



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MELCA NICEIA ALTOÉ DE MARCHI

**PADRONIZAÇÃO E IMPLEMENTAÇÃO DE ROTINAS DE
UM BANCO DE SANGUE VETERINÁRIO E AVALIAÇÃO DA
QUALIDADE DAS BOLSAS DE CONCENTRADO DE
HEMÁCIAS DE CÃES**

Londrina
2017

MELCA NICEIA ALTOÉ DE MARCHI

**PADRONIZAÇÃO E IMPLEMENTAÇÃO DE ROTINAS DE
UM BANCO DE SANGUE VETERINÁRIO E AVALIAÇÃO DA
QUALIDADE DAS BOLSAS DE CONCENTRADO DE
HEMÁCIAS DE CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa Dra. Patrícia Mendes Pereira.

Londrina
2017

Marchi, Melca.

PADRONIZAÇÃO E IMPLEMENTAÇÃO DE ROTINAS DE UM BANCO DE SANGUE VETERINÁRIO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS BOLSAS DE CONCENTRADO DE HEMÁCIAS DE CÃES / Melca Marchi. – Londrina 2017.
70 f. : il.

Orientador: Patrícia Mendes Pereira
Coorientador: Ulisses de Padua Pereira

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Antissepsia de pele de cães doadores – Teses. 2. Controle de qualidade de concentrado de hemácias de cães – Teses. I. Mendes Pereira, Patrícia. II. de Padua Pereira, Ulisses. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós Graduação em Ciência Animal. IV. Título.

MELCA NICEIA ALTOÉ DE MARCHI

**PADRONIZAÇÃO E IMPLEMENTAÇÃO DE ROTINAS DE UM
BANCO DE SANGUE VETERINÁRIO E AVALIAÇÃO DA
QUALIDADE DAS BOLSAS DE CONCENTRADO DE HEMÁCIAS DE
CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Patricia Mendes Pereira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Danielle Venturini
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Lucas Alecio Gomes
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 24 de fevereiro de 2017.

Dedico a dissertação à minha Mãe, Neusa Altoé.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus em primeiro lugar, por estar sempre comigo, me iluminando e me guiando no caminho do bem.

Aos meus pais, Neusa Altoé e Ataíde de Marchi, por todo incentivo, apoio e suporte. Sem eles eu não teria chegado até aqui. Agradeço também aos demais membros da minha família por toda torcida e pelo carinho.

Ao meu noivo Michel Zavilenski Santello, por sempre vibrar com as minhas conquistas, pelo carinho, pela ajuda, por todo incentivo, apoio e parceria e por ter ido ficar comigo nos finais de semana de plantão.

À minha orientadora, professora Dra. Patrícia Mendes Pereira, por ter me dado a oportunidade de ser sua orientada, pelo tempo disposto em reuniões e correções e por todos os ensinamentos nesses dois anos.

Ao professor Dr. Ulisses de Padua Pereira, pela co-orientação, pelos ensinamentos e por abrir as portas do laboratório de Bacteriologia pra mim.

Aos estagiários do Banco de Sangue, pela amizade, pela parceria durante as transfusões e por toda ajuda nas colheitas de sangue dos cães doadores. Obrigada turminha!

À minha ex orientadora e amiga Raquel Reis Martins, por tudo o que me ensinou direta ou indiretamente, pela parceria nesses dois anos, por abrir as portas da casa dela pra mim, e por toda ajuda durante a execução do projeto.

Ao Patrick, por me ensinar tanta coisa, técnica ou não, por ser um exemplo de força e dedicação, e especialmente, por toda ajuda durante a minha pesquisa.

Aos colegas de mestrado, em especial, Vanessa e Ediane pela parceria em trabalhos, aulas, caminhadas, almoços e lanches da tarde. Por estarem sempre por perto.

À professora Sandra Simonelli, pela paciência e por me ajudar com a estatística do trabalho.

Ao diretor do hemocentro regional de Londrina, Dr. Fausto, por ter me concedido o estágio. Agradeço também os demais funcionários, mas em especial às técnicas do laboratório de controle de qualidade, Adriana e Silvia, e à chefe do setor Márcia, que me ensinaram tudo com muito carinho e paciência, sempre me atenderam quase que imediatamente para tirar dúvidas mesmo depois do período do estágio.

Aos funcionários, estagiários e residentes do laboratório de Bacteriologia, Lucimara, Amilton, Fernanda, Raffaella, entre outros, por todos os ensinamentos e pela ajuda nas análises e produção dos caldos e meios de cultura.

À professora Dra. Karina, por abrir as portas do laboratório de Patologia Clínica e à todos os funcionários e residentes do laboratório, em especial o João, pela ajuda e companhia nas noites que tinham colheitas e análises.

Aos funcionários do laboratório de Virologia, Marcos e Juliana, pela ajuda e simpatia sempre.

Aos demais professores, funcionários e residentes do Hospital Veterinário da UEL, pelo auxílio direto ou indireto nesse período que passei aqui.

Ao programa de pós graduação em Ciência Animal da UEL, pela oportunidade que me foi dada e por tudo que aprendi durante o curso.

À coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

"Então você entenderá o que é justo, direito e certo,
e aprenderá os caminhos do bem, pois a sabedoria
entrará em seu coração" Prov. 2:9

MARCHI, Melca Niceia Altoé. **Padronização e implementação de rotinas de um banco de sangue veterinário e avaliação da qualidade das bolsas de concentrado de hemácias de cães.** 2017. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

