. Entretanto, foi necessário desconsiderar uma replicata do nível 3 de glicose e uma

replicata do nível 4 de manitol que corresponderam a valores extremos pelo teste de Jacknife (em vermelho nas figuras 9 e 11). A regressão realizada obteve excelentes resultados para o coeficiente de correlação de 0,9999 para a glicose, 1,000 para a frutose e 0,999 para o manitol. Os resíduos apresentaram-se sob a distribuição normal de acordo com o teste Ryan-Joiner. A variabilidade dos resíduos da regressão ao longo dos níveis de concentração demonstrou homoscedasticidade. A independência dos resíduos da regressão foi comprovada pelo teste de Durbin-Watson e apresentou-se bastante evidente pelo elevado valor de d_{calc} obtido nas determinações de glicose e manitol. A avaliação não ofereceu problemas para a determinação da significância da regressão, do desvio da linearidade.

Foi verificada nas curvas analíticas de glicose e manitol analisadas que os níveis apresentam uma faixa estreita de concentração sugerindo estudos para uma nova distribuição dos níveis de concentração. Os resultados obtidos estão descritos nas figuras 9, 10 e 11 para determinação do teor de glicose, para determinação do teor de frutose e para determinação do teor de manitol, respectivamente.

- **Teor de 5 Hidroximetilfurfural**

A determinação de 5-hidroximetil furfural apresentou boa linearidade com coeficiente de correlação de 1 e ausência de valores extremos. Os resíduos obedeceram a distribuição normal e demonstraram a homocedasticidade. A regressão realizada foi significativa e não foi verificado desvio da linearidade. Entretanto o teste de independência dos resíduos da regressão (teste de Durbin-Watson) apresentou-se inconclusivo, ou seja o d_{calc} apresentou-se entre os índices de limites inferiores e superiores (estando bem próximo deste último) sugerindo novos testes para este esclarecimento. Cabe ressaltar que este resultado não compromete a avaliação. Na análise do gráfico de resíduos observamos que o último nível apresenta-se bastante disperso sugerindo também estudos para nova definição dos níveis de concentração. Os resultados obtidos estão descritos na figura 12.

- **Teor de adenina**

Assim como a determinação do teor de glicose e frutose monoidratadas e manitol, a metodologia para a determinação do teor de adenina apresentou todos os parâmetros dentro do esperado na ausência de valores extremos. A linearidade foi comprovada pelo coeficiente de correlação linear em 0,9999. A análise dos resíduos apresentou independência pelo resultado elevado para o teste de Dubin Watson (autocorrelação), verificou-se a homocedasticidade e a distribuição normal dos resíduos. A regressão foi significativa e não foi verificado desvio da linearidade. O gráfico de resíduos apresenta resultados dispersos, bem distribuídos e dentro dos limites estabelecidos. Os resultados obtidos estão descritos na figura 13.

- **Teor de citrato total**

Embora a avaliação da metodologia para a determinação de citrato não apresentasse valores extremos, a linearidade ficou comprometida pelo desvio verificado. Este resultado justificou a importância da análise de resíduos, pois o coeficiente de correlação apresentou-se bastante satisfatório (0,999). Embora esta avaliação não comprometa a metodologia, novos estudos são sugeridos para a otimização do método. A análise dos resíduos apresentou resultado satisfatório para o teste de Dubin Watson (autocorrelação), verificou a homocedasticidade e a distribuição normal dos resíduos. A regressão foi significativa e o gráfico de resíduos apresenta resultados dispersos numa faixa estreita de análise. Os resultados obtidos apresentam descritos na figura 14.

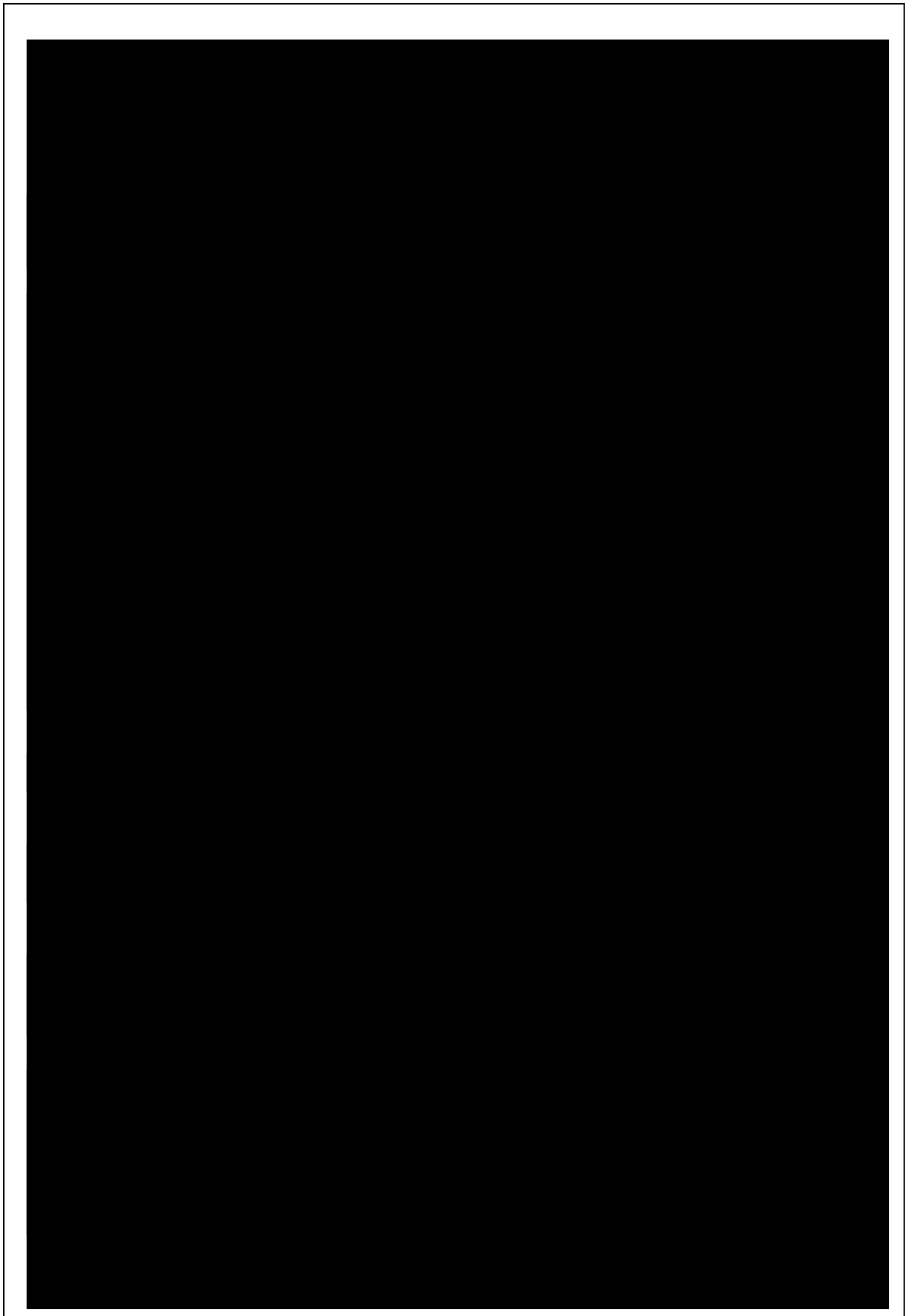


Figura 9: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de glicose monoidratada

(Fonte: SOUZA & JUNQUEIRA, 2005)

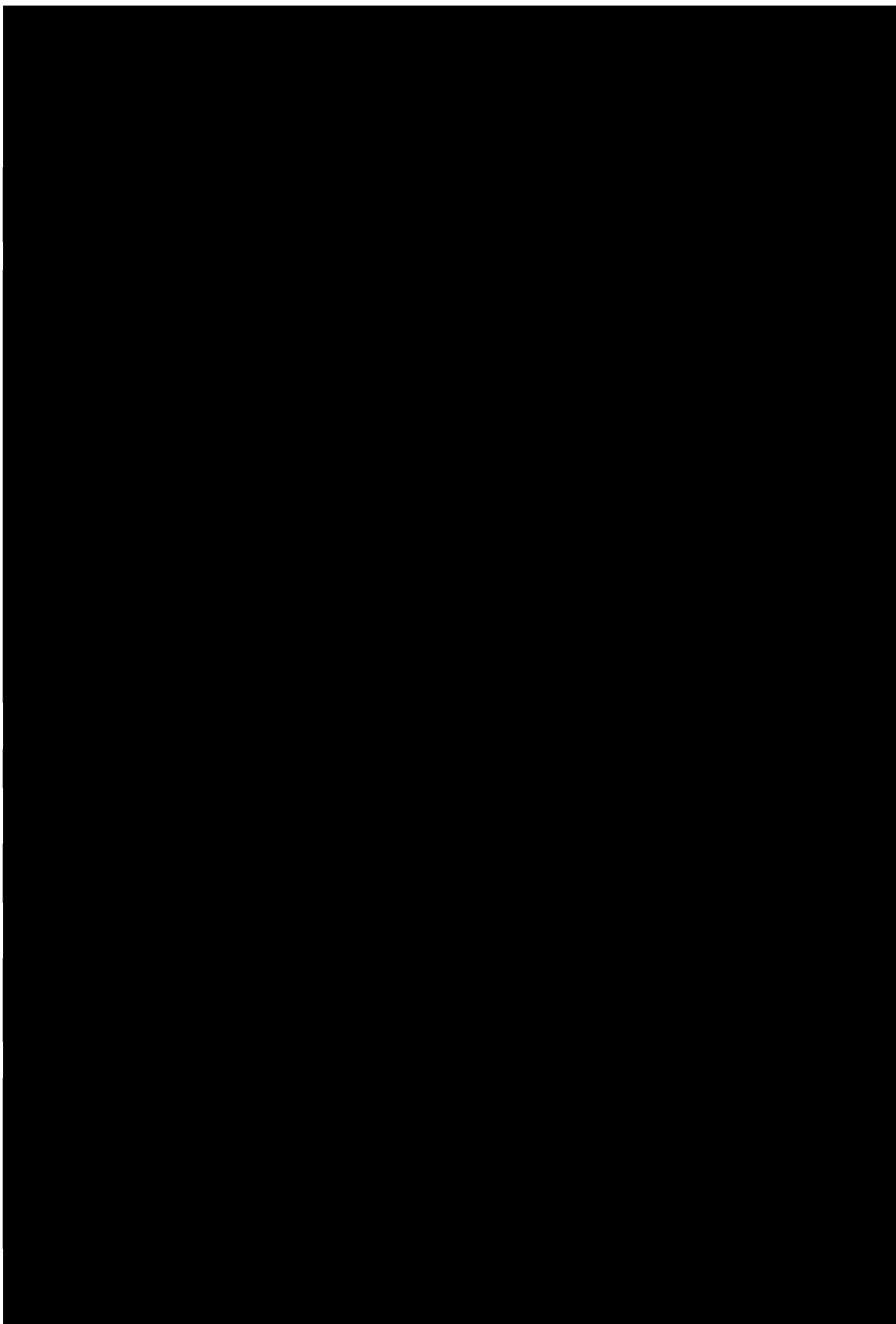


Figura 10: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de frutose monoidratada

