

ACADEMIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

FERNANDA NAYARA VALERIANO FRANÇA

PRODUÇÃO DE HEMOCOMPONENTES

São José do Rio Preto

2018

ACADEMIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

FERNANDA NAYARA VALERIANO FRANÇA

PRODUÇÃO DE HEMOCOMPONENTES

**Trabalho de conclusão de curso apresentado à
especialização de Hematologia Laboratorial e
Banco de Sangue. Academia de Ciências e
Tecnologia.**

São José do Rio Preto

2018

INTRODUÇÃO

A transfusão de sangue e hemocomponentes é uma tecnologia relevante na terapêutica moderna. Usada de forma adequada em condições de agravos da saúde pode salvar vidas e melhorar a saúde dos pacientes. Porém, assim como outras intervenções terapêuticas, pode levar a complicações agudas ou tardias, como transmissão de doenças infecciosas e outras complicações clínicas (1).

A transfusão de sangue e hemocomponentes consiste em um procedimento que se inicia na doação de sangue e se finaliza com o acompanhamento do paciente após o procedimento transfusional. No Brasil, a Lei nº 10.205 de 21 de março de 2001 regulamenta este processo junto a regulamentos técnicos do Ministério da Saúde.

Transfusões frequentes e o uso volumoso de sangue resultaram em novos problemas, como a sobrecarga circulatória. A terapia de componentes resolveu esses problemas. Antes disso, toda uma unidade de sangue poderia servir apenas a um paciente. Com a terapia de componentes, porém, uma unidade pode ser usada para múltiplas transfusões. Hoje os médicos podem selecionar o componente específico para as necessidades particulares do paciente sem arriscar-se aos perigos inerentes às transfusões de sangue total. Os médicos podem transfundir apenas a fração exigida na forma concentrada, sem sobrecarregar a circulação (2).

A separação dos componentes tornou-se viável depois de estudos que possibilitaram melhorar a coleta do sangue, como por exemplo: o sistema de coleta em bolsas plásticas, o armazenamento e conservação do sangue pelas soluções aditivas e preservadoras como anticoagulantes, e também o conhecimento das diferentes densidades das células sanguíneas e sua capacidade de sedimentação.

É compreendido como sangue, componentes e hemoderivados, os produtos e subprodutos originados de sangue humano venoso, placentário ou de cordão umbilical, indicados para diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças, assim definidos conforme a Lei 10.205 de 21 de março de 2001 (3):

I: sangue: quantidade total de tecido obtido na doação;

II: componentes: os produtos oriundos do sangue total ou plasma, obtidos por meio de processamento físico;

III: hemoderivados: os produtos oriundos do sangue total ou plasma, obtidos por meio de processamento físico-químico ou biotecnológico.

Para que se obtenham estes produtos é necessário que os serviços de hemoterapia sejam estruturados de forma a desenvolver as etapas do ciclo do sangue (dependendo do grau de complexidade de cada um), que incluem captação de doadores, coleta de sangue, testagem, processamento e armazenamento até a utilização na transfusão.

A terapia de transfusão de componente traz o benefício adicional de utilizar um recurso natural limitado de modo mais efetivo, pois fornece o material terapêutico necessário a vários pacientes a partir de uma mesma doação (2).

REFERENCIAL TEÓRICO

Tipos de bolsas de coleta

Após o cadastro do doador no serviço de hemoterapia, o mesmo irá passar por um processo de seleção, onde serão realizados exames físicos e uma triagem clínica visando garantir a segurança da saúde do doador e também do receptor do sangue. Quando qualificado para doação, o doador é encaminhado para a sala de coleta.

A coleta de sangue será realizada em condições assépticas sob a supervisão de médico ou enfermeiro, através de uma única punção venosa, em bolsas plásticas com sistema fechado e estéreis, destinadas especificamente para este fim (4).

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 também devem ser estáveis biológica, química e fisicamente em relação ao seu conteúdo durante o período de validade e não devem permitir a entrada de microrganismos (5).

Bolsas utilizadas na coleta de sangue conterão anticoagulantes nas quantidades prescritas e recomendadas pelos fabricantes das bolsas e em função do volume do sangue a ser coletado. A quantidade habitual de anticoagulante em uma bolsa de coleta é de 60 a 65 mL. Para esta quantidade de anticoagulante, o volume ideal de coleta de bolsas é 405 a 495 mL de sangue total (4).