A expansão da medicina transfusional veterinária trouxe uma maior preocupação com a qualidade dos componentes sanguíneos. Durante todas as etapas de produção do sangue existem pontos críticos que devem ser avaliados para que os erros sejam diminuídos, garantindo a segurança do paciente. Deste estudo foram gerados dois artigos. O primeiro teve como objetivo avaliar e comparar o potencial de redução bacteriana proporcionado pela clorexidina degermante 2%, clorexidina alcoólica 0,5% e álcool 70% e padronizar a antissepsia de pele para colheita de sangue de cães doadores. Para isso, foram testados dois protocolos de antissepsia com e sem tricotomia, composto por: Clorexidine 2% + Clorexidine alcoólico 0,5% e Clorexidine 2% + álcool 70%. Os dois protocolos tiveram 100% de eficácia com e sem tricotomia. Esse resultado foi devido ao uso combinado de antissépticos, a utilização da clorexidina na concentração de 2% e o tempo prolongado de 3 minutos do procedimento. O segundo artigo teve como objetivo realizar o controle de qualidade do concentrado de hemácias após a padronização das etapas de produção do sangue. Foi realizada a colheita e avaliação de bolsas de sangue total, separação do sangue total para obtenção de concentrado de hemácias, armazenamento das bolsas de sangue e avaliação da qualidade das mesmas. A média (\pm DP) do volume, volume globular, hemoglobina e percentual de hemólise do concentrado de hemácias foram: $299,77\pm 30,08$ mL, $60,87\pm 2,60\%$, $20,57\pm 0,93$ g/dL e $0,09\pm 0,07\%$ respectivamente. Os concentrados de hemácias ficaram armazenado em média (\pm DP) $8,83\pm 6,73$ dias. A média (\pm DP) do volume globular, hemoglobina, percentual de hemólise e hemoglobina por unidade de concentrado de hemácias após o período de armazenamento foram: $57,55\pm 3,01\%$, $20,30\pm 0,89$, $0,20\pm 0,12$ %, $60,90\pm 7,65$ respectivamente. Na análise microbiológica, duas bolsas foram positivas, uma no início da transfusão e no término da mesma e a segunda após o término da transfusão. Em ambos os casos a bactéria identificada foi *Staphylococcus* sp. coagulase negativa. As bolsas de concentrado de hemácias ficaram dentro dos parâmetros de controle de qualidade estabelecidos pela legislação do ministério da saúde em humanos, em que o volume globular deve estar entre 50% a 70%, o percentual de hemólise até 0,8% e a hemoglobina por unidade acima de 40 g/unidade. Os resultados obtidos no primeiro artigo possibilitaram concluir que embora os protocolos de antissepsia apresentados nesse estudo possam ser utilizados com segurança para a colheita de sangue de cães, ainda o recomendado é a tricotomia antes da antissepsia, visto que o pelo do animal pode acumular sujidades e microrganismos, podendo favorecer a contaminação. Com o segundo artigo conclui-se que a padronização das etapas de produção do sangue envolve desde a seleção de doadores até o final do armazenamento das bolsas de sangue e visa produzir concentrado de hemácias com qualidade. O controle de qualidade das bolsas de sangue visa encontrar falhas nos procedimentos para que sejam reparadas, aumentando a segurança transfusional, tendo em vista o estado crítico do paciente que necessita da transfusão sanguínea.

Palavras-chave: Medicina transfusional. Controle de qualidade. Hemocomponentes

MARCHI, Melca Niceia Altoé. **Standardization and implementation of routines of a veterinary blood bank and evaluation of the quality of red blood cells packet in dogs.** 2017. 70f. Dissertation (Master's Degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

The expansion of transfusion veterinary medicine has brought greater concern to the quality of the blood components offered. During all stages of production there are critical points that must be minimized so that errors are reduced, thus ensuring patient safety. From this study two articles were generated, the first one with the objective of evaluate and compare the bacterial reduction potential provided by chlorhexidine degermante 2%, chlorhexidine alccolica 0.5% and alcohol 70% and to standardize skin antisepsis for blood collection of dogs Donors. Two anti-sepsis protocols with and without trichotomy for blood donor dogs were tested and standardized, consisting of: Clorexidine 2% + Clorexidine alcohol 0,5% and Clorexidine 2% + 70% alcohol. The two protocols were 100% effective with and without trichotomy. This result was due to the combined use of antiseptics, the use of chlorhexidine in the concentration of 2% and the prolonged time of 3 minutes of the procedure. The second article aimed to perform the quality control of red blood cells after standardization of the blood production stages. Collection and evaluation of whole blood bags, separation of blood components to obtain red blood cell, storage of blood bags and evaluation of blood quality were performed. The mean (\pm SD) volume, globular volume and total blood hemoglobin were: 410.73 ± 43.95 mL, $39.56 \pm 4.63\%$ and 13.52 ± 1.50 g / dL, respectively. The (\pm SD) mean volume, globular volume, hemoglobin and hemolysis percentage of red blood cell concentrate were: 299.77 ± 30.08 mL, $60.87 \pm 2.60\%$, 20.57 ± 0.93 g / DL and $0.09 \pm 0.07\%$ respectively. The mean (\pm SD) of the globular volume, hemoglobin, percentage of hemolysis and hemoglobin per unit of packed red blood cells after the storage period were: $57.55 \pm 3.01\%$, 20.30 ± 0.89 , $20 \pm 0.12\%$, 60.90 ± 7.65 respectively. In the microbiological analysis, only two pockets were positive, one at the beginning of the transfusion and at the end of the transfusion and the second after the end of the transfusion. In both cases the bacterium identified was *Staphylococcus* sp. coagulase negative. Red blood cells packet were within the parameters of quality control established by the Ministry of Health legislation in humans, where the globular volume should be between 50% to 70%, the percentage of hemolysis up to 0.8%, and hemoglobin Per unit above 40 g / unit. The results obtained in the first article made it possible to conclude that although the antisepsis protocols presented in this study can be used safely for the collection of blood from dogs, trichotomy before antisepsis is recommended, since the animal's hair can accumulate dirt and Micro-organisms, and may favor contamination. The second article concludes that the standardization of blood production stages involves selection of donors until the end of the storage of blood bags and aims to produce red blood cells with quality. The quality control of the blood bags aims to find procedures faults to be repaired, increasing the transfusion safety, considering the critical condition of the patient who needs the blood transfusion.