(Fonte: SOUZA & JUNQUEIRA, 2005)

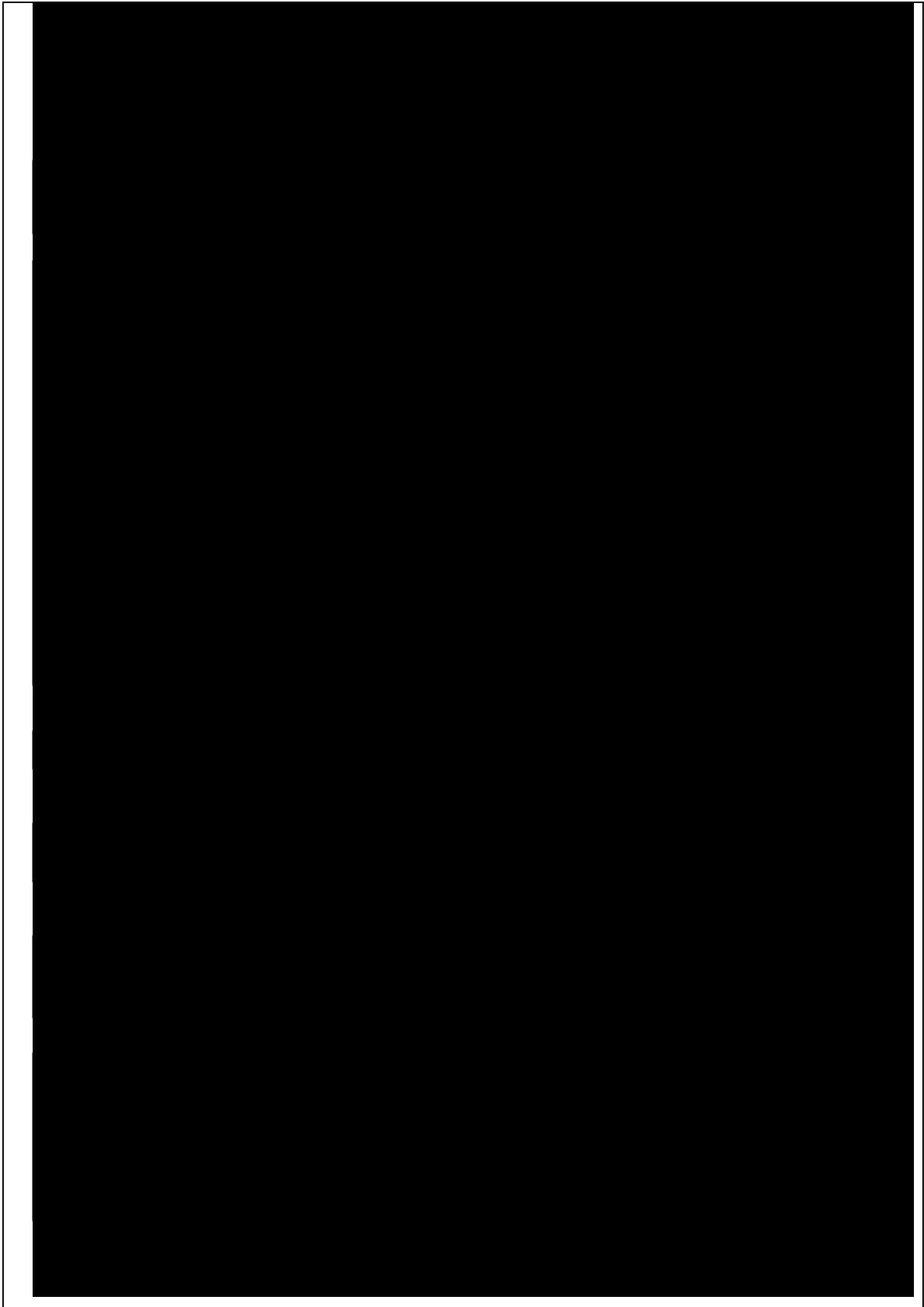


Figura 11: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de manitol

(Fonte: SOUZA & JUNQUEIRA, 2005)

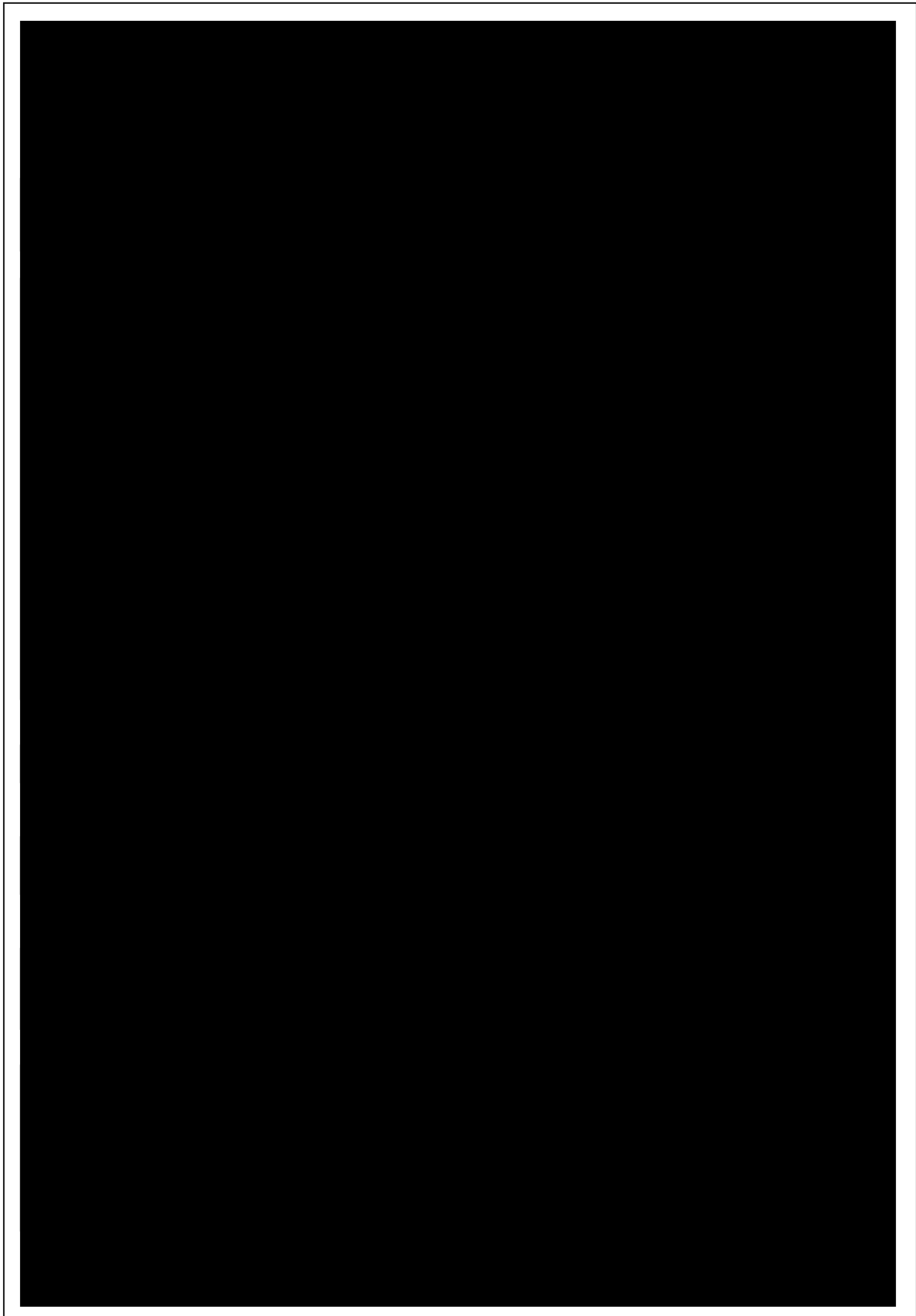


Figura 12: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de 5-hidroximetilfurfural
(Fonte: SOUZA & JUNQUEIRA, 2005)