As bolsas de coleta diferem quanto ao número de bolsas-satélite ou transferência acopladas à bolsa matriz que recebe o sangue total, diferenciando-se em bolsas duplas, triplas e quádruplas. Elas podem ser diferenciadas também quanto à disposição das bolsas-satélite em relação à matriz. Nesse caso, elas são chamadas de bolsas convencionais ou *top and bottom*. As bolsas convencionais são aquelas em que todas as suas bolsas-satélite ligam-se à bolsa matriz por sua parte superior, isto é, o segmento que liga as bolsas sempre sai da parte superior da bolsa matriz.

No caso das bolsas *top and bottom*, as bolsas-satélite ligam-se à matriz tanto pela parte superior (*top*) quanto pela inferior (*bottom*). Existem também bolsas de coleta que possuem filtros acoplados para remoção de leucócitos tanto do sangue total quanto de hemocomponentes (6).

Soluções anticoagulantes/preservadoras e soluções aditivas

Soluções anticoagulantes-preservadoras e soluções aditivas são utilizadas para a conservação dos produtos sanguíneos, pois impedem a coagulação e mantém a viabilidade das células do sangue durante o armazenamento. A depender da composição das soluções anticoagulantes-preservadoras, a data de validade do sangue total e concentrado de hemácias pode variar. O sangue total coletado em solução CPDA-1 (ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose e adenina) tem validade de 35 dias a partir da coleta, ao passo de 21 dias quando coletado em ACD (ácido cítrico, citrato de sódio, dextrose), CPD (ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato de sódio, dextrose) ou CP2D (citrato, fosfato e dextrose – dextrose). As soluções aditivas são utilizadas para aumentar a sobrevida e a possibilidade de armazenamento das hemácias por até 42 dias em 2º a 6º C. Um exemplo de solução aditiva é o SAG-M, composto por soro fisiológico, adenina, glicose e manitol (7).

Em qualquer tipo de conjunto, a solução anticoagulante fica na bolsa matriz que é onde o sangue total será coletado. Os diversos tipos de bolsas possuem entre 60 mL e 65 mL de anticoagulante e assim é possível coletar um volume de aproximadamente 450 mL de sangue total. As soluções aditivas podem estar em posições diferentes dependendo da configuração das bolsas e seu volume é de aproximadamente 100 mL.

Os constituintes das fórmulas dos anticoagulantes possuem funções diferentes, como diminuir o pH, ser fonte de energia ou ATP (trifosfato de adenosina) para as células e conservar a membrana das hemácias.

Produção de hemocomponentes

A bolsa de sangue total coletada, tecnicamente satisfatória, pode ser processada para a obtenção de um ou mais dos seguintes componentes: eritrocitários, plasmáticos e plaquetários (8).

De acordo com a Portaria Nº 158 de 04 de Fevereiro de 2016, os componentes que serão produzidos são:

Componentes Eritrocitários:

I - concentrado de hemácias (CH);

II - concentrado de hemácias lavadas;

III - concentrado de hemácias com camada leucoplaquetária removida;

IV - concentrado de hemácias desleucocitado;

V - concentrado de hemácias congeladas; e

VI - hemácias rejuvenescidas.

Componentes Plasmáticos:

I - plasma fresco congelado (PFC);

II - plasma comum (PC) - (plasma não fresco, plasma normal ou plasma simples);

III - plasma isento do crioprecipitado (PIC); e

IV - crioprecipitado (CRIO).

Componentes Plaquetários:

I - concentrado de plaquetas obtido de sangue total (CP)

II - concentrado de plaquetas obtido por aférese;

III - concentrado de plaquetas desleucocitados; e

IV - Pool de plaquetas

Os hemocomponentes podem passar por outros processos, como filtração (desleucocitação), irradiação, aliquotagem e lavagem. Já o plasma pode ser enviado para indústrias para que sejam produzidos os hemoderivados.

O sangue total é separado em camadas por um processo de centrifugação diferencial. A centrifugação deve ser refrigerada para evitar contaminação e proliferação microbiana, onde é possível definir a velocidade de sedimentação das células e estabelecer a ordem de separação das frações do sangue total.

