

Viabilidade do concentrado de hemácias de cães separado em bolsas por sistema fechado e aberto.

Bianca Nunes Rodrigues¹, Ana Paula Massae Nakage Canesin^{1,2}

César Augusto Sangaletti Tercariol¹

¹ Centro Universitário Barão de Mauá

² Hemolabvet Laboratório de Patologia Clínica, Microbiologia e Hemocentro Veterinário

¹bianca_rodrigues_cdp@hotmail.com, ^{1, 2}apnkg@hotmail.com, ¹cesar.tercariol@baraodemaua.br

Resumo

O armazenamento do sangue em bolsas por longo período pode ocasionar hemólise e reduzir a qualidade do concentrado de hemácias. Além disso, cães receptores com baixo peso corpóreo precisa receber um volume menor do concentrado, sendo necessário alíquotar a bolsa coletada. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo analisar a viabilidade do concentrado de hemácias de cães em relação a taxa de hemólise nos métodos de coleta aberto e fechado.

Introdução

Ao longo dos anos os animais domésticos como cães e gatos estão se tornando parte da família. A medicina veterinária está avançando cada vez mais, com estudos que visam oferecer o melhor tratamento e qualidade de vida a esses animais. A transfusão sanguínea em cães e gatos representa uma opção terapêutica que pode ser realizada na tentativa de estabilizar o paciente. Há diversas indicações no tratamento paliativo de vários distúrbios circulatórios, sendo muito utilizados no auxílio do tratamento de pacientes com anemia em decorrência de insuficiência renal crônica, hemoparasitoses (erliquiose e babesiose) em cães e micoplasmose em gatos, anemias hemolíticas, neoplasias, hepatopatias e também realizadas durante cirurgias prolongadas e traumatizantes com grande perda de sangue, dentre outras enfermidades (MAIA; SOUSA; MARTINS, 2019).

O sangue é um tecido líquido composto de uma parte celular e outra líquida, que se separam por decantação. A porção líquida é chamada de plasma, e é obtida após centrifugação quando se colhe o sangue com anticoagulante (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

O sangue total colhido em bolsa simples (sem nenhuma bolsa-satélite) permite apenas um produto sanguíneo, o sangue total. Ao utilizar bolsas compostas (duplas, triplas ou quádruplas)

existe a possibilidade de produzir hemocomponentes (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

A terapia com o uso de hemocomponentes oferece aos animais criticamente enfermos o aumento na capacidade de transporte de oxigênio, melhora na homeostasia, correção da hipoproteïnemia e hipovolemia, além de reposição de imunidade passiva em neonatos que não receberam colostro (KRISTENSEN; FELDMAN, 1995).

Para o clínico veterinário, a existência de bancos de sangue veterinários é de suma importância e facilita a obtenção do sangue em situações emergenciais. Coleta e processamento do sangue em hemocomponentes são extensivamente trabalhosos e despendem grande parte de tempo e investimento financeiro. Contudo, para os clínicos que ocasionalmente necessitam do sangue e dos hemocomponentes, o conhecimento da prática transfusional garante maior segurança e qualidade ao serviço prestado aos pequenos animais (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

Existem três modalidades de coleta de sangue: o sistema aberto, o fechado e o semifechado. A modalidade fechada é o sistema de coleta sanguínea mais recomendado, pois os riscos de contaminação bacteriana são minimizados, em função da assepsia assegurada pelo sistema de bolsas plásticas próprias de coleta de sangue e separação de hemocomponentes. Ademais, esta modalidade de coleta possui o componente anticoagulante-conservante (CPDA-1) já incluso na bolsa coletora, (GIGER, 2010). O sangue é um excelente meio de cultura. Portanto, as regras de manutenção do sistema de forma fechada são essenciais e devem ser seguidas durante o processamento (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015). O sistema aberto de coleta apesar de ser simples e barato, oferece maior risco de contaminação aos receptores do sangue, pois não confere boa segurança microbiológica. A

modalidade semi-fechada é a mais utilizada quando se trata de transfusão sanguínea felina, devido à falta de um sistema fechado apropriado para as particularidades desta espécie animal. Este sistema também é bastante simples, sendo constituído por uma seringa, cateter borboleta, torneira de três vias e bolsa de coleta de sangue (DUTRA, 2018).

A doação de sangue deve ser um procedimento que, primeiramente, não prejudique o doador. A transfusão é indicada apenas para pacientes com risco de morte, portanto não se pode causar maiores danos aos receptores (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

O armazenamento do sangue em bolsas por longo período pode ocasionar hemólise e reduzir a qualidade do concentrado de hemácias. Além disso, cães receptores com baixo peso corpóreo, assim como gatos, precisa receber menor volume do concentrado de hemácias, sendo necessário alíquotar a bolsa coletada.