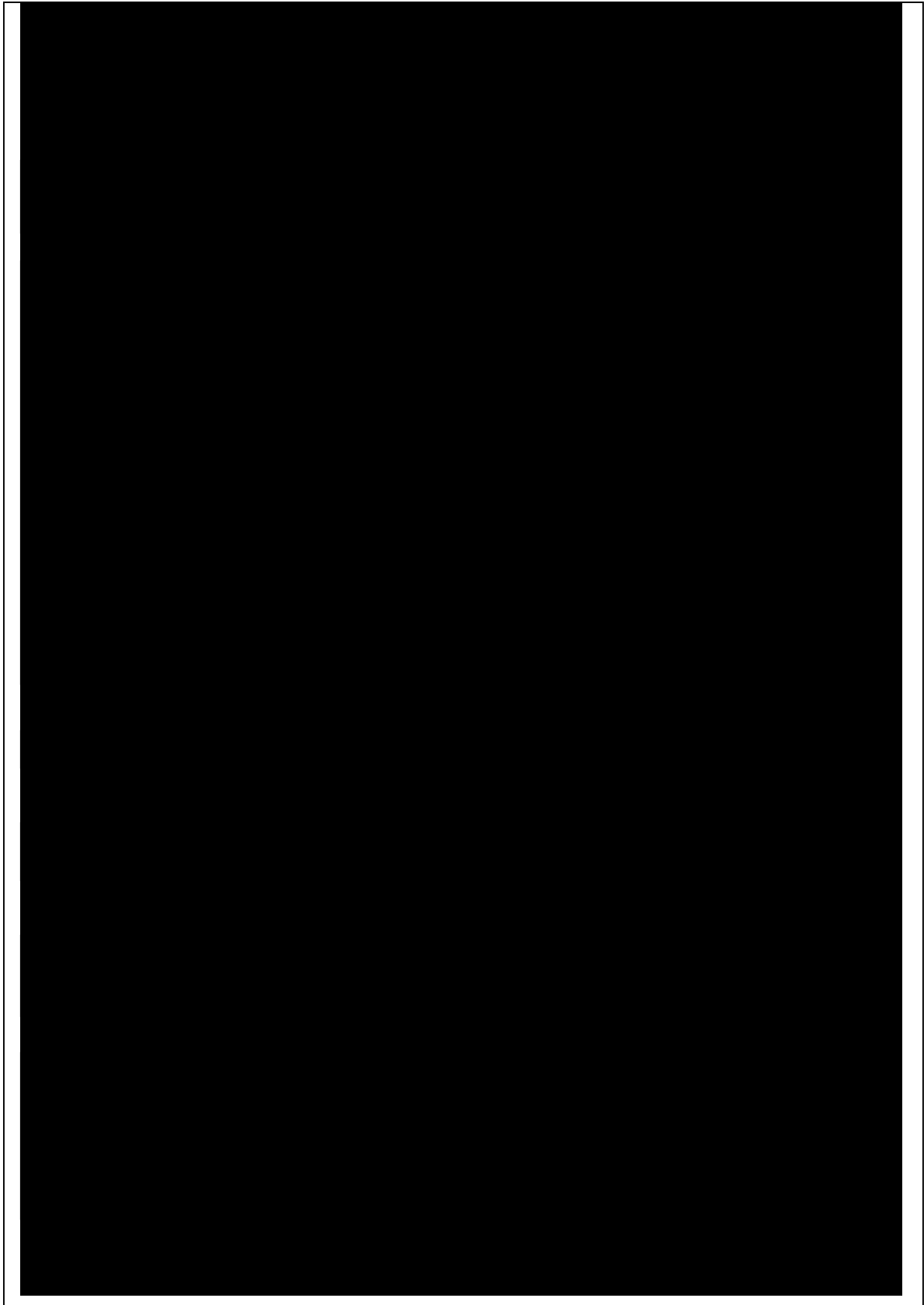


Figura 13: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de adenina

(Fonte: SOUZA & JUNQUEIRA, 2005)

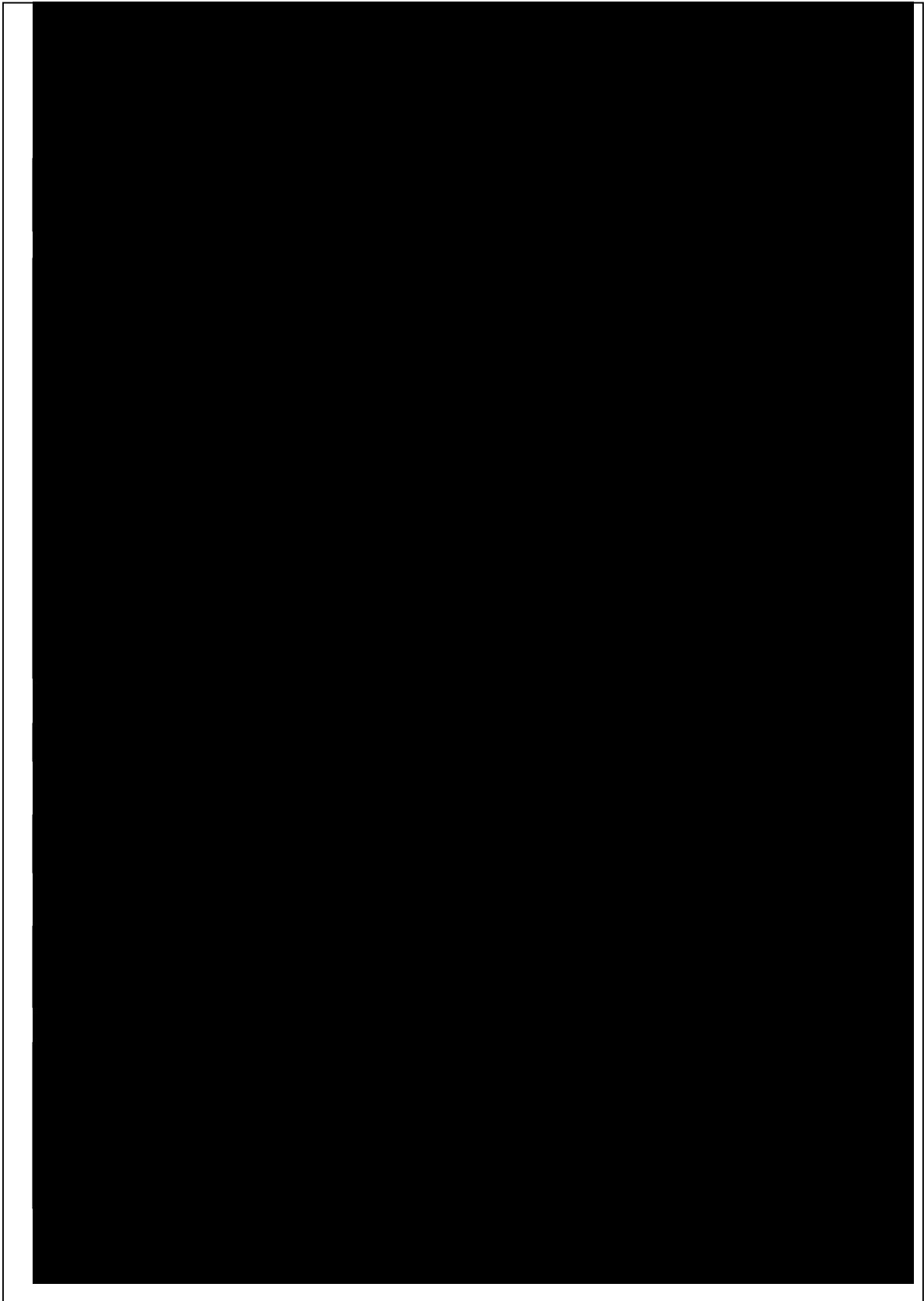


Figura 14: Avaliação de linearidade da curva analítica para determinação do teor de citrato total

(Fonte: SOUZA & JUNQUEIRA, 2005)

5 - CONCLUSÃO

As informações disponibilizadas no SGA permitiram a obtenção de um quantitativo de 1160 amostras pertencentes ao programa Instrumentos de Saúde sendo 411 amostras (35,4%) correspondentes a amostras de bolsas de sangue. Dessas amostras, verificou-se que os anos de 1999 e 2006 apresentaram maior demanda e a predominância da modalidade de análise prévia em todas as amostras analisadas. Dessas amostras, foram concluídas 375 amostras (92,8%) com índice de insatisfatoriedade de 17,9% e sendo em grande maioria bolsas de sangue com solução anticoagulante CPDA.

O impacto do controle físico-químico na avaliação das bolsas de sangue foi verificado pela maior incidência de insatisfatoriedades destes ensaios e em sua avaliação concluímos que os ensaios de determinação dos teores de glicose e frutose monoidratadas, manitol e adenina apresentaram-se como os mais críticos.

A revisão bibliográfica realizada possibilitou descrever as abordagens diferenciadas para o controle de qualidade do produto pelos compêndios oficiais e pela legislação vigente, além do controle realizado no INCQS, permitindo, assim, comparar os ensaios envolvidos. As abordagens mais detalhadas foram encontradas na Farmacopéia Americana e na Farmacopéia Européia, sendo nesta última, observada maior contribuição para a legislação vigente.

A análise comparativa das metodologias envolvidas nos ensaios de controle físico-químico preconizados na legislação vigente e nos compêndios oficiais para a solução anticoagulante e/ou preservadora permitiu observar a variedade de técnicas envolvidas para cada determinação e a importância da cromatografia líquida de alta eficiência. A ausência da indicação do ensaio de determinação do teor de manitol nos compêndios oficiais e indicação de determinação do teor de hidroximetilfurfural apenas na Farmacopéia Européia demonstraram, ainda mais, a fragilidade do controle de bolsas com soluções anticoagulante e/ou preservadora CPD e SAGM.

Concluindo, este estudo possibilitou a apresentação de uma proposta de alteração da legislação vigente onde são apresentadas metodologias desenvolvidas no LBAIS para controle de qualidade físico-químico que obtiveram resultados satisfatórios na avaliação preliminar do parâmetro estatístico de linearidade. Assim, sugere-se a realização novos estudos de aperfeiçoamento do controle realizado neste produto.

6 - PERSPECTIVAS

- Validação da metodologia desenvolvida no LBAIS para o ensaio de determinação do teor de adenina em solução anticoagulante e/ou preservadora de bolsa de sangue;
- Validação da metodologia desenvolvida no LBAIS para o ensaio de determinação do teor de glicose e frutose monoidratadas e manitol em solução anticoagulante e/ou preservadora de bolsa de sangue;
- Validação da metodologia desenvolvida no LBAIS para o ensaio de determinação do teor de 5-hidroximetilfurfural em solução anticoagulante e/ou preservadora de bolsa de sangue;
- Validação da metodologia desenvolvida no LBAIS para o ensaio de determinação do teor de citrato total em solução anticoagulante e/ou preservadora de bolsa de sangue; e
- Atualização da legislação vigente.

REFERÊNCIAS

- ABRANTES, S.; DUARTE, J. Determinação de cloreto de vinila, ftalato de di-(2-etilhexila) e adipato de di-(2-etilhexila) em bolsa de sangue e em sua solução anticoagulante. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 228-230. 1992.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Apresentação**. Brasília, 2009a. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/institucional/anvisa/apresentacao.htm>>. Acesso em: 04 nov. 2009a.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Produto para saúde**. Brasília, 2009b. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/produtosaude/reg/anexo.htm>>. Acesso em 04 nov. de 2009b.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Produto para saúde**. Brasília, 2009c. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/produtosaude/apresentacao.htm>>. Acesso em 04 nov. de 2009c.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Publicações**. Brasília, 2009d. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/tecnovigilancia/bit/2004/03_04.pdf>. Acesso em: 04 de nov. 2009d.
- AGUIAR, J. L. N. **System Suitability, risco sanitário e desenvolvimento de um novo método analítico por cromatografia a líquido do ácido acetilsalicílico e do ácido salicílico em comprimidos**. 2005. 72 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Vigilância Sanitária)– Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro, 2006.
- AGUIAR, J. L. N. **Validação interlaboratorial de um novo método analítico por cromatografia em fase líquida do ácido acetilsalicílico e do ácido salicílico em comprimidos**. 2007. 90 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária)- Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro, 2008.
- ANDRADE, M. V. A. S. *et al.* Análise de Hidroximetilfurfural em soros anticoagulantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 46., 2006. Salvador. **[Anais]** Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2006/trabalhos2006/4/815-993-4-T1.htm>>. Acesso em: 4 maio 2009.
- ANTICOAGULANT Citrate Dextrose Solution. In: United States Pharmacopoeia. 29. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2007a.
- ANTICOAGULANT Citrate Phosphate Dextrose Solution. In: United States Pharmacopoeia. 29. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2007b.
- ANTICOAGULANT and preservative solutions for human blood. In: European Pharmacopoeia. 6. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2008.
- ANTICOAGULANT Citrate Dextrose Solution. In: United States Pharmacopoeia. 32. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2009a.