O processo de fracionamento do sangue, além de possuir interação com outros processos, divide-se em várias etapas (6):

1. - recebimento, registro e pesagem do sangue total;
2. - descanso das bolsas;
3. - preparação das bolsas nas caçapas antes de realizar a centrifugação;
4. – centrifugação;
5. - extração das fases separadas na centrifugação;
6. - finalização do processamento e armazenamento dos hemocomponentes produzidos (estoque de bolsas não liberadas);
7. - liberação, rotulagem e armazenamento dos hemocomponentes.

Após as bolsas serem recebidas pelo setor de fracionamento, todas deverão ser pesadas e ter seu volume calculado. Para isso é preciso verificar o peso do conjunto de bolsas vazio usado na coleta, definindo assim a tara que será utilizada na balança para descontar o peso do plástico, o que possibilita o cálculo apenas do volume sanguíneo coletado. Assim é possível

definir se o volume está dentro dos limites adequados para a produção de cada hemocomponente, conforme a tabela a seguir (Tabela 1).

Tabela 1 - Peso/volume de sangue total (ST) coletado e a preparação de hemocomponentes

Volume do ST em mL	Hemocomponentes a serem produzido ou despejados
Abaixo de 300	Desprezar Sangue Total
300 a 404	Preparar CH e desprezar plasma
405 a 495	Preparar CH, PFC, CP, CRIO e PIC.
Acima de 495	Desprezar Sangue Total

Fonte: Ministério da Saúde, 2013. (6)

Centrifugação

Em função das diferentes densidades e tamanhos das células sanguíneas, o processo de centrifugação possibilita a separação do sangue total em camadas, sendo que as hemácias ficam depositadas no fundo da bolsa. Acima delas forma-se o *buffy coat* (camada leucoplaquetária), ou seja, uma camada de leucócitos e plaquetas. Acima do *buffy coat* fica a camada de plasma que contém plaquetas dispersas (7).

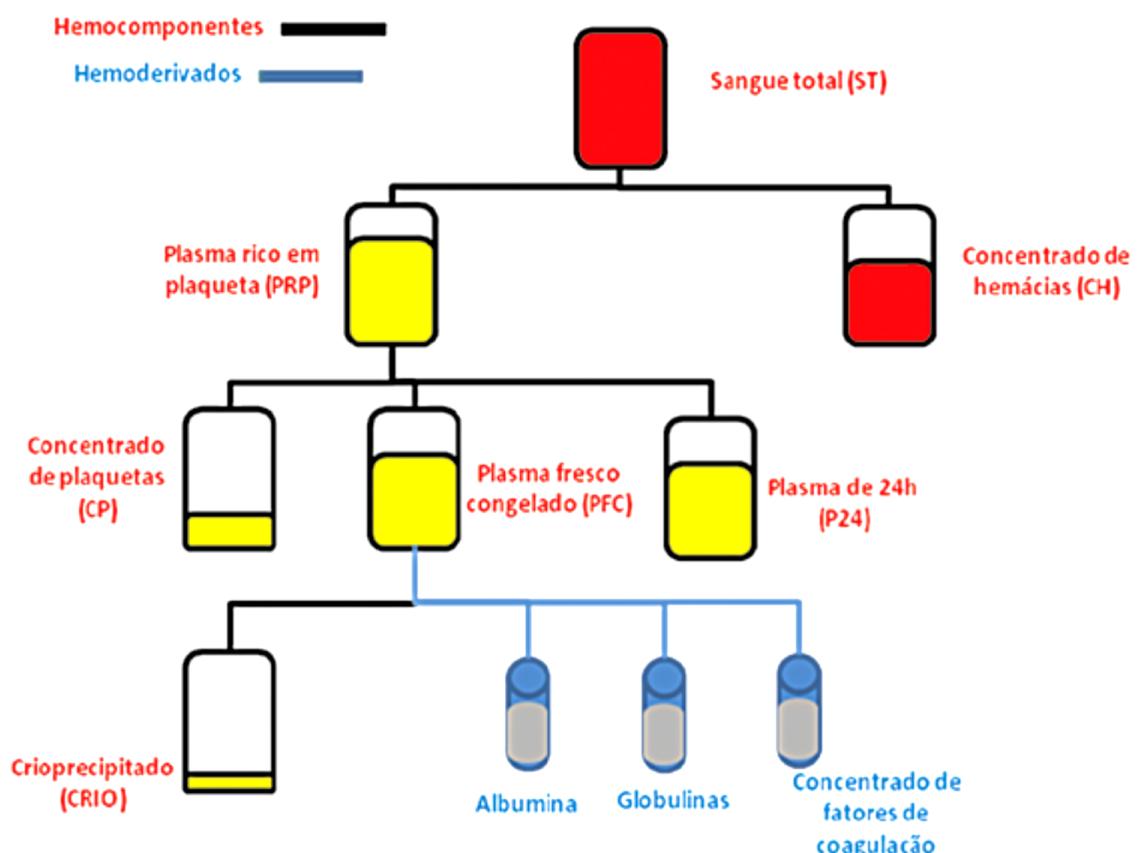
A primeira etapa na preparação dos hemocomponentes é a centrifugação primária do sangue total. Caso não se pretenda preparar concentrado de plaquetas, a unidade de sangue total poderá ser centrifugada em uma “centrifugação pesada” (usualmente 5.000X g por 7 minutos) em temperatura de 4°C, de acordo com a validação do serviço. A partir dessa centrifugação serão obtidas uma unidade de concentrado de hemácia e uma unidade de plasma, que será fresco ou não, conforme o intervalo de tempo da coleta ao processamento e ao congelamento completo do mesmo (6).

