

## **AVALIAÇÃO DE SANGUE TOTAL OVINO ARMAZENADO EM BOLSAS DE SANGUE (CPDA-1) MANTIDO SOB REFRIGERAÇÃO.**

Rejane dos Santos Sousa<sup>1</sup>, Raimundo Alves Barrêto Junior<sup>1\*</sup>, Isadora Karolina Freitas de Sousa<sup>1</sup>, Dowglish Ferreira Chaves<sup>1</sup>, Herbert Sousa Soares<sup>1</sup>, Isabella de Oliveira Barros<sup>1</sup>, Antonio Humberto Hamad Minervino<sup>2</sup>, Enrico Lippi Ortolani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA.  
Rodovia BR 110, Km 47, S/N, Costa e Silva, 59625-900, Mossoró, RN.  
E-mail: barreto@ufersa.edu.br (autor correspondente)

<sup>2</sup>Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ - USP

**PALAVRAS-CHAVE:** Conservação, hematologia, transfusão.

### **ABSTRACT**

#### **EVALUATION OF TOTAL SHEEP BLOOD IN RECIPIENTS OF SCHOLARSHIPS FOR CPDA-1 BLOOD STORED UNDER REFRIGERATION**

This study evaluates hematological, blood gas, and biochemical changes in stored CPDA-1 blood from 7 healthy adult sheep. Venous blood was collected from jugular vein and stored in CPDA-1 bags at 4 to 6 °C for 35 days. These samples were taken from the bags after different storage times: D0 (immediately after collection), D5, D7, D14, D21 and D35 (5, 7, 14, 21, and 35 days after collection, respectively). Blood serum analysis revealed globular volume, number of erythrocytes and leukocytes, and level of hemoglobin, blood pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, bicarbonate, lactate, sodium, potassium, plasma glucose, and total proteins. The stored blood presented satisfactory conditions until D14, with few alterations in the analyzed parameters. Hemolysis was detected and was more intense in D21 and D35, in which the number of erythrocytes was reduced and plasma hemoglobin increased. Evidence was found of haematological, biochemical, and blood gas changes in the blood stored in CPDA-1 bags, although they did not affect the blood's therapeutic uses.

**KEYWORDS:** Conservation, hematology, transfusion

## INTRODUÇÃO

Nos traumas, nas anemias graves ou em grandes cirurgias onde ocorre perda sangüínea aguda, a função de oxigenação do sangue é a mais relevante, sendo o principal indicador do momento decisivo em que a reposição volêmica deve ser realizada com sangue ou seus hemocomponentes (CAVALCANTI et al., 2006). Dessa forma a transfusão sangüínea surge como uma prática terapêutica que consiste em injetar sangue total ou seus subprodutos a um paciente que tenha sofrido de grande perda ou que esteja afetado por uma doença no seu próprio sangue (LACERDA, 2005).

O sangue total colhido com CPDA-1 (citrato, fosfato, dextrose e adenina) e armazenado à temperatura de 1°C a 6°C, pode ser estocado na espécie eqüina por 21 a 28 dias (LOPES et al., 1995), na espécie canina e bovina por 35 dias (RIBEIRO FILHO et al., 1994; COSTA JUNIOR, 2006). Porém, não existem relatos na literatura sobre o tempo de estocagem de sangue, alterações hematológicas, hemogasômetricas e bioquímicas decorrentes do armazenamento de sangue em bolsas de CPDA-1 na espécie ovina.

Considerando a importância da criação de ovinos para as várias regiões do país, associado às perdas econômicas causadas pela mortalidade do rebanho proveniente dos processos que levam a perdas sangüíneas e a inexistência de estudos direcionados à conservação do sangue ovino para transfusão, este trabalho objetivou avaliar e quantificar as alterações hematológicas, bioquímicas e hemogasômetricas decorrentes do processo de conservação do sangue total ovino armazenado em bolsas CPDA-1 por 35 dias a temperatura de 4°C a 6°C.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste estudo foram utilizados sete ovinos machos hígdos, pesando em média 30 Kg, com aproximadamente 8 meses de idade. Os animais foram mantidos em baias coletivas, onde foram alimentados com volumoso, concentrado e suplementados com sal mineral. Todos os animais foram desverminados e passaram por um período de 30 dias de adaptação às novas condições de manejo. Os ovinos apresentavam volume globular variando entre 30% e 45%.

No início do experimento foram coletadas amostras de sangue total por meio de venipunctura da jugular externa, sendo armazenado nas bolsas contendo CPDA-1. Foi

coletado de cada animal 15 mL de sangue por kg de peso vivo. As bolsas foram armazenadas em geladeira com temperatura variando entre 4°C e 6°C por 35 dias.