A hemólise é um importante parâmetro de qualidade dos concentrados de hemácias que é usado para avaliar a integridade celular de unidades de sangue armazenadas. De acordo com os padrões humanos, a hemólise no final do armazenamento não deve exceder 1%, caso contrário, pode ser responsável pela diminuição da eficácia da transfusão e reações agudas com risco de vida (FERREIRA et al., 2018). Concentrado de hemácias (CH) são os eritrócitos que permanecem na bolsa depois que esta é centrifugada e o plasma é extraído para uma bolsa-satélite. Ele também pode ser classificado, quanto ao tempo de estocagem, como fresco ou estocado (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

Além disso, a hemólise é um fator limitante para a vida das hemácias armazenadas, não apenas porque diminui significativamente a capacidade das hemácias de transportar e fornecer oxigênio aos tecidos hipóxicos, mas também porque pode ser responsável por reações transfusionais, comumente descritas como não imunomediadas. (FERREIRA et al., 2018).

Doenças hemolíticas, coleta e/ou manuseio inadequado das amostras, excesso de pressão na seringa ou no tubo, altas temperaturas, traumas durante a homogeneização ou centrifugação inadequada são as principais causas de hemólise (LIPPI et al., 2011).

A administração de amostras hemolisadas em cães pode levar a reações transfusionais descritas como não imunomediadas, levando a sinais clínicos semelhantes a uma reação hemolítica aguda, como febre, hemoglobinemia, hemoglobinúria, trombocitopenia, petéquias e equimose, melena, hematêmese e infiltrados associados à dispneia progressiva (PATTERSON et al. 2011).

A melhor maneira de prevenir reações de incompatibilidade sanguínea entre doadores e receptores é a tipagem. A tipagem sanguínea é comercialmente realizada em alguns países. Existem dois métodos mais utilizados para a tipagem em cães: uso de antissoros policlonais (teste de aglutinação em tubo) ou monoclonais. Antissoros monoclonais são anticorpos produzidos por um clone de linfócitos B diferenciados em plasmócitos, que reconhecem um epítipo específico de determinado antígeno (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

O risco de reações transfusionais hemolíticas agudas e tardias pode ser praticamente anulado se forem realizados os testes para tipagem sanguínea junto do teste de compatibilidade (reação cruzada) em todas as transfusões, e respeitando as temperaturas in vitro do teste. (SOUZA; STOPIGLIA; GOMES; ULATA; MOROZ; FANTONI, 2014).

Objetivos

Diante disso, o presente estudo tem como objetivo analisar a viabilidade do concentrado de hemácias de cães em relação a taxa de hemólise, nos métodos de separação aberto e fechado.

Materiais e Métodos

Um dos primeiros fatores a ser considerado para a coleta do sangue é a escolha dos doadores. Os cuidados a serem tomados na escolha dos cães são de crucial importância para a segurança dos próprios doadores, bem como dos animais que serão transfundidos com o sangue coletado (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015). Foram selecionados dez cães dóceis com 1 a 8 anos de idade, pesando acima de 23 kg, que foram submetidos à avaliação clínica e laboratorial para serem considerados sadios. A avaliação clínica dos animais doadores deve ser realizada impreterivelmente. Os cães doadores devem estar bem nutridos, livres de ectoparasitas (ixodidiose, pulicose), e com vermifugação e vacinações atualizadas (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

As fêmeas gestantes, acasaladas e em amamentação também devem ser poupadas da doação. Nestes casos existe grande gasto metabólico por parte da fêmea, que é direcionado ao crescimento dos fetos, com conseqüente queda nos valores do hematócrito e alterações na pressão arterial.

Foi realizada punção da veia jugular dos cães selecionados, sem sedação em decúbito lateral. 500 uL do sangue coletado foi armazenado na bolsa principal contendo CPDA-1 associada a bolsa satélite. Em seguida, a bolsa com sangue total foi centrifugada para obtenção do concentrado de hemácias que foi separado em

sistema fechado para bolsa satélite (grupo 1) e em sistema aberto para outra bolsa (grupo 2).

Foram realizadas análises laboratoriais, tais como, taxa de hematócrito, taxa de hemoglobina total, taxa de hemoglobina no plasma, taxa de hemólise e morfologia celular nos seguintes momentos: logo após a coleta (D0), quatorze dias após a coleta (D14) e trinta e cinco dias após a coleta (D35).

Em cada momento de avaliação foi retirado 2 mL de sangue das bolsas dos grupos 1 e 2 para realização das análises.