Para a extração de concentrado de hemácias, plasma e plaquetas, são utilizadas duas técnicas de centrifugação: técnica de PRP (plasma rico em plaquetas) ou a metodologia do *buffy coat*. A metodologia do PRP consiste em centrifugar o sangue total a temperatura de aproximadamente 20°C em uma “centrifugação leve” de 2.000 X g por 3 minutos, em conformidade com a validação do serviço, de forma que haverá a separação do sangue em duas fases: a superior, que é uma suspensão de plaquetas e plasma (PRP) e a outra que fica no

fundo da bolsa onde estão as hemácias e os leucócitos. Após a extração das fases, o concentrado de hemácias estará pronto e o PRP deverá ser centrifugado novamente, em temperatura de 20 +/- 2°C, desta vez, em uma “centrifugação pesada” (usualmente, 5.000 X g por 7 minutos), seguindo também a validação de cada serviço para que as plaquetas sejam sedimentadas e seja possível separar o plasma do concentrado de plaquetas deixando um volume de plasma (40 mL a 70 mL) no concentrado de plaquetas suficiente para manter o pH maior ou igual a 6,4 no último dia de armazenamento (6).

Todas as bolsas coletadas devem ser processadas de acordo com a legislação vigente, através de protocolos que minimizam a contaminação e proliferação bacteriana e também garantam que o produto final atenda as especificações de qualidade definidas pelo Ministério da Saúde, aumentando a segurança dos receptores. Os hemocomponentes e hemoderivados que poderão ser produzidos a partir da centrifugação de bolsa de sangue total são demonstrados na Figura 1, abaixo.

Figura 1. Produtos originados a partir do sangue total.



Fonte: Ministério da Saúde, 2015. (7)

Armazenamento

Depois da separação das fases, as bolsas poderão ser levadas para o armazenamento de hemocomponentes bloqueados para uso enquanto aguardam a liberação dos resultados dos testes sorológicos, moleculares e imuno-hematológicos.

O concentrado de hemácias (CH) deve ser armazenado em temperatura +2°C a +6°C. A estabilidade ou tempo de armazenamento do CH depende da solução anticoagulante/preservante. Quando coletado em bolsas contendo CPDA-1 o CH é estável por 35 dias enquanto que coletado em bolsas contendo CPD é estável por 21 dias. Na presença de soluções contendo aditivos, a estabilidade se estende para 42 dias (9).

Os concentrados de plaquetas devem ser conservados de 20°C a 24°C, sob agitação constante em agitador próprio para este fim. A validade é de 3 (três) a 5 (cinco) dias, dependendo do plastificante da bolsa de conservação (4).

A estabilidade do plasma fresco congelado (PFC) é dependente da temperatura e da velocidade do congelamento, bem como da temperatura de armazenamento. O tempo máximo para o congelamento da bolsa deve ser de 2 horas e durante o congelamento, a região interna central da unidade de plasma deve atingir a temperatura de – 30°C. A validade do PFC depende da temperatura de armazenamento (9):

- se armazenado em temperatura entre – 18°C e – 30°C, a validade é de 12 meses
- se armazenado em temperatura de – 30°C ou inferior, a validade é de 24 meses

O crioprecipitado (CRIO) tem validade a partir da data da doação (4):

- 12 meses, se armazenado em temperatura entre – 20° C e – 30°C
- 24 meses, se armazenado á temperatura de – 30 °C ou inferior.