ANTICOAGULANT Citrate Phosphate Dextrose Adenine Solution. In: United States Pharmacopoeia. 32. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2009c.

ANTICOAGULANT Citrate Phosphate Dextrose Solution. In: United States Pharmacopoeia. 32. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2009b.

AQUINO, *et al.* Determinação de aditivos, aldeídos furânicos, açúcares e cafeína em bebidas por cromatografia líquida de alta eficiência: validação de metodologias. **Revista Ciência Tecnológica Alimentícia**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 32-38, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 3826-1**: Bolsas plásticas para acondicionamento de sangue humano e seus componentes. Rio de Janeiro, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC 17025**: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005.

BRASIL. Decreto n.º 3.961, de 10 de outubro de 2001. Altera o Decreto no 79.094, de 5 de janeiro de 1977, que regulamenta a Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 11 out. 2001. Seção 1, n. 196, p. 15-17.

BRASIL. Lei n.º 6.437, de 20 de agosto de 1977. Configura as infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 ago. de 1977. Seção 1, p. 011145-011150.

BRASIL. Portaria n.º 950, de 26 de novembro de 1998. Anexo. Regulamento Técnico sobre Bolsas Plásticas para a coleta e acondicionamento de sangue humano e seus componentes. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 nov. de 1998. Seção 1, n. 229, p. 11-14.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada n.º 37, de 06 de julho de 2009. Trata da admissibilidade das Farmacopéias estrangeiras. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 08 jul. de 2009. Seção 1, n. 128, p. 40.

CONTAINERS. In: EUROPEAN PHARMACOPOEIA. 6. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2008.

COSTA, E. A. Vigilância Sanitária e proteção da saúde. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão do Trabalho e da Educação na Saúde. **Direito Sanitário e Saúde Pública**, Brasília, DF, v. 1, p. 189-218, 2003.

COSTA JÚNIOR, J. D. **Avaliação do sangue total de cães armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CDP/SAG-M**. 2006. 39 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

EMPTY sterile containers of plasticised polyvinyl chrolide for human blood and blood components. In: EUROPEAN PHARMACOPOEIA. 6. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2008.

FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE HEMOCENTRO DE SÃO PAULO. **História do sangue.** Disponível em: <<http://www.prosangue.sp.gov.br/prosangue/actioncuriosidades.do?acao=curiosidadeB>>. Acesso em: 08 dez. 2009b.

FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE HEMOCENTRO DE SÃO PAULO. **O que é sangue?** Disponível em <<http://www.prosangue.sp.gov.br/prosangue/actioncuriosidades.do?acao=curiosidadeE>>. Acesso em 08 de dezembro de 2009a.

FUST, A. M. B. S. **Avaliação e desenvolvimento de metodologia analítica para adenina em solução preservadora de bolsa plástica de sangue.** 2008. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Vigilância Sanitária)– Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro, 2009.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Análise de produtos.** Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/incqs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=46>>. Acesso em: 04 de nov. 2009c.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Estrutura.** Disponível em < http://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=74&Itemid=70>. Acesso em: 04 nov. 2009b.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **GT/AIS - Grupo Técnico de Artigos e Insumos de Saúde Grupo Técnico de Artigos e Insumos de Saúde.** Disponível em: <http://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=83&Itemid=91>. Acesso em: 04 nov. 2009d.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Manual De Coleta De Amostras.** Rio de Janeiro. Editora Fiocruz. 1998.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Missão.** Disponível em < http://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=72&Itemid=67>. Acesso em: 04 nov. 2009a.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Modalidades de análise realizadas no INCQS.** Disponível em: <http://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=244>. Acesso em: 04 nov. 2009f.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Sistema da Qualidade.** Disponível em <http://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=192&Itemid=123>. Acesso em: 04 nov. 2009g.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Tipos de Análises**. Disponível em: < http://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=65&Itemid=62>. Acesso em: 04 nov. 2009e.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**: manual de orientação. Rio de Janeiro, 2007.

LEAL, A. A. X. *et al.* Validação e estimativa da incerteza do método de determinação de fósforo por espectrometria UV-VIS. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 32. p. 28-34, 2007.

LEONART, M. S. S. *et al.* Correlation of discocyte frequency and ATP concentration in preserved blood. A morphological indicator of red blood cell viability. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, SP, v. 30, n. 6, p. 745-747, 1997.

MANITOL. In: United States Pharmacopoeia. 32. ed. Rockville: U. S. Pharmacopoeial, 2009.

MATERIALS based on plasticised polyvinyl chloride for tubing used in sets for the transfusion of blood and blood components. In: European Pharmacopoeia. 6. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2008.

PHARMACOPOEIA Harmonisation. In: European Pharmacopoeia. 6. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2008.

PLASTICS containers and closures for pharmaceutical use. In: European Pharmacopoeia. 6. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2008.

PLASTIC containers for pharmaceutical products. In: Society of Japanese Pharmacopoeia. 15. ed. Tokyo: Yakuji Nippo, 2006.

RECIPIENTES de material plástico para sangue e produtos do sangue. In: FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n. 5, p. 771-780, 2004.

SALLE, N. A. *et al.* Descarte de bolsas de sangue e prevalência de doenças infecciosas em doadores de sangue da Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, Washington, v.13, n. 2, p. 111-116, 2003.

SANTOS, A. F. *et al.* Determinação de parâmetros de validação de métodos cromatográficos par análise de 5-hidroximetilfurfural e açúcares em amostras de processo de produção de polímero biodegradável. **Enciclopédia Química**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 13-20, 2006.

SETS for the transfusion of blood and blood components. In: EUROPEAN PHARMACOPOEIA. 6. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2008.

SOLUÇÃO anticoagulante citrato e glicose. In: FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005a.

SOLUÇÃO anticoagulante citrato, fosfato e glicose. In: FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005b.

SOUZA, S. V. C.; JUNQUEIRA, R. G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. **Analytica Chimica ACTA**, Amsterdam, NL, v. 552, n. 1-2, p. 25-35, 2005.

STERILE plastic containers for human blood and blood components. In: EUROPEAN PHARMACOPOEIA. 6. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2008.

SYSTEM Suitability. In: United States Pharmacopoeia. 32. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2009.

TEMPLETON, H. X. A. C. *et al.* Quantification of 5-HMF and dextrose in commercial aqueous dextrose solutions. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, West Point, USA, v. 32. p. 451-459, 2003.

TESTS methods for plastic containers. In: Society of Japanese Pharmacopoeia. 15. ed. Tokyo: Yakuji Nippo, 2006.

TRANSFUSION and infusion assemblies and similar medical devices. In: United States Pharmacopoeia. 32. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2009.

VALIDATION of compendia procedures. In: United States Pharmacopoeia. 32. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2009.

VICENTE, C. S. **Implantação de um sistema de gestão da qualidade internacional ISO no Hemocentro da Unicamp e seu impacto na sistematização e melhoria da assistência de enfermagem aos doadores de sangue.** 2002. 195 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica/Gestão da Qualidade Total)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G. Determinação de ácidos carboxílicos e fenólicos em café solúvel utilizando HPLC/DAD. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 27, p. 76-79, 2007.

WHOLE Blood. In: United States Pharmacopoeia. 32. ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2009.

APÊNDICE A

Relação dos tipos de bolsa de sangue analisados no período de 1999 a 2008

Bolsa de sangue de transferência
Bolsa de sangue dupla CPD
Bolsa de sangue dupla CPDA
Bolsa de sangue para congelamento de hemácias
Bolsa de sangue quádrupla CPD-SAGM
Bolsa de sangue quádrupla CPD-ADSOL
Bolsa de sangue simples
Bolsa de sangue simples CPDA
Bolsa de sangue tripla CPD-SAG-M
Bolsa de sangue tripla CPD
Bolsa de sangue tripla CPD/ADSOL
Bolsa de transferência pediátrica
Bolsa para armazenamento de plaquetas
Bolsa para coleta de sangue de cordão umbilical CPDA
Bolsa para coleta e congelamento de sangue de cordão umbilical
Bolsa para coleta e congelamento de sangue de cordão umbilical CPD
Bolsa para coleta e criopreservação
Bolsa para proteção, armazenamento e criopreservação de células
Dispositivo para coleta e armazenagem de células tronco
Filtro LCG bancada para leucodepleção de unidade de sangue total
Filtro para remoção de leucócitos em concentrados de hemácias
Filtro sanguíneo para redução de leucócitos
KIT AUTO PBSC CJTO ATF
Kit de aférese
Kit de coleta de medula óssea
Kit de lavagem de autotransfusão
KIT ELP-LRS CJTO ATF
Kit para lavagem de células cobe 2991
Kit para procedimento de fotoférese
Kit para separação e coleta de componentes sanguíneos
Kit RBCX CJTO ATF

Oxigenador de membrana - infantil - 050
Reservatório de sangue venoso infantil 800ml
Solução aditiva para aférese
Solução para aférese ACD-A

APÊNDICE B

Descrição da planilha de avaliação de linearidade de curva analítica desenvolvida por Souza & Junqueira

Elaborada por Souza & Junqueira, esta planilha consiste em ferramenta para a verificação da linearidade de uma curva analítica. A avaliação é realizada pelo método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO). E seu ajuste se baseia nas hipóteses:

- Os resíduos são variáveis aleatórias com média zero e variância constante e desconhecida;
- Os resíduos são variáveis normalmente distribuídas;
- Os resíduos são homocedásticos, com distribuição constante ao longo dos valores de X;
- Os resíduos não são correlacionados e independentes; e
- A relação entre X_i e Y_i é linear.

TESTES:

1) Teste de Jack-Knife

Objetivo: Verificar valores extremos (população diferente) ou erros de medição.

Avaliação: $J < t_{crit}$

Características: O cálculo do resíduo padronizado J emprega uma estimativa da variância dos resíduos da regressão independente do ponto sob suspeita. Apresenta valor diferenciado para cada ponto da curva de calibração e segue a distribuição de Student t. Apesar das excelentes características do o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO), este método tem o inconveniente de ser muito sensível à presença de pontos de influência como valores extremos (outliers) ou pontos de alavanca (leverages).