A avaliação laboratorial do sangue total coletado e armazenado foi realizada em seis momentos diferentes: D0 (imediatamente após a coleta), D5, D7, D14, D21 e D35 (cinco, sete, quatorze, vinte e um e trinta e cinco dias após a coleta, respectivamente). As análises realizadas foram: determinação do volume globular por microhematócrito; contagem de hemácias e leucócitos por técnica manual em câmara de Neubauer; concentração plasmática de hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina com leitura em espectrofotômetro a 540nm; as mensurações do pH, da pressão parcial de O<sub>2</sub>, pressão parcial de CO<sub>2</sub>, bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), lactato e sódio foram realizados através de aparelho de hemogasometria; análise de potássio por automação em analisador bioquímico automático; proteínas totais por refratometria; glicose plasmática por método enzimático em analisador bioquímico automático.

A análise estatística dos dados foi processada através de software estatístico MINITAB utilizando o teste T pareado, sendo adotado um grau de significância mínimo de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Avaliação hematológica

Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) para o volume globular entre os tempos experimentais em relação ao D0, enquanto para o volume corpuscular médio (VCM) observou-se aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no D21 e D35. Conforme Valeri (1974) variações no volume das hemácias durante a preservação em bolsas deve-se principalmente à falência da bomba de sódio e potássio, ao acúmulo de substâncias osmóticas e à perda progressiva da área de superfície.

Quantitativamente o número de hemácias permaneceu estável até o D14 ( $8,2 \times 10^{12} \mu\text{L}$ ), nos tempos posteriores D21 ( $6,91 \times 10^{12} \mu\text{L}$ ) e D35 ( $5,5 \times 10^{12} \mu\text{L}$ ) ocorreu declínio ( $p < 0,01$ ) com relação ao D0. Sendo observado que neste dias o plasma apresentou uma coloração avermelhada sugerindo hemólise. Em ovinos o número de hemácias varia entre  $8-18 \times 10^6$  (RADOSTITS et al., 2002). Dessa forma até o D14, as bolsas mantiveram o número de hemácias satisfatório.

Para o número de leucócitos durante o experimento observou-se diferença estatística dentre as médias do D0 ( $6,92 \times 10^8 \mu\text{L}$ ) relacionado com D5 ( $4,37 \times 10^8 \mu\text{L}$ )

( $p < 0,05$ ). Mesmo sem diferença estatística significativa com relação ao D0, ocorreu o decréscimo da contagem de leucócitos a partir do D5, a diminuição do número total de leucócitos durante o período de conservação esta ligado principalmente à degranulação dos polimorfonucleares, que degeneram mais rapidamente que os linfócitos (SALIB & DAWSON, 1985).

Observou-se aumento ( $p < 0,01$ ) progressivo da hemoglobina plasmática a partir do D7 (0,84g/dL) quando comparado com o D0 (0,16g/L). O tempo de armazenamento influencia a fragilidade osmótica das hemácias, favorecendo a lise e liberação da hemoglobina plasmática (LOPES et al., 1995).

#### Avaliação Hemogasométrica

Ao longo dos tempos experimentais, observou-se a queda gradativa do pH com diferença ( $p < 0,01$ ) quando comparado D0 (7,05) com D5 (6,95), D7(6,92), D14(6,84), D21(6,7) e D35(6,72). Considerando que o sangue de ovino em condições normais possui pH em torno de 7,4, ocorreu a diminuição dessa variável logo no primeiro dia, decorrente da acidez natural da solução preservativa (CPDA-1) e posteriormente devido a produção de metabólitos ácidos produzidos pela hemácias armazenadas (RIBEIRO FILHO et al., 1994; COSTA JUNIOR, 2006).

Constatou-se a elevação ( $p < 0,01$ ) da  $p\text{CO}_2$  no D5 (91,35mmHg), manutenção dos valores no D7 (90,68mmHg) em relação ao D5 ( $p < 0,01$ ), e aumento ( $p < 0,01$ ) nos D14 (113,88mmHg), D21 (132,91mmHg) e D35 (133,11mmHg) quando comparados com a media do D0 (72,18mmHg). O aumento da  $p\text{CO}_2$  no sangue armazenado se deve principalmente a neutralização do ácido láctico produzido pelo metabolismo celular, resultando na produção de  $\text{CO}_2$  (RIBEIRO FILHO et al., 1994).

A  $p\text{O}_2$  aumentou até D7 (54,51mmHg) ( $p < 0,01$ ), nos tempos posteriores ocorreu uma diminuição, porém estatisticamente apenas o D35 (6,15mmHg) apresentou diferença ( $p < 0,01$ ) quando comparado ao D0 (49,64mmHg). De acordo com RIBEIRO FILHO et al. (1994) o aumento da  $p\text{O}_2$ , se deve a permeabilidade da bolsa plástica ao oxigênio e pela maior solubilidade deste gás a 4°C. A diminuição da  $p\text{O}_2$  a partir do D14 pode ter ocorrido por aumento do efeito Bohr decorrente da queda mais acentuada do pH e pelo aumento da  $p\text{CO}_2$ , sendo o oxigênio liberado das hemácias e transpassando o plástico.