A análise morfológica foi realizada no esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido (Laborclin). O hematócrito foi determinado com o auxílio do analisador hematológico (poch-100iV Diff). A hemoglobina total foi determinada em 10 µL da amostra de sangue de cada grupo diluído em 2,5 mL do reagente da hemoglobina (Drabkin – Labtest®), onde após cinco minutos as amostras foram analisadas através da reação colorimétrica de ponto final no analisador bioquímico semiautomático (BIO-200). Em seguida, as amostras foram centrifugadas (Centerbio 80 2b) por 3 minutos a 3500 rpm para obtenção do plasma. Foram pipetados 10 µL de plasma e 2,5 mL do reagente da hemoglobina. Após cinco minutos, foi obtida a concentração da hemoglobina do plasma no analisador bioquímico. Desta forma a taxa de hemólise foi determinada utilizando os valores obtidos, através do cálculo da fórmula:

$$\text{Taxa de hemólise} = (100 - Ht) \times \frac{Hb \text{ plasma}}{Hb \text{ total}} \quad (1)$$

Após a coleta de todos os dados, a análise estatística foi realizada através do cálculo da média e do erro-padrão da taxa de hemólise para cada grupo, em cada instante. Para comparar as médias entre os grupos, foi aplicado o teste estatístico paramétrico T-Student pareado bilateral. Para comparar as médias entre os instantes, foi aplicado o teste estatístico paramétrico ANOVA de uma via, com posterior teste de Tukey.

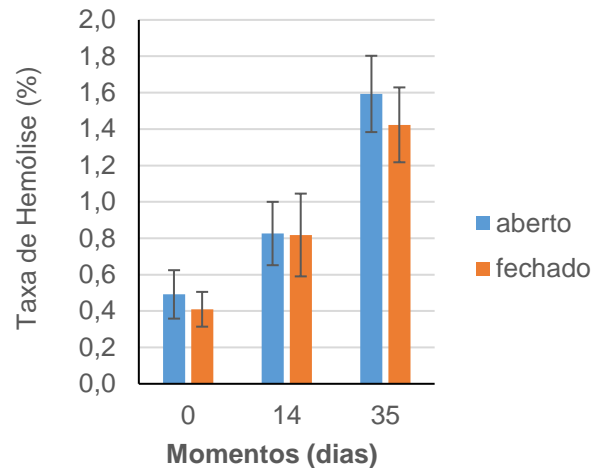
Resultados e Discussão

As taxas de hemólises dos grupos nos diferentes momentos de coleta estão apresentadas na Tabela 1 e Figura 1.

Tabela 1 - Valores médios e desvios-padrão da taxa de hemólise dos grupos 1 e 2 nos diferentes momentos de avaliação (D0, D14 e D35).

Momento	G1(fechado)	G2 (aberto)
D0	0,41 ± 0,09	0,49 ± 0,13
D14	0,82 ± 0,22	0,82 ± 0,17
D35	1,42 ± 0,20	1,59 ± 0,21

Figura 1 - Valores médios e desvios-padrão da taxa de hemólise dos grupos 1 e 2 nos diferentes momentos de avaliação (D0, D14 e D35).



A Tabela 1 e Figura 1 apresentam as médias e desvios-padrão da taxa de hemólise de cada grupo, nos diferentes momentos de avaliação, sendo possível observar diferença discreta ao comparar os dois grupos.

Ao analisar cada grupo nos diferentes momentos de avaliação, verifica-se diferença significativa, aumentando a taxa de hemólise no decorrer do tempo de armazenamento.

Apesar das taxas de hemólise dos CH dos G1 e G2 não terem diferença estatisticamente significativa, verifica-se maior hemólise nos CH separados por sistema aberto (G2). Portanto, o ideal é que as bolsas sejam alíquotadas pelo sistema fechado (GIGER, 2010).

Ao analisar a taxa de hemólise nos diferentes momentos dentro de cada grupo, foi possível observar diferença significativa no G1 entre os momentos D0 e D35. No G2, houve diferença entre os momentos D0 e D35, e entre D14 e D35.

Portanto, a separação do CH pelo sistema aberto promoveu elevação na taxa de hemólise no decorrer do tempo de armazenamento. Tal fato pode ter ocorrido devido fatores no momento da coleta, como dificuldade da punção venosa, estase do fluxo sanguíneo, agitação do doador, entre outros problemas pré-analíticos. Corroborando com outros estudos, as amostras hemolisadas são uma ocorrência comum na prática laboratorial, embora tenha diminuído nos últimos anos devido a tecnologia e avanços na medicina transfusional. Assim como relatado por MARCHI et al. (2019), a hemólise verificada nos concentrados de hemácias se elevou conforme o tempo de estocagem.

