

Viabilidade plaquetária em bolsas de sangue total fresco de cães.

Gracielle Garbin¹, Ana Paula Massae Nakage Canesin²

^{1,2}Centro Universitário Barão de Mauá

¹gragarbin81@hotmail.com, *Medicina Veterinária*, ²anapaula.nakage@baraodemaua.br

Resumo

Em bolsas de sangue total é comum que lesões de armazenamento modifiquem as estruturas das células que compõem o sangue, por isso, emprega-se soluções anticoagulantes-preservadoras e aditivas nas bolsas de sangue para a conservação dos hemocomponentes. O presente estudo teve como objetivo determinar a viabilidade de plaquetas em bolsas de sangue total fresco por até seis horas após a coleta do sangue de cães doadores.

Introdução

Na medicina veterinária, houve um progresso no número de bancos de sangue pelo mundo, e com isso maior cuidado com a qualidade dos produtos sanguíneos, embora ainda não haja nenhum guia com protocolos de controle de qualidade bem estabelecidos (MARCHI et al., 2015). Diferentemente dos bancos de sangue humano, na Medicina Veterinária, não existem parâmetros de qualidade bem estabelecidos no sangue total ou concentrado de hemácias (NAKAGE CANESIN et al., 2018).

Por mais que a hemoterapia esteja em evolução, ainda existem obstáculos em bancos de sangue veterinários como a pouca demanda e métodos de preservação de bolsas de sangue, considerando a validade e sem que altere indicadores bioquímicos e morfológicos (VIANA; SOUZA; LISBÔA, 2012). Zubair (2010) acredita que é tangível que essas alterações, também chamadas de lesões de armazenamento, ocorram gradativamente de acordo com a duração da estocagem e estejam relacionadas ao aumento da mortalidade e morbidade em humanos.

As lesões de armazenamento são consequências de vários fatores, um deles é acidificação do sangue, ou seja, diminuição do pH durante a estocagem (LASTA, 2016). Em bolsas de sangue total é comum que fatores ambientais, físicos e bioquímicos modifiquem as estruturas das células que compõem o fluido sanguíneo. Devido a isso, dominar os mecanismos de lesões de armazenamento de plaquetas serviria como base para futuras pesquisas visando o desenvolvimento de estratégias para garantir a viabilidade de plaquetas (LASTA et al., 2020).

É inegável destacar a magnitude de realizar testes na fase pré-transfusional como a tipagem sanguínea e/ou reação cruzada envolvendo o sangue do doador e do receptor, já que anticorpos contra antígenos eritrocitários possam ser produzidos diante a exposição no receptor (PRADO, 2011). Ainda, Marchi et al (2015) relevam que médicos veterinários devem garantir a qualidade do sangue total e seus componentes considerando a partir da escolha dos doadores, testes de triagem, fatores que assegurem seu estado de saúde até a forma de armazenamento. Além disso, julgar esterilidade microbiológica é crucial, já que é uma condição a ser considerada para o tempo de estocagem e um fator de risco ao receptor (COSTA, 2011).

O sangue total é considerado fresco em quatro a seis horas após a colheita, ou armazenado em até 35 ou 42 dias, dependendo da adição ou não de soluções preservativas (MARTINS, 2011). Já as plaquetas, sabe-se que não sobrevivem sob o método de conservação de refrigeração, por isso, estima-se que sejam viáveis em até seis horas após a coleta. Devido a terapia transfusional ser frequente na rotina de clínicas veterinárias, é essencial determinar a validade das bolsas de sangue, sejam elas de sangue total fresco ou produtos originados a partir do sangue total, como o concentrado de hemácias.

De acordo com o estudo de Tsuchiya et al. (2003) estima-se que as soluções anticoagulantes e conservantes como Citrato Fosfato Dextrose Adenina (CPDA-1) possuam um limite de tempo de armazenamento em relação às plaquetas, que é de pelo menos oito horas em temperatura ambiente. As soluções adicionadas nas bolsas de sangue, como o CPDA-1, têm o propósito de conservação dos hemocomponentes pois evitam a coagulação e condicionam as células sanguíneas; todavia conferem validade de 35 dias a partir da coleta ao armazenamento para bolsas de sangue total (PRADO, 2011). Contudo, deve-se respeitar a proporção sangue:anticoagulante, pois, o citrato possui aptidão por quelar cálcio podendo haver como consequência uma hipocalcemia (MORAES; WOLKMER; SIQUEIRA, 2016).

Os produtos elaborados nos serviços de hemoterapia por meio de processos físicos como a centrifugação e congelamento são designados hemocomponentes (PRADO, 2011). As bolsas de sangue total fresco são constituídas de eritrócitos,

leucócitos, plaquetas, fatores de coagulação e proteínas plasmáticas. É plausível que a viabilidade plaquetária no sangue total seja afetada por leucócitos e por isso, diminui mais rapidamente do que em concentrado de plaqueta (CP) ou em plasma rico em plaqueta (PRP) (TSUCHIYA et al., 2003).