Observações: Podem ser removidos em percentual máximo de 22,2 % do número total de replicatas. Não podendo ser retirado todos os resultados de um mesmo nível e após cada remoção novos cálculos são realizados.

2) Teste da significância da regressão e do desvio da linearidade

Objetivo: Significância da regressão linear - Testar a hipótese de que a regressão linear seja ou não significativa.

Avaliação: Regressão linear significativa - $F_{estimado} > F_{crítico}$ ou na planilha $p < 0,001$.

Objetivo: Desvio da linearidade – Testar se o modelo linear apresenta desvio de linearidade

Avaliação: Não há desvio de linearidade - $F_{estimado} < F_{crítico}$ ou na planilha $p > 0,05$.

Características: Para realizar o teste da significância da regressão e do desvio da linearidade, a variabilidade total das respostas é decomposta na soma dos quadrados dos resíduos da regressão (em torno da regressão) e na soma dos quadrados devido à regressão. A soma dos quadrados dos resíduos da regressão é então separada em soma dos quadrados do desvio da linearidade (falta de ajuste ao modelo) e soma dos quadrados do erro puro. A soma dos quadrados dos resíduos pode ser obtida pela diferença entre a soma dos quadrados total e a soma dos quadrados devida à regressão. A soma dos quadrados do erro puro é obtida pela diferença entre a soma do quadrado total e a soma do quadrados entre níveis. A estatística deste teste é a razão entre as variâncias, que segue a distribuição F com os graus de liberdade correspondentes.

Observações: Um desvio da linearidade significativo indica que o modelo é inadequado sendo necessário encontrar a inadequação. Desvio da linearidade não significativo indica adequação do modelo e para ambos, soma dos quadrados do erro puro e do desvio da linearidade, podem ser utilizados como estimativas de σ^2 .

3) Teste de Ryan-Joiner

Objetivo: Verificar a normalidade dos resíduos da regressão

Avaliação: Os resíduos seguem a distribuição normal: $R_{req} > R_{crit}$

Características: A estatística deste teste se baseia no coeficiente de correlação do gráfico de probabilidade normal ou coeficiente de correlação de Ryan-Joiner R .

4) Teste de Durbin-Watson

Objetivo: Verificar a autocorrelação dos resíduos da regressão

Avaliação: Os resíduos são independentes $d_{calc} > d_U$

Os resíduos são dependentes $d_{calc} < d_L$

Resultado inconclusivo: $d_L < d_{calc} < d_U$

Características: A estatística deste teste se baseia na estatística de Durbin-Watson d . Para cada conjunto de dados, há dois limites críticos d_L (limite inferior) e d_U (limite superior).

5) Teste de Levene

Objetivo: Avaliar homocedasticidade

Avaliação: Homocedasticidade – $t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$

Características: A estatística deste teste se baseia no F de Levene F_L , mas no caso específico de dois grupos, ou seja, para um grau de liberdade de tratamentos, em que $t = \sqrt{F}$, pode ser usada a estatística t de Levene t_L .

(AGUIAR, 2007; SOUZA & JUNQUEIRA, 2005).

ANEXO A

PORTARIA Nº 950, DE 26 DE NOVEMBRO DE 1998

O Secretário de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, no uso de suas atribuições e considerando a necessidade de se estabelecer os requisitos mínimos necessários das bolsas plásticas para coleta e acondicionamento de sangue humano e seus componentes, consistente do anexo desta Portaria.

Artigo 1º - Aprovar o Regulamento Técnico sobre Bolsas Plásticas para coleta e acondicionamento de sangue humano e seus componentes, consistente do anexo desta Portaria.

Artigo 2º - Esta portaria entra em vigor na data de sua publicação.

Gonzalo Vecina Neto

Anexo

Regulamento Técnico

- 1 - Objetivo
- 2 - Definições
- 3 - Normas de Referência
- 4 - Requisitos gerais
- 5 - Requisitos Específicos
- 6 - Ensaio

1 - Objetivo

- 1.1- Este regulamento fixa as condições exigíveis; incluindo aquelas pertinentes ao desempenho do plástico policloreto de vinila (PVC) plastificado com o di (2-etilhexil) ftalato (DEHP), trioctiltrimelitato (TOTM) ou outros que venham a ser aprovados pelo Ministério da Saúde, para bolsas plásticas, estanques, estéreis e apirogênicas, completas com tubo de coleta, agulha e tudo de transferência opcional para coleta, armazenamento, transporte, separação e administração de sangue total e seus componentes.
- 1.2- As bolsas plásticas podem conter soluções anticoagulantes e/ou preservadoras dependendo da sua aplicação.
- 1.3- Essas exigências para bolsas plásticas são necessárias para:
 - 1.3.1 Assegurar que a qualidade do sangue e seus componentes seja mantida a melhor possível.
 - 1.3.2 Possibilitar uma coleta, identificação, armazenamento, fracionamento e transfusão de seu conteúdo, de forma eficiente

e segura, especialmente para reduzir-se ao mínimo os riscos devido a:

- 1.3.2.1 - Contaminação, particularmente a microbiológica.
- 1.3.2.2 - Embolia gasosa
- 1.3.2.3 - Erros na identificação de bolsas plásticas e das amostras de seu conteúdo
- 1.3.2.4 - Interação entre bolsa plástica e seu conteúdo.
- 1.3.3 Assegurar compatibilidade funcional com os equipos para transfusão de sangue de acordo com a ISSO 1135/4
- 1.3.4 Possibilitar o máximo de resistência à ruptura e à deterioração da bolsa plástica fabricada com o mínimo de massa e volume.

2 - Definições

2.1 - Bolsa plástica

O termo "bolsa plástica" é utilizado neste Regulamento Técnico para definir o recipiente

completo com o tubo de coleta e agulha, os tubos de saída, as soluções anticoagulantes e/ou preservadoras e os tubos de transferência e recipientes associados, quando existentes.

2.2 - Esterilidade

Ausência de todo microorganismo capaz de multiplicar-se.

2.3 - Volume nominal

Volume de sangue a ser envasado no recipiente, conforme indicado no rótulo pelo fabricante.

2.4 - Vida útil/validade

Período entre a data de esterilização e a data em que o produto não poderá mais ser utilizado

para coleta de sangue.

2.5 - Lote

Para bolsas plásticas com solução anticoagulante e/ou preservadora, o termo "lote" significa a

quantidade de bolsas preparadas e cheias com um único lote de solução anticoagulante e esterilizada em um único ciclo.

Para bolsas plástica vazias, o termo "lote" significa a quantidade de bolsas preparadas em um dia de trabalho e esterilizadas em um ciclo.

3 - Normas de Referência

3.1 - Farmacopéia Brasileira

3.2 - Farmacopéia Européia

- 3.3- Farmacopéia Americana
- 3.4- Norma ISSO 3826 ou similar nacional
- 3.5- Norma ISSO 1135/4
- 3.6- Norma DIN 13097
- 3.7- Lei 6360/76
- 3.8- Decreto 79094/77
- 3.9- Portaria Conjunta SVS/SAS 01/96

4 - Requisitos Gerais

4.1- As bolsas plásticas devem ser transparentes, incolores, flexíveis, estéreis, apirogênicas, isentas de toxicidade, resistentes nas condições de uso e compatíveis com o conteúdo sob condições normais de estocagem.

As bolsas devem ser estáveis biológica, química e fisicamente em relação ao seu conteúdo durante o período de validade e não devem permitir a entrada de microorganismos. Não devem liberar qualquer substância acima dos limites especificados para a solução anticoagulante e/ou preservadora, sangue ou componentes, quer por interação química ou dissolução física.

NOTA - O processo de fabricação deve garantir um volume mínimo de ar dentro das bolsas, de modo a permitir a coleta e fracionamento do volume integral de sangue.

5 – Requisitos Específicos

5.1 – Dimensões

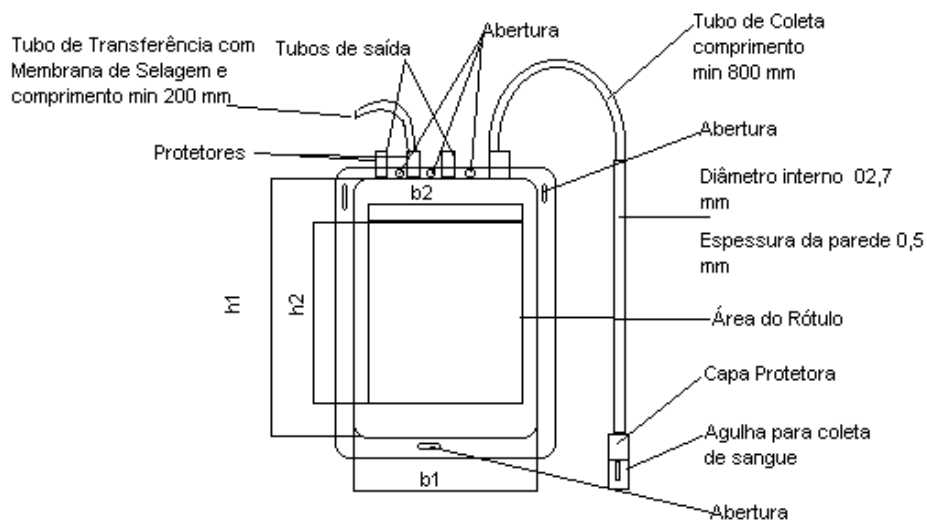


Figura 1: Representação esquemática de bolsa plástica.

Nota: Apenas os valores dimensionados são obrigatórios.

Tabela 1 – Dimensões para bolsas plásticas, áreas para rótulo e capacidade nominal (Guia de Referência apenas)

Capacidade Nominal (mL)	Largura Interna (b1) (mm)	Altura Interna (h1) (mm)	Tamanho da área do rótulo (mm)	
100	75	120	60	85
250	120	130	90	85
400	120	170	100	100
500	120	185	100	100

5.1.1 – A bolsa plástica deve ser fornecida com uma pinça a ser usada no tubo de coleta, de modo a não permitir a passagem de ar e a contaminação do sangue durante a coleta. O tubo de coleta, com no mínimo 800 mm de comprimento, deve Ter marcações idênticas com intervalos em torno de 75 mm entre si, ao longo do tubo, para serem usados como amostras-piloto para análise.

5.1.2 – No caso de bolsas plásticas de transferência, o comprimento do tubo de transferência deve ser de, no mínimo, 600 mm e deve conter marcações idênticas com intervalos em torno de 75 mm entre si, ao longo do tubo.