Key words: Transfusional medicine. Quality control. Blood components.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Bolsa de sangue total após centrifugação 16

ARTIGO A

Figura 1 – Comparação do crescimento bacteriano entre os grupos G1-G6 após cultivo caldo BHI..... 27

ARTIGO B

Figura 1 – Número porcentual de animais doadores quanto á raça..... 35

Figura 2 – Análise de regressão do volume globular em relação ao volume das bolsas de concentrado de hemácias..... 37

Figura 3 – Análise de regressão da hemoglobina total (g/dL) em relação ao volume das bolsas de concentrado de hemácias. 37

Figura 4 – Análise de regressão da hemoglobina (g/unidade) em relação ao tempo de armazenamento 38

Figura 5 – Análise de regressão do percentual de hemólise (%) em relação ao tempo de armazenamento 40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Especificações da RDC Nº 34 de 11 de junho de 2014 para o controle de qualidade do concentrado de hemácias 20

ARTIGO A

Quadro 1 – Tratamentos divididos de acordo com o antisséptico utilizado associado ou não a tricotomia 26

LISTA DE TABELAS

ARTIGO B

Tabela 1 – Médias e desvios padrão para as variáveis observadas	36
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHI	Brain Heart Infusion
PCR	Reação em cadeia da polimerase
SAG-M	Cloreto de sódio, manitol, dextrose monoidratada e adenina
VG	Volume Globular
HB	Hemoglobina
HBe	Hemoglobina extracelular
HBCH	Hemoglobina do concentrado de hemácias (g/unidade)
CH	Concentrado de hemácias
RPM	Rotação por minuto
DP	Desvio Padrão
MS	Ministério da Saúde

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	13
2.1	TRIAGEM DOS DOADORES.....	13
2.2	COLHEITA DO SANGUE	13
2.3	PROCESSAMENTO DO SANGUE.....	14
2.4	ARMAZENAMENTO DO SANGUE	17
2.5	CONTROLE DE QUALIDADE DO CONCENTRADO DE HEMÁCIAS.....	19
3	OBJETIVOS	22
3.1	OBJETIVO GERAL.....	22
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICO.....	22
4	ARTIGO A – AVALIAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS DE ANTISSEPZIA DE PELE PARA COLHEITA DE SANGUE DE CÃES DOADORES	23
4.1	INTRODUÇÃO.....	24
4.2	Material e Métodos	25
4.3	Resultados e Discussão.....	26
4.4	Conclusão	28
5	ARTIGO B – CONTROLE DE QUALIDADE NAS DIFERENTES ETAPAS DE PRODUÇÃO DO CONCENTRADO DE HEMÁCIAS EM CÃES	31
5.1	Introdução	32
5.2	Material e Métodos	32
5.3	Resultados e Discussão.....	35
5.4	Conclusão	41
6	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

APÊNDICES	51
APÊNDICE A – Manual de procedimento operacional padrão desenvolvido para o Laboratório de Medicina Transfusional do Hospital Veterinário da UEL	52
ANEXOS	64
ANEXO A – Protocolo do comitê de ética animal	65

1 INTRODUÇÃO

A terapia transfusional é uma prática muito utilizada em medicina veterinária e está em expansão com a implantação de programas de doação de sangue e implementação de bancos de sangue veterinários (LUCAS et al., 2004; DELUCA et al., 2006). É uma ferramenta essencial em qualquer unidade de terapia intensiva veterinária (FERREIRA et al., 2014).

O sangue coletado, processado, armazenado e transfundido deve apresentar elevada segurança transfusional, uma vez que o componente sanguíneo pode transmitir patógenos e levar a reações transfusionais. Segundo Texeira et al. (2011), os eventos adversos à transfusão do sangue podem ser graves o suficiente para pôr em risco a vida do paciente.

A contaminação bacteriana relacionada à transfusão de hemocomponentes é uma das principais preocupações na prática hemoterápica, sendo atualmente a principal causa de infecção relacionada à transfusão de sangue (BRECHER & HAY, 2005). Métodos para prevenção da contaminação bacteriana do sangue coletado se baseiam principalmente na antisepsia cutânea do doador e no desvio do fluxo inicial do sangue durante a coleta (PEREZ et al., 2002).

Para que haja um aumento na segurança transfusional deve-se adotar um conjunto de medidas que visem um menor risco aos doadores e aos receptores de sangue (CARRAZZONE; BRITO; GOMES, 2004). Para isso, é importante que o ciclo hemoterápico seja cumprido com eficiência, abrangendo a captação e seleção de doadores, processamento e fracionamento das unidades coletadas, armazenamento, dispensação, transfusão e avaliação pós transfusional (TYNELL et al., 2001).

Na medicina, os procedimentos realizados e os parâmetros de qualidade são embasados na Resolução da diretoria colegiada - RDC N°34 de 11 de junho de 2014 do Ministério da Saúde. Na medicina veterinária, ainda hoje, as técnicas e parâmetros são extrapolados da medicina (MARCHI; MARTINS; PEREIRA, 2015). Com isso, esse estudo visa contribuir para o aperfeiçoamento dos serviços ofertados por bancos de sangue veterinários e teve como objetivo avaliar dois protocolos de antisepsia em doadores caninos, padronizar as etapas de produção do sangue e avaliar a qualidade do concentrado de hemácias.

2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

2.1 TRIAGEM DOS DOADORES

A busca pela segurança e redução das reações transfusionais inicia-se na rigorosa seleção de doadores. Além disso, deve-se cuidar para que o doador não sofra consequências negativas da doação como hipovolemia, anemia por perda de sangue e ferropriva pelo número de doações (TOCCI; EWING, 2009; SANTOS et al., 2013).

Para Feldman e Sink (2007), os cães doadores devem ter peso acima de 25 Kg para realizar a doação de até 20 mL/Kg a cada quatro a seis semanas. Segundo Lanevski e Wardrop (2001), doadores devem ter, entre outras características, peso corpóreo a partir de 30 Kg, ressaltando-se que é possível adequar coletas em cães de menor porte, ajustando-se volume de sangue, à proporção de até 20 mL/Kg e ao volume globular mínimo de 40%, enquanto no banco de sangue veterinário da Universidade da Pensilvânia coleta-se sangue de cães acima de 28 Kg, de seis a oito vezes por ano, em uma média de seis semanas entre cada doação, desde que os parâmetros hematológicos se encontrem no intervalo de referência (PEREIRA; RAMALHO, 2001; KESSLER et al., 2010).

