

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 par é 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 2° a 6° 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, alíquotagem 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 desprezados
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).

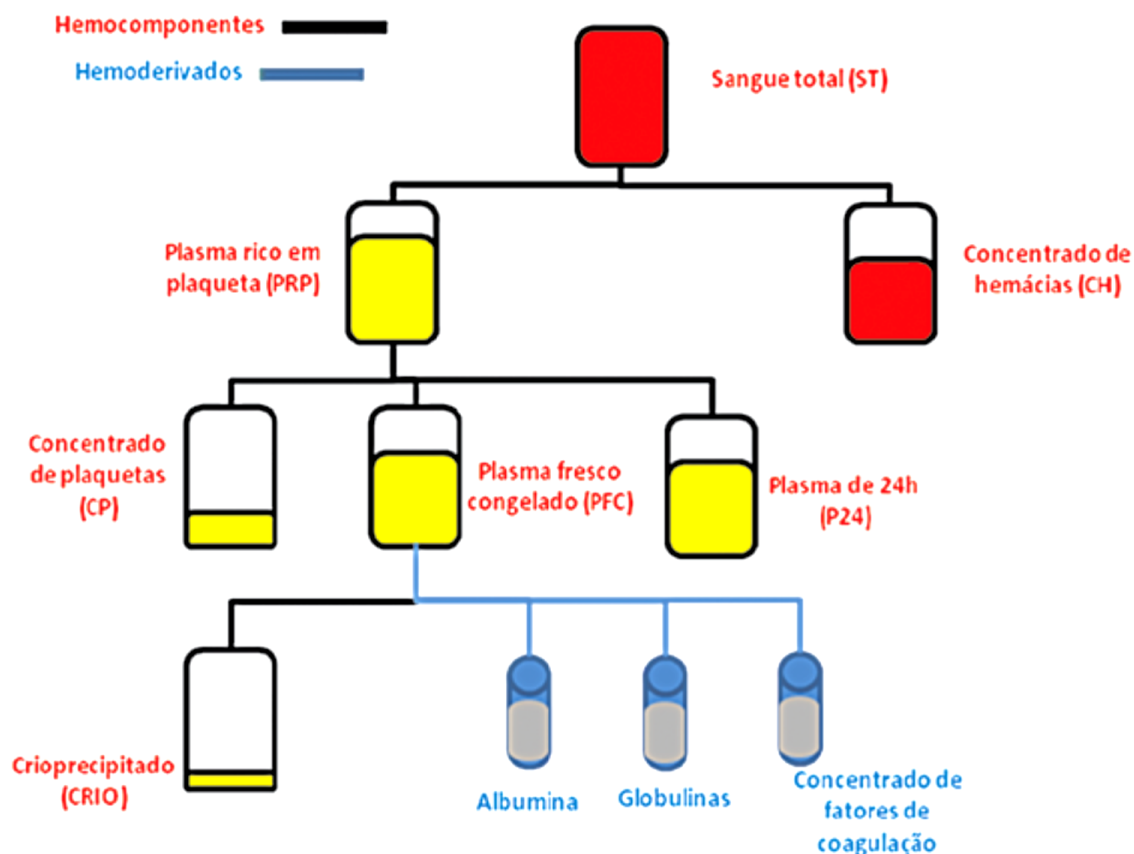
A primeira etapa na preparação dos hemocomponentes é a centrifugação primária do sangue total. Caso não se pretenda preparar concentrado de plaquetas, a unidade de sangue total poderá ser centrifugada em uma "centrifugação pesada" (usualmente 5.000X g por 7 minutos) em temperatura de 4°C, de acordo com 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.



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), complicação imunológica usualmente fatal, causada pela enxertia e expansão clonal dos linfócitos do doador em receptores susceptíveis. 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-Baar (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