Quanto ao bicarbonato plasmático se observou uma diminuição das médias até o D7 (18,44mmol/L) ( $p < 0,01$ ) quando comparada com o D0 (19,88mmol/L), ocorrendo aumento posterior, enquanto o lactato apresentou aumento ( $p < 0,01$ ) até o D7 (98,71mg/dL) em relação ao D0 (62,57mg/dL) e posteriormente começou a declinar. A redução inicial do bicarbonato é decorrente do consumo para a neutralização do lactato produzido pelo metabolismo das células, enquanto o aumento posterior se deve a elevação da  $pCO_2$  no interior das bolsas, assim com o aumento do bicarbonato ocorre queda no lactato presente no meio extracelular (COSTA JUNIOR, 2006).

#### Avaliação Bioquímica

Constatou-se o aumento ( $p < 0,01$ ) progressivo dos valores de potássio e diminuição ( $p < 0,01$ ) da concentração plasmática de sódio em relação às medias do D0 de todos os tempos experimentais. A diminuição da capacidade de manter a concentração intracelular de potássio e extracelular de sódio é devido à diminuição do ATP na solução conservadora (HASHIMOTO, 1997; COSTA JUNIOR, 2006). O aumento de potássio também é indicativo de hemólise.

As proteínas totais apresentaram diminuição ( $p < 0,01$ ) ao longo de todos os tempos, porém esta redução é mínima sugerindo que quantitativamente esta variável permanece estável ao longo do experimento, uma vez que o aumento indicaria maior perda de componentes intracelulares conforme LOPES et al (1995).

A concentração plasmática da glicose não sofreu alteração ao longo dos tempos experimentais ( $p > 0,05$ ). O elevado valor da glicose plasmática no D0 (332,28mg/dL) foi ocasionado pela presença de glicose na solução preservadora (CPDA-1) (RIBEIRO FILHO, et al., 1994). Provavelmente os altos valores iniciais de glicose observado no plasma, fez com que não houvesse decréscimo significativo nos seus valores, apesar do consumo deste carboidrato pelas hemácias.

### CONCLUSÃO

Foram observadas alterações hematológicas, bioquímicas e hemogasométricas no sangue ovino armazenado em bolsas CPDA-1 por 35 dias, porém estas alterações não inviabilizam a utilização terapêutica do sangue armazenado neste período, devendo ser levado em consideração no momento da transfusão o tempo de armazenamento, pois a viabilidade vai diminuindo com o decorrer do armazenamento.

## REFERÊNCIAS

- CAVALCANTI, I. L.; CANTINHO, F. A. F.; ASSAD, A. **Medicina Perioperatória**. Rio de Janeiro: Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro, 2006.1356 p.
- COSTA JUNIOR, J. D. **Avaliação do sangue total de cães armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M**. 2006. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- HASHIMOTO, M. C. T. **Estudo da preservação de sangue em diferentes bolsas de coleta com di-octil-ftalato e anticoagulante citrato-fosfato-dextrose-adenina**.1997. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- LACERDA, L. Transfusão sanguínea em veterinária: desafios a vencer. In: GONZÁLEZ, F. H. D., SANTOS, A. P. (eds.): In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL. 2, 2005 Porto Alegre: **Anais...** PortoAlegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.62-81. 2005.
- LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; RIBEIRO FILHO, J. D. Alterações hematológicas e bioquímicas em sangue total de eqüinos, conservado para transfusão em bolsas plásticas com ACD-F. R. **Revista Universidade Rural: Ciência da Vida**, Rio de Janeiro, v.17, p. 91-94, 1995.
- RIBEIRO FILHO, J. D.; ALMEIDA, C. T.; GONÇALVES, R. C.; KOHAYAGAWA, A.; CURY, P. R. Alterações hemogasométricas de sangue bovino durante a conservação em frascos de vidro com ACD e bolsas plásticas com CPDA-1, por 35 dias. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 6, p. 77-84, 1994.
- SALIB, A. A.; DAWSON, R.B. Preservation of different types of buffalo leucocytes in ACD and CPD with metabolic additives. **Acta Veterinaria (Beograd)**, Beograd, v. 35, p. 203-216, 1985.
- VALERI, C. R. Liquid and freeze preservation of human red blood cells. In: SURGENOR, D. M. **The red blood cell**. New York, Academic Press, 1974.