Além do peso ideal, o cão deve ter idade entre dois e oito anos, ser dócil, permitindo contenção e ser clinicamente saudável, isento de medicações e sob controle constante de ectoparasitas (LUCAS et al., 2004; DAVIDOW, 2013).

A avaliação laboratorial deve incluir hemograma, provas bioquímicas hepáticas e renais. As doenças infecciosas que devem ser investigadas nos cães doadores são: Babesiose, Leishmaniose, Ehrliquiose, Dirofilariose, Brucelose, Anaplasmoses e Rickettsiose. A frequência com que os exames devem ser feitos depende do risco de exposição e permanência em áreas endêmicas (WARDROP et al., 2005; FELDMAN; SINK, 2007).

2.2 COLHEITA DO SANGUE

A sala de colheita deve ser um lugar exclusivo para esse fim, calmo, silencioso e livre da passagem de outras pessoas para que o animal não se assuste, evitando assim interrupções durante o procedimento. A mesa deve ser firme, sem desníveis e de tamanho adequado tanto para posicionar os animais em decúbito lateral quanto em decúbito esternal (LUCAS et al., 2004).

Para que o procedimento de colheita ocorra de forma ideal são necessárias três pessoas. Uma para manter o doador em decúbito lateral ou sentado, outra para promover a flebotomia e manter a agulha adequadamente posicionada e uma terceira para controlar o peso da bolsa até que atinja o peso ideal e homogeneizá-la, constante e delicadamente para que todo o sangue colhido entre em contato o mais breve possível com o anticoagulante e minimize o risco de formação de coágulos e microtrombos (HELM; KNOTTENBELT, 2010).

A punção é realizada preferencialmente na veia jugular. A região deve ser tricotomizada e posteriormente feita a antissepsia (HELM; KNOTTENBELT, 2010). Para Goldman et al., (1997), a principal causa de contaminação bacteriana em hemocomponentes é a entrada de bactérias da pele do doador no momento da venipunção. Eventualmente, a contaminação pode ocorrer por bacteremia assintomática presente no doador (MCDONALD, 2004; FONSECA, et al.; 2009).

Arcos e Goldman (2010), estudaram protocolos de antissepsia em humanos utilizando Gluconato de Clorexidina 2% + Alcool 70% e Tintura de iodo 2% + álcool 70% e obtiveram 99% de redução bacteriana, embora os resultados mais significativos foram com o uso do primeiro protocolo. Muitos fatores podem limitar a qualidade da redução bacteriana da técnica utilizada, dentre estes, pode-se destacar o tipo de antisséptico, a concentração e a forma de aplicação (ARCOS; GOLDMAN, 2010; BUENO, 2010). Devido a isso, recomenda-se que para obter uma antissepsia eficaz é necessário utilizar antissépticos de maneira combinada (MCDONALDS, 2001).

Inicialmente a bolsa de sangue deve ser posicionada na balança digital e realizada a tara. Antes da abertura da linha de colheita, o equipo deve ser fechado, de sete a dez centímetros após a agulha, com pinça hemostática de forma que o sistema não abra e a parte interna do circuito não entre em contato com o ar ambiente (LUCAS et al., 2004). A flebotomia deve ser feita com o bisel voltado para cima, e só então com a agulha devidamente posicionada a pinça hemostática pode ser removida do circuito. A colheita deve continuar até que a bolsa atinja entre 405 e 480g de peso, sendo a sua homogeneização realizada a cada 50 a 75 mL de sangue colhido. Após o término o equipo deve ser novamente fechado antes que a agulha seja retirada da veia jugular. O tempo ideal do procedimento é em torno de 10 minutos (HELM; KNOTTENBELT, 2010).

2.3 PROCESSAMENTO DO SANGUE

A utilização de componentes sanguíneos é uma prática bastante comum na medicina veterinária em vários países do mundo. No Brasil, isso também é uma realidade, embora na maioria dos locais se utilize sangue total por falta de equipamentos e estrutura para realizar o fracionamento do sangue (SOUZA, 2012). Existe um consenso de que as vantagens da utilização dos hemocomponentes prevalecem em relação ao sangue total, uma vez que muitos pacientes necessitam apenas de uma fração do sangue. Com isso, a eficácia da terapia aumenta e há a diminuição das reações transfusionais (CALLAN, 2000).

Hemocomponente é o produto obtido da centrifugação de uma unidade de sangue total. A separação é possível em função das diferentes densidades e tamanhos das células sanguíneas, sendo os principais componentes sanguíneos o concentrado de hemácias, concentrado de plaquetas, plasma fresco congelado e crioprecipitado (SAKUMA et al., 2011).

A utilização dos hemocomponentes torna a terapia mais eficaz e menos arriscada, visto que nem sempre os animais precisam de reposição de todos os componentes sanguíneos (CASTELLANOS et al., 2004). O uso de sangue total não é mais aceito na hemoterapia atual em humanos, e traduz apenas a falta de disponibilidade de produtos mais adequados. Seu uso dá-se apenas como matéria-prima para o preparo de hemocomponentes. O sangue total estocado é usado nos casos em que tenha ocorrido uma perda superior a 30% da volemia. Todavia, essas hemorragias também podem ser corrigidas com concentrado de hemácias e soluções eletrolíticas e/ou coloidais (WENDELL, 1996).

Após a colheita, o sangue total deve repousar por aproximadamente 2 horas à temperatura entre 20° C a 24° C, ou ser mantido sob placas frias de butanodiol que é um elemento de resfriamento, para posterior processamento (SAKUMA et al., 2011).

Para o fracionamento utilizam-se bolsas duplas, triplas ou quádruplas colocadas em uma centrífuga refrigerada específica para este fim (Figura 1). Na primeira centrifugação são obtidos dois produtos, o concentrado de hemácias e o plasma rico em plaquetas. Realiza-se uma segunda centrifugação para a separação do concentrado de plaquetas e, uma terceira centrifugação para a obtenção do crioprecipitado (LOTENS, 2014).



Figura 1: Fotografia demonstrando uma bolsa de sangue total após centrifugação em centrífuga específica para hemocomponentes mostrando a sedimentação do concentrado de hemácias antes da extração do plasma fresco.

Fonte: arquivo pessoal.