5.1.3 – As bolsas plásticas devem permitir coletar a quantidade de sangue e seus componentes estipulada pelo Minsitério da Saúde, ou seja, um volume de sangue e correspondente volume de solução anticoagulante e/ou preservadora num total de 500 mL e também permitir sua adaptabilidade ao copos de centrífugas usuais e sua centrifugação, com volume nominal das bolsas satélites entre 300 e 500 mL.

5.2 – Tubos de coleta e de transferência.

5.2.1 – As bolsas plásticas devem ser providas com um tubo de coleta ou um ou mais tubos de transferência para permitir a coleta e separação do sangue e seus componentes.

O tubo de transferência deve ser montado com um dispositivo que atue primeiro como um selo e depois, quando quebrado, permita livre fluxo dos componentes do sangue.

5.2.2 – Os tubos devem ser tais que possam ser selados hermeticamente e não colapsem em condições normais de uso.

5.2.3 – Em inspeção visual os tubos não devem apresentar cortes, bolhas, dobras ou outros defeitos.

5.2.4 – Não deve haver vazamento nas junções entre os tubos e o corpo da bolsa plástica quando realizado teste de resistência.

5.3 – Agulha para coleta.

5.3.1 – A agulha deve ser conectada ao tubo de coleta, coberta com a capa protetora. A capa protetora deve prevenir vazamentos da solução anticoagulante e/ou preservadora da bolsa plástica, durante a estocagem, para manter a esterilidade do sistema a ser facilmente removível. A capa protetora deve ser a

prova de violação e fabricada de tal forma que seja impossível recolocá-la ou, qualquer tentativa de manipulação seja claramente observada.

5.3.2 – A agulha para coleta deve resistir, sem soltar-se do conjunto, quando enasaida conforme 6.1.3.

5.3.3 – As agulhas devem atender às especificações da norma DIN 13097.

5.4 – Tubos de saída.

5.4.1 – As bolsas plásticas devem possuir um ou mais tubos de saída para administração de sangue e seus componentes através de um equipo de transfusão. O(s) tubo(s) de saída deve(m) possuir um membrana perfurável, não selável novamente, que permita a conexão do equipo de transfusão sem vazamento durante a administração ou condições de uso, incluindo esvaziamento sobre pressão. Para assegurar o intercambiamento, o tubo de saída deve possuir tamanho e forma que permitam a introdução de um equipo de transfusão, possuindo um dispositivo de perfuração e vedação, de acordo com a ISSO 1135/4. Antes da perfuração da membrana pelo dispositivo de perfuração e vedação, o tubo de saída deve ficar firmemente ocluso pela mesma.

5.4.2 – Cada tubo de saída deve ser selado e montado com um lacre, hermético à prova de violação para manter a esterilidade interna.

5.4.3 – As bolsas plásticas devem ter meios de suspensão ou posicionamento que não interfiram no uso da bolsa durante coleta, armazenamento, processamento, transporte e administração, conforme 6.1.9.

5.5 – Amostras-Piloto

A bolsa plástica deve ser projetada de modo que amostras-piloto de identidade inconfundível possam ser coletadas para execução dos ensaios de laboratórios, sem que o sistema fechado da bolsa seja violado.

5.6 – Embalagem primário.

As bolsas plásticas devem ser acondicionadas em embalagem, de modo a atender os seguintes critérios:

5.6.1 – As bolsas plásticas não devem perder mais do 2,5% (m/m) de água da solução anticoagulante e/ou preservadora, durante um ano de estocagem a 50% de umidade relativa, a $(23 \pm)^{\circ}\text{C}$ e pressão atmosférica.

5.6.2 – A vida útil da bolsa plástica deve ser estabelecida pelo fabricante com base no dado de estabilidade. Quando contém solução anticoagulante e/ou preservadora, a vida útil não deve exceder aquela em que a perda de água é igual a 5% (m/m).

5.6.3 – O interior da embalagem não deve interagir com o seu conteúdo e deve ser tratado para prevenir a formação e crescimento de bolor ou fungos. Em caso de utilização de fungicidas químicos deve-se comprovar que não há penetração prejudicial ou deterioração da bolsa plástica e seu conteúdo.

5.6.4 – A embalagem plástica deve ser selada de maneira tal que seja inviolável.

5.6.5 – A embalagem deve ser suficientemente forte para resistir a danos sob condições normais de manuseio e uso.

5.6.4 – As bolsas plásticas e seus componentes devem ser dispostos na embalagem de modo que os tubos de coleta, conexão e transferência não fiquem torcidos ou sofram deformações permanentes.

5.7 – Marcação e Rotulagem

Os rótulos devem estar em conformidade com a legislação vigente e atender aos seguintes requisitos:

5.7.1 – Rotulagem da bolsa plástica.

O rótulo deve conter as seguintes informações:

- a) Composição da solução anticoagulante e/ou preservadora;
- b) Natureza e volume em mL, ou em g, da solução anticoagulante e/ou preservadora e o volume em mL, ou massa em g. de sangue a ser coletado.
- c) A inscrição: “Não deve ser utilizada se houver sinal de deterioração e/ou diminuição do volume”;
- d) A inscrição: “Artigo de uso único. Destruir após o uso”;
- e) A inscrição: “ Não perfure – produto estéril e apirogênico”;
- f) Nome e endereço do produtor e do importador e nome do técnico responsável, seu número de inscrição e sigla da autarquia profissional;
- g) Número do lote;
- h) Data de fabricação e validade em destaque;
- i) Processo de esterilização;
- j) Espaço reservado para registrar o grupo ABO e Rh, resultados dos testes de sorologia, número de referência apropriado das amostras-piloto e também um espaço para quaisquer outras exigências da regulamentação nacional.

5.7.2 – Rotulagem da Embalagem

Se o rótulo da bolsa plástica não for visível através da embalagem, está deverá conter as seguintes informações:

- a) Nome e endereço do produtor e do importador e nome do técnico responsável, seu número de inscrição e sigla da autarquia profissional;
- b) Declaração do conteúdo;
- c) Data de fabricação e validade;
- d) Número do lote;

5.7.3 – Outras impressões:

- a) Instruções para uso da bolsa plástica.
- b) Instruções para estocagem após a abertura da embalagem.

NOTA – Ficará a critério do produtor colocá-las no rótulo, na embalagem ou bula.

5.7.4 – Rotulagem do recipiente de embarque

O rótulo deve conter as seguintes informações:

- a) Nome e endereço do produtor;

- b) Declaração do conteúdo;
- c) Instruções para estocagem;

5.7.5 – Rótulo da bolsa plástica

O rótulo deve ser tal que:

- a) Deixe uma parte da bolsa visível e livre de marcações para que o conteúdo possa ser inspecionado visualmente;
- b) A impressão se mantenha legível durante todo tempo de uso;
- c) Permita anotações em tinta permanente, atóxica e a prova d'água;
- d) O adesivo, quando usado, não permita ou favoreça o crescimento de microorganismos e não tenha efeito de deterioração na bolsa plástica ou no seu conteúdo;
- e) Qualquer tentativa de remoção do rótulo deve resultar na sua destruição;
- f) Quando a bolsa for substituída ao ensaio descrito em 6.1.4, o rótulo não deve separar-se dela, nem ser removido e o conteúdo impresso no mesmo deve permanecer legível.

5.8 – Esvaziamento sob pressão.

As bolsas plásticas devem esvaziar-se, sem vazamento, em 2 minutos quando ensaiadas conforme 6.1.1.

5.9 – Velocidade de coleta

As bolsas plásticas devem ser projetadas de tal modo que possam ser enchidas em menos de 8 minutos com o volume de sangue a ser coletado, quando ensaiadas conforme 6.1.5.

5.10 – Transparência.

A opalescência da suspensão padrão deve ser percebida quando observada através da bolsa e comparada com outra similar cheia com água, quando ensaiada conforme 6.1.6

5.11 – Permeabilidade ao vapor d'água

As bolsas plásticas contendo ou não solução anticoagulante e/ou preservadora, quando ensaiadas conforme 6.1.7 não devem apresentar perda de massa maior que 1%.

5.12 – Resistência a deformação e vazamento

As bolsas plásticas não devem sofrer deformação ou vazamento quando ensaiadas conforme 6.1.8.1 e 6.1.8.2.

5.13 – Estabilidade térmica.

As bolsas plásticas devem atender aos requisitos de tração do tubo, alça de suspensão, resistência a deformação e vazamento, após submetidas às condições descritas em 6.1.10.

5.14 – Solução anticoagulante e/ou preservadora.

5.14.1 – Volume de conteúdo.

O volume não deve diferir daquele rotulado em mais que 10% quando ensaiado conforme 6.1.11.

5.14.2 – Absorvância

A absorvância da solução anticoagulante não deve ser maior que 0,5 quando realizado ensaio conforme 6.1.12.

Nota: Ensaio aplicável apenas às soluções glicose – citrato e glicose – citrato – fosfato.

5.14.3 – pH.

Deve estar entre 5,0 e 6,0 quando realizado ensaio conforme 6.1.13.

5.14.4 – Teor dos componentes

Os valores encontrados nos ensaios realizados nas amostras de soluções anticoagulante e/ou preservadoras, conforme 6.2.1 a 6.2.6, não devem diferir dos especificados na tabela abaixo:

A – Solução de Adenina, Glicose, Fosfato e Citrato (CPDA)

COMPONENTE	TEOR (g/1000 mL de solução)	ENSAIO
Fosfato diácido de sódio monoidratado (NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O)	entre 2,11 e 2,33g	6.2.1
Glicose monoidratada (C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O)	entre 30,30 e 33,50g	6.2.2
Citrato de Sódio Diidratado (C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O)	entre 24,98 e 27,61g	6.2.3
Sódio	entre 6,21 e 6,86g	6.2.4
Adenina (C ₅ H ₅ N ₅)	entre 0,247 e 0,303g	6.2.5
Ácido cítrico anidro (C ₆ H ₈ O ₇)	entre 2,85 e 3,15g	6.2.6

B – Solução de Glicose, Fosfato e Citrato (CPD)

COMPONENTE	TEOR (g/1000 mL de solução)	ENSAIO
Fosfato diácido de sódio monoidratado (NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O)	entre 2,11 e 2,33g	6.2.1
Glicose monoidratada (C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O)	entre 24,22 e 26,77g	6.2.2
Citrato de Sódio Diidratado (C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O)	entre 24,98 a 27,61g	6.2.3
Sódio	entre 6,21 a 6,86g	6.2.4
Ácido cítrico anidro (C ₆ H ₈ O ₇)	entre 2,85 a 3,15g	6.2.6

C – Solução de Glicose e Citrato (ACP)