Os concentrados de plaquetas possuem um volume reduzido, cerca de 50 a 70mL, e uma concentração maior de plaquetas em confronto com o sangue total ou com outros hemocomponentes, permitindo mais vantagens para o paciente transfundido (COSTA, 2011). Porém, assim como o sangue total, o CP possui uma validade e segurança restrita devido ao desencadeamento de lesões de armazenamento de plaquetas e risco de contaminação bacteriana (NG; TUNG; FRASER, 2018). Apesar de que existam poucas recomendações clínicas para a utilização de sangue total fresco, pode ser oportuno no tratamento de cães anêmicos e com sangramento ativo em virtude de trombocitopenia e/ou trombocitopatia (CALLAN; APPLEMAN; SACHAIS, 2009), visto que a função principal das plaquetas é coparticipar do processo de hemostasia (LASTA, 2016).

Objetivos

O presente estudo tem como objetivo, determinar a viabilidade de plaquetas em bolsas de sangue total até seis horas após a coleta do sangue de cães doadores.

Materiais e métodos

A pesquisa foi aprovada pela Comitê de Ética em pesquisa animal (CEPan) sob o Nº 407/20 e pelo Conselho do Comitê de Ética em Pesquisa e experimentação Animal CEUA-CEPan-B.M. Foram selecionados quinze cães hígidos provindo de tutores particulares, com temperamento dócil, entre um a oito anos, com peso acima de 23 kg previamente selecionados no Hemocentro Veterinário "Hemolabvet" de Ribeirão Preto – SP. A coleta do material analisado em pesquisa, foi realizada através da venopunção do sangue periférico da veia jugular externa devido ao maior calibre e menor tempo na coleta, o que também foi facilitada devido ao temperamento dos animais escolhidos. O sangue total dos doadores foi coletado em bolsas de sangue contendo o anticoagulante CPDA-1, sendo a quantidade de anticoagulante proporcional à de sangue para evitar a hemodiluição. Para realização das análises, foi obtida uma amostra de cada bolsa de sangue total fresco para quantificação das células sanguíneas no contador automático de células veterinário (Poch Roche).

No presente estudo, enfatiza-se as plaquetas, que para a seleção dos cães doadores foi realizada a contagem prévia no sangue para determinar a viabilidade através dos valores de referência para posteriormente ser armazenado e transfundido. Uma alíquota de sangue da bolsa total (3mL) refrigerada a 6°C foi submetida à contagem de plaquetas no contador automático de células. Os momentos de avaliação foram logo após a coleta (S0), duas horas após a coleta (S2), quatro horas após a coleta (S4) e seis horas após a coleta (S6). Após coleta dos dados, foi realizada análise estatística utilizando a análise de variância (ANOVA) e o teste t-Student para comparar os valores de plaquetas das bolsas de sangue de cães nos diferentes momentos de avaliação para julgar a taxa de sobrevivência plaquetária. A análise dos dados foi realizada com teste paramétrico Friedman e teste de comparação múltipla de Dunn. Verificou-se que não houve diferença estatística na contagem plaquetária nos diferentes momentos de avaliação.

Resultados e discussão

Apesar da utilização dos hemocomponentes ser mais indicada do que a transfusão do sangue total, diante da dificuldade na obtenção de concentrado de plaquetas, a reposição plaquetária pode ser realizada com bolsas de sangue total. Costa (2011) considera a hemoterapia com sangue total fresco ou concentrado de plaquetas (CP) para pacientes trombocitopênicos ou áqueles portadores de trombocitopatias, onde julga-se a validade do CP de até sete dias após a estocagem. A autora citada anteriormente ainda ressalva em seu estudo que houve redução significativa na contagem de plaquetas ao decorrer da estocagem de CP e observa que em até cinco dias pode manter uma qualidade eficaz.

Verificou-se no estudo que, a contagem plaquetária permaneceu constante e viável desde o início até seis horas após a coleta do sangue (veja Tabela 1 e Figura 1). Corroborando com o relato de Haines, Hwang e Wardrop (2020), a contagem e o índice de plaquetas sofrem mudanças ao decorrer de ativação, agregação, alteração na morfologia e perdas decorrentes de lesões de armazenamento após seis horas da coleta.