Atualmente existem vários protocolos de centrifugação do sangue total de cães (FERREIRA et al., 2014). Para Sakuma et al. (2011), cada banco de sangue deve padronizar seu próprio protocolo de centrifugação, desde que haja um controle da qualidade dos produtos sanguíneos.

Em um estudo, foram avaliados diferentes protocolos de centrifugação e posteriormente feito o controle de qualidade das bolsas centrifugadas, não verificando diferença significativa entre eles. Porém, houve um aumento no grau de hemólise para 0,27% quando a velocidade de centrifugação aumentou de 2.000 g por 20 minutos para 3.500 g durante 15 minutos (FERREIRA et al., 2014).

Para Ferreira et al. (2014), o grau de hemólise é maior em velocidades de centrifugação mais altas, entretanto, dizer que baixas velocidades de centrifugação geram produtos sanguíneos com qualidade elevada não é correto. Em seu estudo, das 235 bolsas centrifugadas, não se obteve separação adequada do plasma nos protocolos 2.000 g durante 10 minutos e 2.000 g durante 15 minutos, mostrando não serem ideais para separação do concentrado de hemácias. Para os mesmos autores, o melhor protocolo de centrifugação encontrado foi de 2.000 g durante 20 minutos, obtendo separação total do plasma.

2.4 ARMAZENAMENTO DO SANGUE

Na medicina veterinária, são utilizadas as mesmas bolsas para conservação de sangue e seus produtos que na medicina. Estas possuem solução conservadora na proporção de 63 mL para 450 mL ou 70 mL para 500 mL de sangue total, enquanto as bolsas com soluções aditivas possuem ainda solução de 100 mL a serem adicionados após a centrifugação (FELDAM; SINK, 2007).

Podem ser encontradas na forma de bolsa única, ou acopladas formando sistemas duplo, triplo ou quádruplo, sendo sempre uma bolsa primária e o restante, satélites, que são utilizadas para armazenar os componentes sanguíneos após a centrifugação do sangue total, como concentrado de hemácias, plasma e plaquetas (FELDAM; SINK, 2007).

Os três principais tipos de soluções preservativas para colheita e armazenamento de sangue são: ACD (Adenina, Citrato, Dextrose), CPD (Citrato, Fosfato, Dextrose) e CPDA-1 (Citrato, Fosfato, Dextrose e Adenina). Ainda, existem as bolsas que contêm soluções aditivas as quais possuem na bolsa primária CPD e na bolsa satélite a solução aditiva SAG-M (cloreto de sódio, manitol, dextrose e adenina) (HOLME, 2005).

As bolsas de sangue dos cães podem ficar armazenadas de 30 a 35 dias dependendo da solução preservativa contida no seu interior (OBRADOR et al., 2015). A RDC N°34 de 11 de junho de 2014 do Ministério da Saúde (MS), preconiza que o concentrado de hemácias deve ser armazenado entre 2°C a 6°C em refrigeradores específicos para esse fim, com alarme sonoro e visual, sendo que as temperaturas devem ser registradas ao menos a cada 4 horas.

Durante o armazenamento, em torno de 4°C, os eritrócitos encontram-se em condições muito diferentes da circulação sanguínea e algumas mudanças podem ocorrer afetando a função e até sobrevivência dessas células (HOGMAN; MERYMAN, 2006). Conhecidas como lesões de armazenamento (SOUZA et al., 2012), essas alterações incluem eventos bioquímicos, biomecânicos e imunológicos (ALMIZRAQ et al., 2013; OBRADOR et al., 2015). Para Martins (2011), essas alterações, podem ser minimizadas, ou mesmo ter sua ocorrência retardada, com o manejo adequado durante o armazenamento e com o estabelecimento de sistemas de controle de qualidade.

Eritrócitos são células anucleadas, revestidas por uma membrana permeável e flexível, composta por lipídeos, proteínas e carboidratos. Carreiam em seu interior hemoglobina, responsável pelo transporte de oxigênio aos tecidos, sua principal função. Não possuem mitocôndrias, o que diminui a capacidade sintética e impede realização do ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa, sendo necessário que as soluções conservadoras forneçam nutrientes

para a manutenção do metabolismo energético por meio da glicólise (KORTE; VERHOEVEN, 2004; THRALL, 2014).

Porém, apesar das soluções conservadoras possuírem fontes de energia para a manutenção do metabolismo eritrocitário, a sobrevivência dessas células é limitada tanto pela redução da fonte energética ao longo do armazenamento como pelo envelhecimento natural das hemácias (WARDROP et al., 1994). Há uma depleção de ATP que tem efeitos nocivos diretos sobre a capacidade de deformabilidade dos eritrócitos, impedindo-os de adaptar-se morfológicamente de forma necessária para transitar pela microcirculação, o que prejudica o fornecimento de oxigênio e remoção de dióxido de carbono dos tecidos (MOHANDAS, 1993).

A deformabilidade reduzida dos eritrócitos é também um fator importante na redução da sobrevivência após a transfusão, assim como a redução do tamanho e formação de poiquilócitos (equinócitos, estomatócitos e esferócitos). Também há surgimento de microvesículas e aumento gradual da fragilidade osmótica, sendo que essas células podem sofrer lise, levando à diminuição no número de hemácias, diminuição do volume globular e aumento da hemoglobina plasmática livre (LEONART, 1994, WARDROP et al., 1994), esta última podendo ocasionar danos à função renal e ao sistema de coagulação quando o sangue é transfundido (HESS; GREENWALT, 2002; KORTE; VERHOEVEN, 2004).

O armazenamento em soluções conservadoras leva a redução do pH (SOUZA et al., 2012). Nas diferentes espécies, isso é observado logo no primeiro dia pós-colheita, decorrente da presença de ácido cítrico na solução conservadora (REYNOLDS, 2007). A tendência do pH é decrescer ainda mais ao longo do tempo, devido ao metabolismo anaeróbico das hemácias em que a glicose é metabolizada a lactato, levando ao acúmulo de íons H^+ (RIBEIRO FILHO et al., 1993).