Procedimentos Especiais em Hemocomponentes

Algumas situações na prática hemoterápica exigem cuidados adicionais na transfusão de hemocomponentes, entre eles irradiação, lavagem com solução salina e filtração:

I – Irradiação:

A irradiação de hemocomponentes é realizada para a prevenção da doença do enxerto versus hospedeiro transfusional (DECH – AT), complicações imunológicas usualmente fatais, causadas pela enxertia e expansão clonal dos linfócitos do doador em receptores suscetíveis. Com a finalidade de prevenir esta complicação, os componentes celulares (concentrado de hemácias e plaquetas) devem ser submetidos à irradiação gama na dose de, pelo menos, 2500cGy (25Gy), impossibilitando a multiplicação dos linfócitos (10).

II – Lavagem de hemácias:

Consiste em submeter uma unidade de concentrado de hemácias à lavagem com solução salina estéril, através de centrifugação, removendo quantidades significativas de restos celulares, potássio, plasma, plaquetas e leucócitos. É indicada para prevenção de reação alérgica a proteínas do plasma e pacientes portadores de deficiência de IgA (11).

III – Desleucocitação:

A desleucotização é um processo pelo qual é reduzido o número de leucócitos de um componente sanguíneo celular (hemácias e plaquetas). Uma unidade de sangue total contém cerca de $2 \text{ a } 3 \times 10^9$ leucócitos. O componente desleucotizado deve conter menos que 5×10^6 leucócitos.

A desleucotização está indicada para prevenção de complicações relacionadas à transfusão de hemocomponentes alogênicos devido à exposição do receptor aos leucócitos do doador. Entre elas incluem-se: reação transfusional febril não-hemolítica (RTFNH), aloimunização com refratariedade plaquetária e imunomodulação, assim como transmissão de agentes infecciosos como o citomegalovírus (CMV), o vírus Epstein-Barr (EBV) e o HTLV I/II (10).

Referências:

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Guia para uso de hemocomponentes. Brasília, DF, 2015.
2. HARMENING, D.M. Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão. Quarta Edição. Rio de Janeiro, RJ: Editora Revinter Ltda., 2006.

- 3.** Lei n. 10.205, de 21 de março de 2001. Regulamenta o parágrafo 4º do art. 199 da Constituição Federal, relativo à coleta, processamento, estocagem, distribuição e aplicação do sangue, seus componentes e derivados, estabelece o ordenamento institucional indispensável à execução adequada dessas atividades, e dá outras providências. Brasília, DF, mar 2001.
- 4.** Portaria n. 158, de 4 de Fevereiro de 2016. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Brasília, DF, fev 2016.
- 5.** Portaria n. 950, de 26 de Novembro de 1998. Aprova o regulamento técnico sobre bolsas plásticas para coleta e acondicionamento de sangue humano e seus componentes. Brasília, DF, nov 1998.
- 6.** MINISTÉRIO DA SAÚDE. Técnico em hemoterapia: livro texto. Ministério da Saúde, Secretaria de Gestão do Trabalho e da Educação na Saúde, Departamento de Gestão da Educação na Saúde. Primeira Edição. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2013.
- 7.** MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia para uso de hemocomponentes. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática. Segunda Edição, 1 reimpr. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2015.
- 8.** Portaria n. 1.353, de 13 de Junho de 2011. Aprova o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Brasília, DF, jun 2011.
- 9.** SAKUMA, A.; OTTOBONI, M.A.P.; SIERRA, P.C. Manual para controle da qualidade do sangue total e hemocomponentes. Primeira Edição. São Paulo, SP: Editora RedSang-SIBRATEC, 2011.
- 10.** FAMEMA (FACULDADE DE MEDICINA DE MARÍLIA). Manual de Condutas Hemoterápicas: Indicações e condutas médicas hemoterápicas. Marília, SP.
- 11-** PROIETTI, A.B.F.C.; CIOFFI, J.G.N.; DELGADO, R.B.; CARVALHO, R.V.F.; GIVISIEZ, F.N. Hemoterapia: Condutas para Prática Clínica. Primeira Edição, Belo Horizonte, MG: Rede Editora Gráfica Ltda., 2011