Os valores de hemólise verificados no D35 do G1 (1,41) e G2 (1,59) estão acima da taxa máxima de 1% indicada nos padrões humanos podendo reduzir a eficácia da transfusão sanguínea e maior

risco de reações transfusionais (FERREIRA et al., 2018). Assim, o prazo de armazenamento ideal é menor do que 35 dias. Esses achados mostram a importância de um programa de controle de qualidade para avaliar a hemólise em amostras armazenadas por mais de 35 dias.

Rodrigues et al. (2020) verificaram o impacto da estocagem do concentrado de hemácias na qualidade de vida dos cães receptores. Apesar das alterações hematológicas, gasosas e bioquímicas dos CH caninos durante o armazenamento, relataram que a transfusão de CH estocado por até 21 dias elevou o hematócrito sem prejudicar os cães.

Conclusão

A taxa de hemólise é um fator de viabilidade dos hemocomponentes. A hemólise do concentrado de hemácias dos cães com separação aberta foi discretamente maior do que a fechada. Ao analisar cada grupo concluiu-se que, a separação do concentrado de hemácias pelo sistema aberto promoveu elevação crescente estatisticamente significativa na taxa de hemólise no decorrer do tempo de armazenamento, confirmando que o alto tempo de estocagem prejudica a qualidade do hemocomponente. No entanto, maiores estudos são necessários para determinar outros fatores que influenciem a hemólise durante o armazenamento, além do período em que estas amostras sanguíneas ficam armazenadas.

Referências

BARFIELD, Dominic; ADAMANTOS, Sophie. Feline Blood Transfusions. *Journal Of Feline Medicine And Surgery*, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 11-23, jan. 2011. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2010.11.006>.

DUTRA, Fernando Odilon. **TRANSFUSÃO SANGUÍNEA EM FELINOS DOMÉSTICOS: REVISÃO DE LITERATURA**. 2018. 43 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns - Pe, 2018.

FERREIRA, Rui R. F.; GRAÇA, Rita M. C.; CARDOSO, Inês M.; GOPEGUI, Rafael R.; MATOS, Augusto J. F. de. In vitro hemolysis of stored units of canine packed red blood cells. *Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care*, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 512-517, 9 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/vec.12770>.

JERICÓ, Márcia Marques; ANDRADE NETO, João Pedro de; KOGIKA, Márcia Mery. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2015. 7047 p.

KRISTENSEN, A. T.; FELDMAN, B. F. Bancos de sangue e medicina transfusional. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4ª edição. Philadelphia: WB Saunders, cap. 64, p. 497 –517, 1995.

LIPPI, Giuseppe *et al.* Hemolyzed specimens: a major challenge for emergency departments and clinical laboratories. *Critical Reviews In Clinical Laboratory Sciences*, [S.L.], v. 48, n. 3, p. 143-153, jun. 2011. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/10408363.2011.600228>.

MAIA, Julianna; SOUSA, André Vieira; MARTINS, Raquel Reis. transfusão de cães e gatos. Importância dos cuidados de enfermagem na **Ciência Veterinária Unifil**, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 66-68, mar. 2019. ISSN 2595-7791. Disponível em: <<http://periodicos.unifil.br/index.php/revista-vet/article/view/985>>. Acesso em: 13 jan. 2022.

MARCHI, M.N.A. Controle de qualidade nas diferentes etapas de produção de concentrado de hemácias de cães. **Arq. Sutiás. Med. Veterinário**. Zootec, Londrina, v.71, n.1, p. 83-101, 2019.

Patterson J, Rousseau A, Kessler RJ, Giger U. In vitro lysis and acute transfusion reactions with hemolysis caused by inappropriate storage of canine red blood cell products. *J Vet Intern Med*. 2011 Jul-Aug;25:927-933. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.0737.x. Epub 2011 May 25. PMID: 21615499; PMCID: PMC3398422.

RODRIGUES, Renata R.; KAYANO, Caroline Y.; SANTOS, Vinícius P.; MOROZ, Ludmila R.; FANTONI, Denise T.; AMBRÓSIO, Aline M. Evaluation of hematologic, biochemical, and blood gas variables in stored canine packed red blood cells, and the impact of storage time on blood recipients. *Veterinary Clinical Pathology*, [S.L.], v. 49, n. 2, p. 198-206, jun. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/vcp.12865>.

SOUZA, Samantha Leite de; STOPIGLIA, Angelo João; GOMES, Simone Gonçalves Rodrigues; ULATA, Silvia Kana; MOROZ, Ludmila Rodrigues; FANTONI, Denise Tabacchi. Estudo da frequência dos antígenos eritrocitários caninos 1, 1.1 e 7 e risco de transfusão incompatível em cães de diferentes raças e mestiços da região metropolitana da cidade de São Paulo-SP, Brasil. *Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science*, [S.L.], v. 51, n. 4, p. 316, 31 dez. 2014. Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA). <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v51i4p316-323>.