A captação e liberação de oxigênio pela hemoglobina são mensuradas pelo 2,3 difosfoglicerato (DPG) (KURUP et al., 2003; SCOTT et al., 2005). O armazenamento promove depleção dos níveis de 2,3 DPG pela queda do pH, porém os eritrócitos retornam a síntese normal de 2,3 DPG após serem transfundidos, sendo necessárias 24 a 48 horas após a transfusão para que ele se normalize. Por isso, em pacientes críticos que necessitem de entrega rápida de oxigênio a utilização de sangue armazenado por longo período é um fator limitante (SCOTT et al., 2005).

As lesões de armazenamento podem ser minimizadas, ou mesmo ter sua ocorrência retardada, com o manejo adequado durante o armazenamento e com o estabelecimento de sistemas de controle de qualidade (TOMCZAK, 2008).

2.5 CONTROLE DE QUALIDADE DO CONCENTRADO DE HEMÁCIAS

Desde as primeiras transfusões sanguíneas, ainda no século XVIII, pesquisadores têm buscado a forma de transfundir hemácias que preservem sua integridade e que não provoquem efeitos deletérios ao receptor. Nas transfusões diretas entre doador e receptor, da mesma forma que se observava a melhora rápida do paciente, ocorriam reações adversas inesperadas e, muitas vezes letais. A partir das dificuldades enfrentadas, os estudos nessa área foram intensificados para garantir a qualidade do produto transfundido (GIANGRANDE, 2000).

Durante o século XX, houve uma revolução na hemoterapia com o desenvolvimento de soluções aditivas para concentrados de hemácias, além do aperfeiçoamento de métodos de controle de qualidade em laboratório clínico, multiplicando assim, os estudos sobre os eritrócitos envolvendo morfologia, metabolismo e sobrevivência em condições de armazenamento (HOGMAN, 1999).

A luta mundial contra a disseminação da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), bem como de outras doenças infecciosas, em especial a partir de 1980, acabou contribuindo de forma decisiva para a implantação de métodos mais eficientes que garantissem o controle de qualidade em laboratórios clínicos e em hemocentros (HOGMAN, 1999; GIANGRANDE, 2000).

Na medicina, os serviços de hemoterapia instituem um sistema de gestão de qualidade que estabelece um conjunto de políticas e procedimentos para adequar seus processos à legislação vigente do MS. Esse sistema de gestão de qualidade demonstra a competência do serviço em realizar os procedimentos e fornecer os hemocomponentes com controle e garantia de qualidade (SAKUMA et al, 2011), preconizando a padronização de procedimentos, desde a seleção do doador até a transfusão, com o objetivo de alcançar a melhoria da qualidade dos produtos oferecidos por todos os Serviços de Hemoterapia (SEIFRIED, 2007).

O controle de qualidade faz parte das medidas para a garantia do sucesso do procedimento e inclui análises a serem realizadas durante todo o processo, visando avaliar possíveis erros ou alterações, e se possa intervir minimizando-os (TOMCZAK, 2008).

De acordo com a RDC Nº34 de 11 de junho de 2014 do Ministério da Saúde, o serviço de hemoterapia deve possuir um manual de procedimentos operacionais que contemple todas as atividades do ciclo do sangue, realizando um controle de qualidade sistemático de todos os hemocomponentes produzidos. Além disso, cada item verificado pelo serviço de controle de qualidade deve apresentar um percentual de conformidade superior a 75%, com exceção da esterilidade, que deve sempre ser superior a 99,5%.

Ainda, segundo a mesma resolução, os fatores a serem avaliados e seus respectivos parâmetros aceitáveis para a qualidade de concentrado de hemácias estão representados no Quadro 1 e incluem volume, hematócrito, teor de hemoglobina (g/unidade), grau de hemólise e análise microbiológica.

Na medicina veterinária não existem parâmetros estabelecidos admissíveis no sangue total ou no concentrado de hemácias, específicos para as diferentes espécies, no entanto, alguns trabalhos levam em consideração parâmetros humanos (MUDGE, 2004; NIINISTO et al., 2008; BARROS, 2011; MARCHI; MARTINS; PEREIRA, 2015).

Quadro 1 – Especificações da RDC N° 34 de 11 de junho de 2014 do Ministério da Saúde para controle de qualidade do concentrado de hemácias.

Concentrado de Hemácias	
Análises	Valores esperados
Teor de Hemoglobina	Maior que 45 g/unidade
Hematócrito	50% a 80%
Grau de hemólise	Menor que 0,8%
Análise microbiológica	Negativa
*O hematócrito esperado depende do tipo de solução preservativa utilizada na bolsa, sendo de 50% a 70% para os concentrados de hemácias com soluções aditivas e de 65% a 80% com CPDA-1.	
Obs.: Deve ser realizado controle de qualidade em, pelo menos, 1% da produção ou 10 unidades por mês (o que for maior).	

Fonte: RDC N° 34 de 11 de junho de 2014.

Em bancos de sangue humanos, o sangue total é inspecionado visualmente com o intuito de detectar alterações de cor, lipemia do sobrenadante, presença de coágulos e vazamentos. Avalia-se também o tempo de colheita e o volume da bolsa que não deve ser superior a 15 minutos e inferior a 405mL respectivamente (SAKUMA et al, 2011). Segundo a RDC N°34 de 11 de junho de 2014, bolsas colhidas com volume entre 300 mL a 405 mL, reaproveita-se o concentrado de hemácias, e descarta-se o plasma.

O controle de qualidade de concentrado de hemácias tem como principal objetivo garantir que as hemácias transfundidas sobrevivam e circulem após transfusão e se mantenham funcionais, quanto às suas características morfológicas e de liberação de oxigênio e dióxido de carbono (HOGMAN, 1999). Elas são selecionadas aleatoriamente para análise, com frequência definida pelo serviço, durante todo o tempo de armazenamento. Antes da colheita da amostra para as análises, as bolsas devem ser mantidas em repouso por aproximadamente 30 minutos e as unidades devem ser homogêneas no mínimo três vezes,

incluindo o tubo de transferência (espaguete) com o auxílio de uma pinça rolete (SAKUMA et al., 2011).