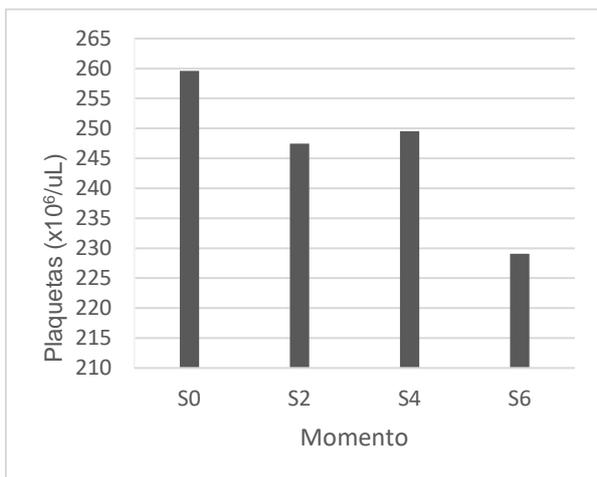
Tabela 1 - Valores médios do número de plaquetas nas bolsas de sangue total fresco de cães, nos diferentes momentos de avaliação.

Momento	Média e desvio-padrão (plaquetas/uL)*
S0	259.600±15.966 a
S2	247.466±15.371 a
S4	249.533±23.057 a
S6	229.066 ± 12.799 a

Fonte: Dados de pesquisa, 2020.

*letras minúsculas indicam que não houve diferença estatística nos diferentes momentos da avaliação plaquetária.

Figura 1 - Variações entre os momentos de avaliação, observa-se uma diferença mais significativa entre o momento da coleta e seis horas após.



Fonte: Dados de pesquisa, 2020.

Conclusão

Verificou-se nesse estudo que não houve diferença estatisticamente significativa na contagem de plaquetas das bolsas de sangue total fresco com CPDA-1 desde a coleta até seis horas após a análise da primeira coleta, sendo que as plaquetas continuam viáveis para reposição plaquetária no receptor.

Referências

CALLAN, M. B.; APPLEMAN, E. H.; SACHAIS, B. S.. Canine platelet transfusions. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 401-415, out. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00454.x>.

COSTA, C. C. M. R. **Influência das alterações físicas e químicas sobre a função plaquetária e**

a expressão de GPIIb/IIIa em concentrados de plaquetas caninos em estocados. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2011.

HAINES, J. M.; HWANG, J.K.; WARDROP, K.J. The effects of additive solutions on the development of storage lesions in stored canine platelet concentrates. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, [S.L.], p. 1-9, 11 dez. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/vec.13031>.

LASTA, C.S. **Padronização de técnicas bioquímicas para avaliação de concentrado de plaquetas canino.** 2016. 187 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Ufrgs, Porto Alegre, 2016.

LASTA, C.S., HLAVAC, N., MARCONDES, N.A. et al. Quality control in veterinary blood banks: evaluation of canine platelet concentrates stored for five days. **BMC Vet Res** 16, 25 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12917-020-2254-5>.

MARCHI, M.N.A. de et al. Controle de qualidade de bolsas de sangue total e concentrado de hemácias de cães. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 131-141, abr. 2015.

MARTINS, S.B. **Medicina transfusional em cães e gatos: colheita, processamento e armazenamento de sangue total e hemocomponentes.** 2011. 47 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

MORAES, B. T.; WOLKMER, P.; SIQUEIRA, L. Importância da transfusão sanguínea em cães e lesões de armazenamento do sangue. In: XX SEMINÁRIO INTERINSTITUCIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2016, [S.I.]. **Iniciação Científica**. [S.I.]: Universidade de Cruz Alta, 2016. p. 1-5.

NAKAGE CANESIN, A.P.M et al. Avaliação laboratorial das bolsas estocadas de sangue total e concentrado de hemácias de cães. XII Encontro de Iniciação Científica do Centro Universitário "Barão de Mauá", 2018.

NG, M. S. Y.; TUNG, J.P.; FRASER, J.F. Platelet Storage Lesions: what more do we know now?. **Transfusion Medicine Reviews**, [S.L.], v. 32, n. 3, p. 144-154, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmr.2018.04.001>.

PRADO, G.C.P. TERAPIA TRANSFUSIONAL EM PEQUENOS ANIMAIS. 2011. 27 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade "júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2011. Cap. 14. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/120654/prado_gcp_tcc_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 21 abr. 2020.

TSUCHIYA, R. et al. Aggregability and Post-Transfusion Survival of Canine Platelets in Stored Whole Blood. **Journal Of Veterinary Medical Science**. Japão, p. 825-829. abr. 2003.

VIANA, S.S.; SOUZA, F.S.; LISBÔA, R.S. Uso da hemoterapia em cães na cidade de Manaus, AM. **Pubvet**, Londrina, v. 6, n. 8, p. 1307-1312, mar. 2012. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/3218/uso-da-hemoterapia-em-catildees-na-cidade-de-manaus-am>. Acesso em: 21 mar. 2021.

ZUBAIR, A. C.. Clinical impact of blood storage lesions. **American Journal Of Hematolog**. Florida, p. 117-122. nov. 2010.