Solução A

COMPONENTE	TEOR (g/1000 mL de solução)	ENSAIO
Glicose monoidratada (C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O)	entre 23,28 a 25,73g	6.2.2
Citrato de Sódio Diidratado (C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O)	entre 20,59 a 22,75g	6.2.3
Ácido cítrico anidro (C ₆ H ₈ O ₇)	entre 6,93 a 7,66g	6.2.6

Solução B

COMPONENTE	TEOR (g/1000 mL de solução)	ENSAIO
Glicose monoidratada (C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O)	entre 13,96 a 15,44g	6.2.2
Citrato de Sódio Diidratado (C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O)	entre 12,37 a 13,67g	6.2.3
Ácido cítrico anidro (C ₆ H ₈ O ₇)	entre 4,18 a 4,62g	6.2.6

D – Solução CPD/SAG – Manitol – Solução 1

SAG – Manitol 1

COMPONENTE	TEOR (g/1000 mL de solução)	ENSAIO
Glicose monoidratada (C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O)	entre 8,55 e 9,45g	6.2.2
Manitol (C ₆ H ₁₃ O ₆)	entre 4,99 e 5,51g	6.2.2
Adenina (C ₅ H ₅ N ₅)	entre 0,161 e 0,177g	6.2.5
Cloreto de Sódio (NaCl)	Entre 8,33 e 9,20g	6.2.4 (Dosar sódio e expressar o resultado como NaCl)

E – Solução CPD/Sag– Manitol –Solução 2

SAG – Manitol 2

COMPONENTE	TEOR (g/1000 mL de solução)	ENSAIO
Glicose monoidratada (C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O)	entre 20,90 e 23,10g	6.2.2
Manitol (C ₆ H ₁₃ O ₆)	entre 7,12 e 7,87g	6.2.2
Adenina (C ₅ H ₅ N ₅)	entre 0,256 e 0,283g	6.2.5
Cloreto de Sódio (NaCl)	Entre 8,55 e 9,45g	6.2.4 (Dosar sódio e expressar o resultado como NaCl)

5.14.5 - Extrato

Os limites constantes da tabela abaixo não devem ser excedidos quando da realização de ensaios conforme Farmacopéia Brasileira.

CARACTERÍSTICAS	LIMITES	ENSAIO
Matéria Oxidável	£ 2,00 mL de (1/2 Na ₂ S ₂ O ₃) = 0,01 mol/L	6.2.7
Amônia (NH ₃)	£ 2,0 mg/L	6.2.8
Íons cloreto	£ 4 mg/L	6.2.9
Acidez ou alcalinidade	£ 0,4 mL de NaOH =0,01 mol/L de Hcl = 0,01 mol/L	6.2.10
Resíduo por evaporação	£ 3,0 mg/100 mL	6.2.11
Absorção Ultravioleta (UV)	entre 230 e 250 nm £ 0,3 entre 251 e 360 nm £ 0,1	6.2.12
Di (2-etil-hexil) ftalato extraível	£ 10 mg/100 mL	6.2.13

5.14.6 – 5 – Hidroximetilfurfural – Quando ensaiadas conforme 6.21.4, as soluções devem obedecer aos limites da tabela abaixo:

SOLUÇÃO	TEOR GLICOSE	LIMITE
GC (ACD) - SOL A	23,28 A 25,73	£ 5 PPM
SOL B	13,96 A 15,44	£ 3 PPM
CPD	24,22 A 26,77	£ 5 PPM

5.14.7 - Biológicos

5.14.7.1 – Citotoxicidade “in vitro”. O material ensaiado não deve apresentar um índice de resposta (IR) maior que o controle, quando ensaiado conforme 6.3.1.

5.14.7.2 – Toxicidade Sistêmica Aguda

Os animais tratados conforme 6.2.3 não devem apresentar sinais de toxicidade ou morte.

5.14.7.3 - esterilidade

As bolsas plásticas não devem apresentar crescimento microbiano quando ensaiadas conforme 6.3.3.

5.14.7.4 – Apirogenicidade/ ausência de endotoxinas.

As bolsas plásticas devem ser apirogênicas/ isentas de endotoxinas quando testadas conforme um dos métodos descritos em 6.3.4.

5.14.7.5 - Hemólise

As bolsas plásticas quando ensaiadas conforme 6.3.5 não devem apresentar hemólise, determinada pela absorção do branco maior que 0,01.

6.0 - Ensaaios

6.1 - Ensaaios físicos

6.1.1 – Esvaziamento sob pressão

A bolsa plástica quando cheia com um volume de água à temperatura de $(23\pm 2)^{\circ}\text{C}$ igual a sua capacidade nominal e conectada a um equipo de transfusão conforme especificação ISSO –1135-4, através de um tubo de saída (ver 5.4), deve esvaziar-se, sem vazamento, dentro de 2 minutos quando gradualmente comprimida entre duas superfícies planas (pratos) sob uma pressão interna de 40 Kpa acima da pressão atmosférica.

6.1.2 – Tração nos tubos

Realizar teste conforme Farmacopéia Brasileira.

6.1.3 – Fixação de agulha

Aplicar e manter uma força de tração de 20 N ao longo do eixo longitudinal durante 15 segundos.

6.1.4 – Permanência do Rótulo

As bolsas plásticas, cheias com água até sua capacidade nominal e seladas, devem ser armazenadas por 5 dias a uma temperatura de $(5\pm 1)^{\circ}\text{C}$. Esse período inicial deve ser seguido de um período de 24 horas a uma temperatura máxima de -40°C e então 24h a $(5\pm 1)^{\circ}\text{C}$. As bolsas plásticas rotuladas e/ou com identificação impressa devem ser submersas em um reservatório de água mantido a uma temperatura de $(20\pm 1)^{\circ}\text{C}$ por 24 h.

6.1.5 – Velocidade de coleta

Conectar o recipiente, por meio de tubo previamente munido de agulha de punção, a um reservatório contendo solução de mesma viscosidade que o sangue, tal como solução de sacarose a 33,5% p/V a 37°C , mantendo diferença de 9,3 Kpa entre

pressão atmosférica e pressão interna, com a base do recipiente e a parte superior da bolsa plástica no mesmo nível.

6.1.6 – Transparência

Encher as bolsas plásticas com um volume de suspensão opalescente padrão (preparada conforme instruções abaixo) igual a sua capacidade nominal, diluída para uma absorvância entre 0,37 e 0,43 em 640 nm numa célula de 1 cm.

6.1.6.1 – Preparo da suspensão opalescente padrão:

A – Reagentes

1 – Solução de sulfato de hidrazina

Dissolver 1,0 g de sulfato de hidrazina em água destilada e diluir para 100mL. Deixar em repouso por 4 a 6 horas.

2 – Solução de Hexametenotetramina.

Dissolver 2,5 g de hexametenotetramina em 25 mL de água destilada em um frasco de 100 mL com tampa.

3 – Suspensão opalescente primária

Adicionar à solução de hexametenotetramina 25 mL da solução de sulfato de hidrazina.

Misturar e deixar em repouso por 24 hs.

Esta suspensão é estável por 2 meses, quando estocada em recipiente de vidro, isento de defeitos na superfície. A suspensão opalescente primária para 1000 mL com água destilada.

Esta suspensão deve ser recentemente preparada e pode ser estocada por, no máximo 24 horas.

6.1.7 - Permeabilidade ao vapor d'água.

Introduzir na bolsa, contendo solução anticoagulante e/ou preservadora ou não, um volume de solução 0,9% (m/v) de cloreto de sódio até completar seu volume nominal. Fechar a bolsa, pesar e manter a mesma a $(5\pm 1)^{\circ}\text{C}$ em uma atmosfera com umidade relativa de $(50\pm 5)\%$ por 21 dias. Pesar novamente.

6.1.8 – Resistência a deformação e vazamento.

6.1.8.1 – Encher o recipiente com água a $(5\pm 1)^{\circ}\text{C}$, acidificada por adição de 1mL de ácido clorídrico diluído SR até seu volume nominal. Envolver a bolsa plástica em papel absorvente impregnado de azul de bromofenol diluído 1:5 SI, ou de outro indicador apropriado, e seco. Centrifugar a 5000 rpm por 10 minutos a $(5\pm 1)^{\circ}\text{C}$ não deve ocorrer qualquer vazamento sobre o papel indicador, e nem qualquer deformação permanente.

6.1.9 – Alça de Suspensão

Os meios de suspensão ou posicionamento devem ser capazes de suportar, sem se romper, uma força de 20 N aplicada ao longo do eixo longitudinal dos tubos de saída, durante 60 minutos, a uma temperatura de $(23\pm 2)^{\circ}\text{C}$

Nota: Este teste será realizado apenas após a realização do teste de estabilidade térmica.

6.1.10 – Estabilidade Térmica.

Colocar a bolsa plástica em uma câmara com temperatura inicial de 20 a 23°C. Esfriar rapidamente a uma temperatura de -80°C, mantendo esta temperatura por 24 h. Elevar a temperatura a 50°C, mantendo-se assim por 12 h. Deixar esfriar à temperatura ambiente. A bolsa deve satisfazer os ensaios de resistência a deformação e vazamento, tração dos tubos, permeabilidade ao vapor d'água, esvaziamento sob pressão e alça de suspensão.

6.1.11 – Volume de conteúdo.

Esvaziar completamente bolsas e tubos, recolhendo a solução anticoagulante numa proveta.

6.1.12 – Absorvância

Medir a absorvância da solução anticoagulante no intervalo entre 250 e 350 nm, utilizando como líquido de compensação uma solução anticoagulante de composição idêntica que não tenha estado em contato com o material plástico, autoclavada em frasco de vidro boro-silicato sob as mesmas condições utilizadas no processo de esterilização das bolsas plásticas. A absorvância máxima a 280 nm não deve ser superior a 0,5.

6.1.13 – pH.

Proceder o ensaio conforme farmacopéia Brasileira.

6.2 – Ensaios Químicos e Físicoquímicos:

6.2.1 – Fosfato diácido de sódio

Seguir metodologia constante na USP.

6.2.2 – Glicose, frutose e manitol:

6.2.2.1 – Cromatografia:

6.2.2.1.1 – Aparelhagem e material:

a – Cromatógrafo líquido

b – Coluna para carboidratos com resina de troca catiônica na forma Ca (300x6,5) mm.

c – Forno para coluna

d – Detetor de índice de refração

e – Balança analítica.

f – Vidraria de laboratório.

6.2.2.1.2 – Condições de Análise:

a – Fase móvel: água deionizada e dezaseificada

b – Fluxo: 0,5 mL/min.

c – Temperatura do forno: (80 – 90)°C

d – Tempo de retenção:

Glicose: 10,2 min.