Ferreira et al. (2014), em seu estudo sobre análises laboratoriais de bolsas de concentrado de hemácias, afirmam darem o primeiro passo na implementação de um guia de controle de qualidade de bolsas de sangue de cães. Esse estudo avaliou o volume, hematócrito, hemoglobina total, grau de hemólise e contaminação bacteriana de 235 bolsas, utilizando referências de humanos como parâmetro, e obtiveram a média de 0,23% de hemólise e uma amostra com contaminação bacteriana.

Visto que a legislação não define um método como padrão, estudos semelhantes utilizaram métodos para a realização das análises que variaram de acordo com os autores. Tomczak (2010), e Santiago (2011), utilizaram um aparelho hematológico para determinação do hematócrito, enquanto que Ferreira et al. (2014) utilizaram a centrífuga de microhematócrito. Entretanto, para avaliar a concentração de hemoglobina plasmática, todos os autores utilizaram o mesmo método, a espectofotometria.

Assegurar a qualidade do sangue total e seus componentes deve ser objetivo de todos os médicos veterinários que se dispõem a realizar uma transfusão sanguínea ou a trabalhar com a implantação de bancos de sangue, visto que os cuidados vão desde a seleção de doadores, com testes de triagem que assegurem o bom estado de saúde, até a qualidade do armazenamento do componente sanguíneo (MARCHI; MARTINS; PEREIRA, 2015).

Como descrito anteriormente o controle de qualidade visa aumentar a segurança transfusional. Na medicina veterinária os estudos sobre a padronização dos procedimentos de rotina de bancos de sangue de cães e a avaliação da qualidade do concentrado de hemácias produzido ainda são escassos. Diante do exposto, é clara a necessidade de se avaliar a qualidade do concentrado de hemácias para a garantia do sucesso transfusional em cães.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Padronizar os procedimentos do serviço de hemoterapia veterinária e avaliar a qualidade do concentrado de hemácias produzida.

3.2 Objetivos Específicos

- Padronizar o protocolo de antissepsia dos cães doadores de sangue;
- Avaliar a qualidade das bolsas de concentrado de hemácias por meio de exames laboratoriais como volume globular, percentual de hemólise, hemoglobina (g/unidade) e análise microbiológica do sangue, seguindo os parâmetros do controle de qualidade preconizados em humanos pela RDC N°34 de 11 de junho de 2014 do ministério da saúde.
- Elaborar um Manual de Procedimentos para o Laboratório de Medicina Transfusional do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina.

4 ARTIGO A – Artigo redigido sob as normas de publicação do periódico Ciência Rural, disponível em: <http://coral.ufsm.br/ccrrevista/normas.htm>, acesso: 15/01/2017.

AVALIAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS DE ANTISSEPÇÃO DE PELE PARA COLHEITA DE SANGUE DE CÃES DOADORES

EVALUATION OF TWO ANTISEPTIC SKIN PROTOCOLS FOR BLOOD COLLECTION OF DONOR DOGS

RESUMO

A contaminação bacteriana relacionada à transfusão de hemocomponentes é uma importante fonte de infecção. A antissepsia é a prevenção da sepse por exclusão, destruição ou inibição do crescimento ou multiplicação de microrganismos dos tecidos. O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar o potencial de redução bacteriana proporcionado pela clorexidina degermante, clorexidina tópica e álcool 70% e padronizar a antissepsia de pele para colheita de sangue de cães doadores. Foram avaliados 120 swabs de pele da região da jugular de 20 cães, que foram distribuídos em seis tratamentos (T) de acordo com o agente usado para desinfecção associado ou não a tricotomia local: T1 – Tratamento sem tricotomia e sem antissepsia, T2 - Tratamento clorexidina degermante 2% + clorexidina alcoólica 0,5% sem tricotomia, T3 – Tratamento clorexidina 2% + álcool 70% sem tricotomia, T4 - Tratamento com tricotomia e sem antissepsia, T5 - Tratamento clorexidina 2% + clorexidina alcoólica 0,5% com tricotomia, T6 - Tratamento clorexidina 2% + álcool 70% com tricotomia. A antissepsia foi feita com gaze, de forma contínua em um único sentido, durante 1,5 minutos para cada antisséptico, totalizando 3 minutos de antissepsia. Os swabs foram cultivados em caldo BHI e posteriormente em ágar sangue e os microrganismos identificados através da presença de crescimento e utilização da lactose em ágar Macconkey e coloração de gram. O uso dos antissépticos se mostraram eficazes nos tratamentos com e sem tricotomia não apresentando crescimento bacteriano. Já nos tratamentos controle T1 e T4 (sem antissepsia) houve crescimento bacteriano em todas as amostras, com predomínio de cocos gram positivos com a porcentagem de 85% e 75% respectivamente. A eficácia de 100% da técnica utilizada no presente trabalho pode ser decorrente do maior tempo de antissepsia, associação de antissépticos e o uso do clorexidina degermante de concentração 2%. Conclui-se que os protocolos de antissepsia realizado neste estudo podem ser utilizados com segurança para a colheita de sangue de cães, embora ainda o recomendado seja a tricotomia antes da antissepsia, visto que o pelo do animal pode acumular sujidades e microrganismos, podendo favorecer a contaminação.

Palavras-chave: contaminação bacteriana; colheita de sangue; desinfecção.

ABSTRACT

Bacterial contamination related to transfusion of blood components is an important source of infection. Antisepsis is the prevention of sepsis by exclusion, destruction or inhibition of growth or multiplication of tissue's microorganisms. The objective of this study was to evaluate and compare the bacterial reduction potential provided by chlorhexidine degermant,