Frutose: 12,0 min.

Manitol: 13,9 min.

6.2.2.1.3 – Ensaio:

Pipetar 3 alíquotas de 5,0mL da solução anticoagulante e/ou preservadora e diluir para 50,0mL com água deionizada, em balão volumétrico.

Injetar alíquotas de 20,0 mL em duplicatas e medir as áreas dos picos correspondentes a glicose, frutose e manitol.

6.2.2.1.4 – Preparo das curvas de calibração:

Pesar alíquotas de glicose USP, frutose USP e manitol USP (secis a 80° C, à vácuo, por 3 horas) e dissolver com água deionizada, em balão volumétrico, para obter soluções com as seguintes concentrações, conforme a amostra a ser analisada:

AMOSTRA	Glicose Monoidratada (mg/mL)		Frutose Monoidratada (mg/mL)		Manitol Anidro (mg/mL)	
Solução Anticoagulant e CPDA	2,71		0,15		-----	
	3,03		0,25		-----	
	3,35		0,35		-----	
Solução Anticoagulant e CPD	2,16		0,14		-----	
	2,42		0,18		-----	
	2,68		0,22		-----	
Solução Anticoagulant e CD	2,09	1,26	0,16	0,096	-----	
	2,33	1,40	0,18	0,108	-----	
	2,57	1,54	0,20	0,120	-----	
Solução Preservadora Sag-manitol	0,75	1,87	0,057	0,14	0,45	0,63
	0,85	2,09	0,065	0,16	0,50	0,71
	0,95	2,31	0,073	0,18	0,55	0,79

Injetar alíquotas de 20,0 mL em duplicata e medir as áreas correspondentes a glicose, frutose e manitol.

Plotar as médias das áreas obtidas para cada solução contra as concentrações das mesmas em mg/mL de glicose monoidratada, frutose monoidratada e manitol anidro.

6.2.2.1.5 – Resultados:

Calcular o conteúdo de glicose monoidratada, frutose monoidratada e manitol anidro em g/L de solução anticoagulante e/ou preservadora usando a seguinte expressão:

$$A=10.C$$

Onde C – concentração em mg/mL de glicose monoidratada, frutose monoidratada ou manitol anidro, determinada na curva de calibração.

6.2.2.2 – Gravimetria (somente para glicose)

Seguir metodologia constante da USP.

Nota 1: Os teores de glicose + frutose serão genericamente expressos como glicose monoidratada ou anidra.

Nota 2: A Cromatografia Líquida será o método de escolha em caso de divergência de resultados na análise de glicose.

6.2.3 – Citrato de Sódio:

6.2.3.1 – Método A (espectrofotometria):

Seguir metodologia constante na USP.

6.2.3.2 – Método B (cromatografia líquida):

6.2.3.2.1 – Aparelhagem e material:

- a) Cromatógrafo líquido
- b) Coluna C-18 (250x4)mm 5 mm
- c) Detetor de ultravioleta
- d) Balança analítica
- e) Vidraria de laboratório

6.2.3.2.2 – Condições de análise:

- a) Fase móvel: DDSS 100 mg, H₃PO₄ 1mL, H₂O qsp 1.000 mL/MeOH (2:3)
- b) Solvente: H₃PO₄ 1 mL, H₂O qsp 1.000mL/ MeOH (2:3)
- c) Fluxo: 0,8mL/min
- d) $\lambda = 235\text{nm}$
- e) Tempo de retenção:

Citrato: 3,6 min.

Adenina: 4,8 min.

6.2.3.2.3 – Ensaio:

Pipetar 3 alíquotas de 5,0mL da solução anticoagulante e/ou preservadora, adicionar 4,0mL de HCl 0,1 N e diluir para 50,0mL em balão volumétrico, com o solvente.

Injetar em cromatógrafo alíquotas de 20,0 mL em duplicata e medir as áreas dos picos correspondentes ao citrato e a adenina.

6.2.3.2.4 – Preparo das curvas de calibração:

Pesar com precisão alíquotas de 21,25 (sag-manitol-1) ou 33,75 (sag manitol – 2 e CPDA mg de adenina USP, conforme a amostra a ser analisada, dissolver e diluir para 100,0 mL com HCl 0,1 N, em balão volumétrico, para obter solução estoque com concentrações de 0,2125 ou 0,2275 mg/mL, respectivamente.

Pesar com precisão alíquotas de citrato de sódio. 2H₂O USP, adicionar alíquotas de 3,0 4,0 E 5,0mL da solução estoque de adenina em balão volumétrico de 50 mL, para obter soluções com as seguintes concentrações, conforme a amostra a ser analisada.

AMOSTRA	Citrato de Sódio Diidratado (mg/mL)	Adenina Anidra (mg/mL)	
Solução Anticoagulante CPDA	2,78	0,020	
	3,09	0,027	
	3,40	0,034	
Solução Anticoagulante CPD	2,78	-----	
	3,09	-----	
	3,40	-----	
Solução Anticoagulante ACD	2,99	1,79	-----
	3,32	1,99	-----
	3,65	2,19	-----
Solução Preservadora Sag-manitol	-----	0,013	0,020
	-----	0,017	0,027
	-----	0,021	0,034

Injetar alíquotas de 20,0 mL em duplicata e medir as áreas correspondentes ao citrato de sódio total e a adenina.

Plotar as médias das áreas obtidas para cada solução padrão contra as concentrações das mesmas em mg/mL de citrato total expresso em citrato de sódio diidratado e adenina.

6.2.3.2.5 – Resultados:

a) Calcular o conteúdo de citrato expresso em citrato de sódio diidratado total ou adenina em g/L de solução anticoagulante e/ou preservadora usando a seguinte expressão:

$$A = 10 \times C$$

Onde: C = concentração em mg/mL de citrato total ou adenina determinada na curva de calibração.

b) Calcular a quantidade de citrato de sódio diidratado em g/L de solução anticoagulante e/ou preservadora usando a expressão:

$$D = A - (B \times 294,10)$$

(92,12)

Onde: A = Concentração total em g/L (conforme 6.2.3.2.5.a)

B = Concentração, em g/L de ácido cítrico anidro livre na solução (conforme 6..2.6).

6.2.4 – Sódio:

Seguir metodologia constante da USP.

6.2.5 – Adenina:

6.2.5.1 – Método A:

Seguir metodologia constante da USP

6.2.5.2 – Método B (cromatografia líquida):

Seguir procedimento 6.2.3.2

6.2.6 – Ácido Cítrico:

Seguir metodologia constante da USP.

6.2.7 – Matéria oxidável

Seguir metodologia constante da Farmacopéia Brasileira.

6.2.8 – Amônia

Seguir metodologia constante da Farmacopéia Brasileira.

6.2.9 – Cloreto

Seguir metodologia constante da Farmacopéia Brasileira.

6.2.10 – Acidez/alcalinidade

Seguir metodologia constante da Farmacopéia Brasileira.

6.2.11 – Resíduo por evaporação

Seguir metodologia constante da Farmacopéia Brasileira.

6.2.12 – Absorção do extrato (UV).

Seguir metodologia constante da Farmacopéia Brasileira.

6.2.13 – Di (2-etil-hexil) ftalato extraível

Seguir metodologia constante da Farmacopéia Brasileira.

6.2.14 – 5 – HMF (5 – Hidroximetilfurfural)

6.2.14.1 – Método A – Espectrofotometria

Metodologia descrita na Farmacopéia Européia.

6.2.14.2 – Método B – Cromatografia líquida

6.2.14.2.1 – Aparelhagem e material:

a) cromatógrafo líquido

- b) coluna c – 18 (150 x 4) mm 5 mm
- c) detector de ultravioleta
- d) balança analítica
- e) vidraria de laboratório

6.2.14.2.2 – Condições de Análise:

- a) fase móvel H₂O / MeOH (95:5)
- b) fluxo: 0,8 mL/min.
- c) $\lambda = 280$ nm
- d) Tempo de retenção: 9,6 min.

6.2.14.2.3 – Ensaio:

Injetar em cromatógrafo alíquotas de 500,0 mL da solução anticoagulante e/ou preservadora, em duplicata, e medir as áreas do pico correspondente ao 5 – hidroximetilfurfural.

6.2.14.2.4 – Preparação das curvas de calibração:

Pesar com precisão alíquotas de 5 - hidroximetilfurfural. Dissolver e diluir com água destiladas, em balão volumétrico, para obter soluções com concentrações conhecidas de 2,0, 4,0, 5,0 e 6,0 mg/L.

Injetar alíquotas de 500,0 mL de cada solução padrão, em duplicata, e medir as áreas correspondentes ao 5 – hidroximetilfurfural.

Plotar as médias das áreas obtidas para cada solução padrão contra as concentrações das mesmas em mg/L de 5 hidroximetilfurfural.

6.2.14.2.5 – Resultado:

Determinar o conteúdo de 5 - hidroximetilfurfural. Em mg/L da solução anticoagulante e/ou preservadora a partir da curva de calibração.

6.3 – Ensaio Biológicos

6.3.1 – Citotoxicidade

Seguir metodologia constante da USP.

6.3.2 – Toxicidade Sistêmica Aguda

Seguir metodologia constante de Farmacopéia Brasileira.

6.3.3 – Esterilidade

Seguir metodologia constante da Farmacopéia Brasileira.

6.3.4 – Pirogênio / Endotoxinas bacterianas

Seguir metodologia constante na Farmacopéia Brasileira para o teste de pirogênio e metodologia da USP para endotoxinas bacterianas.

Nota: O pirogênio “in vivo” será o método de escolha em caso de divergência de resultados.

6.3.5 – Hemólise

Seguir metodologia constante da Farmacopéia Brasileira

7.0 – APLICAÇÃO DOS ENSAIOS

Ensaio de tipo e lote são listados em 7.1 e 7.2.

7.1 – Ensaio de tipo

Todos os ensaios previstos neste Regulamento devem ser realizados para fins de Registro junto ao Ministério da Saúde e ser repetidos sempre que houver uma mudança significativa de processo, formulação de plástico ou solução anticoagulante ou preservadora.

7.2 – Ensaio de lote

Realizar a cada lote de fabricação os seguintes ensaios, no produto final:

7.2.1 – Volume do conteúdo (6.1.11)

7.2.2 – pH (6.1.13)

7.2.3 – 5 – HMF, quando aplicável (6.2.14)

7.2.4 – Teor dos componentes da solução anticoagulante e/ou preservadora (6.2.1 a 6.2.7)

7.2.5 – Esterilidade (6.3.3)

7.2.6 – Pirogênio/Endotoxinas bacterianas (6.3.4).