topical chlorhexidine and 70% alcohol and to standardize skin antiseptics for blood collection from donor dogs. One hundred and twenty skin swabs from the jugular region of 20 dogs were evaluated, which were distributed in six treatments (T) according to the agent used for disinfection associated with the local trichotomy: T1 - Treatment without trichotomy and without antiseptics, T2 - Treatment Clorexidine 2% + alcohol 70% without trichotomy, T4 - Treatment with trichotomy and without antiseptics, T5 - Treatment chlorhexidine 2% + chlorhexidine alcoholic 0.5% with chlorhexidine degermante 2% + alcoholic chlorhexidine 0.5% without trichotomy, T3 - Treatment Trichotomy, T6 - Treatment chlorhexidine 2% + alcohol 70% with trichotomy. The antiseptics were done with lint, continuously in a single direction for 1.5 minutes for each antiseptic, totaling 3 minutes of antiseptics. The antiseptics were done continuously in a single direction for 1.5 minutes for each antiseptic, totaling 3 minutes of antiseptics. The swabs were cultured in BHI broth and later on blood agar and the microorganisms identified on Macconkey agar and staining of gram. The use of antiseptics was effective in the groups with and without trichotomy, showing no bacterial growth. In the control treatments T1 and T4 (without antiseptics) there was bacterial growth in all the samples, with predominance of gram positive cocci with the percentage of 85% and 75% respectively. The efficacy of 100% of the technique used in the present study may be due to the longer time of antiseptics, the association of antiseptics and the use of chlorhexidine degermante of 2% concentration. It is concluded that the antiseptics protocols performed in this study can be safely used for blood collection of dogs, although trichotomy prior to antiseptics is still recommended, since the animal's hair can accumulate dirt and microorganisms and this may favor contamination.

Key words: bacterial contamination; blood collection; disinfection.

INTRODUÇÃO

A contaminação bacteriana relacionada à transfusão de hemocomponentes é uma das principais preocupações na prática hemoterápica, sendo atualmente a principal causa de infecção relacionada à transfusão de sangue (BRECHER & HAY, 2005). Métodos para prevenção da contaminação bacteriana do sangue coletado se baseiam principalmente na antisepsia cutânea do doador e no desvio do fluxo inicial do sangue durante a coleta (PEREZ et al., 2002).

Antisepsia é a prevenção da sepse por exclusão, destruição ou inibição do crescimento ou multiplicação de microrganismos de tecidos e fluidos corporais (FOSSUM, 2013). A descontaminação de tecidos vivos vem ganhando atenção, principalmente pela conscientização dos profissionais de saúde sobre a importância do paciente como fonte primária de infecção, uma vez que os microrganismos vivem na superfície cutânea, especialmente na camada córnea, e também no interior das glândulas sudoríparas, sebáceas e folículos pilosos (RODRIGUES et al., 1997). O conhecimento das vias de transmissão de microrganismos causadores de infecção e a identificação dos tipos de bactérias envolvidas com a contaminação permite reduzir a ocorrência e gravidade dessas infecções (SLATTER,

1993).

A flora transitória é composta por contaminantes ambientais recentes, que sobrevivem por curtos períodos na pele. Microrganismos residentes, como *Staphylococcus coagulase* negativa, *Corynebacterium* sp., *Propionibacterium* sp., *Acnetobacter* sp. e certos membros do grupo *Klebsiella Enterobacter* não podem ser removidos pela simples lavagem, requerendo o uso de soluções com propriedades antimicrobianas. Um antisséptico adequado deve exercer a atividade germicida sobre a flora cutâneo-mucosa em presença de sangue, soro, muco ou pus, sem irritar a pele ou as mucosas (SILVA et al., 2000).

As três principais formulações de antissépticos existentes no mercado são: aquosa, alcoólica, detergente ou degermante. As formulações aquosas apresentam como veículo a água estéril e são utilizadas principalmente na antisepsia de mucosas. As soluções alcoólicas são utilizadas para antisepsia de pele íntegra e as soluções detergentes, por sua vez, são indicadas para remoção de impurezas da superfície da pele (CELERE, 2011).

Apesar da doação de sangue para bancos de sangue de Cães e a prática da Medicina Transfusional terem se tornado cada dia mais frequente, a padronização de procedimentos antes da colheita ainda é muito escassa. O maior agravante é que o sangue colhido contaminado ficará armazenado podendo levar à proliferação de microrganismos. O paciente que receberá o sangue, geralmente está em estado grave e imunossuprimido, aumentando o risco de sepse e óbito (PEREIRA & RAMALHO, 2001). Desta forma, a pesquisa por protocolos eficazes de antisepsia se faz necessária, haja vista que a maior fonte de contaminação do sangue armazenado é decorrente de bactérias presentes na pele no momento da venipunção.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar e comparar o potencial de redução bacteriana proporcionado pela clorexidina degermante, clorexidina tópica e álcool 70% e padronizar a antisepsia de pele para colheita de sangue de doadores caninos.

Material e Métodos

O projeto foi previamente aprovado pelo comitê de ética animal (CEUA), registrado sob nº 74989.2015.74. Foram avaliados 120 swabs de pele de cães. Utilizaram-se hastes flexíveis de algodão lavados e estéreis embebidos em 0,5ml de solução salina estéril. Os swabs de pele foram realizados na região da jugular de 20 cães e foram distribuídos em seis tratamentos (T) de acordo com o agente usado para desinfecção associado ou não a tricotomia local conforme a quadro 1.

Quadro 1 - Tratamentos de acordo com o antisséptico utilizado associado ou não a tricotomia.

Tratamentos	Antissépticos	Tricotomia
T1	Sem antissepsia	Sem tricotomia
T2	Clorexidine 2% + Clorexidine alcoólico 0,5%	Sem tricotomia
T3	Clorexidine 2% + álcool 70%	Sem tricotomia
T4	Sem antissepsia	Com tricotomia
T5	Clorexidine 2% + Clorexidine alcoólico 0,5%	Com tricotomia
T6	Clorexidine 2% + álcool 70%	Com tricotomia

Os tratamentos T2 e T3 foram realizados na região da jugular direita, em que T2 ocorreu na porção cranial e T3 na porção caudal. Os tratamentos T5 e T6 ocorreram nas porções cranial e caudal respectivamente da região da jugular esquerda.

A antissepsia foi feita com gaze, de forma contínua em um único sentido, durante 1,5 minutos para cada antisséptico, totalizando três minutos de antissepsia. Os swabs foram cultivados em caldo BHI (Brain Heart Infusion, Neogen Corporation®) permanecendo 24 a 72 horas em estufa de cultura 002 CB – Fanem LTDA® à 37°C. Foi observado se houve crescimento bacteriano no caldo BHI através da avaliação da turbidez do mesmo.

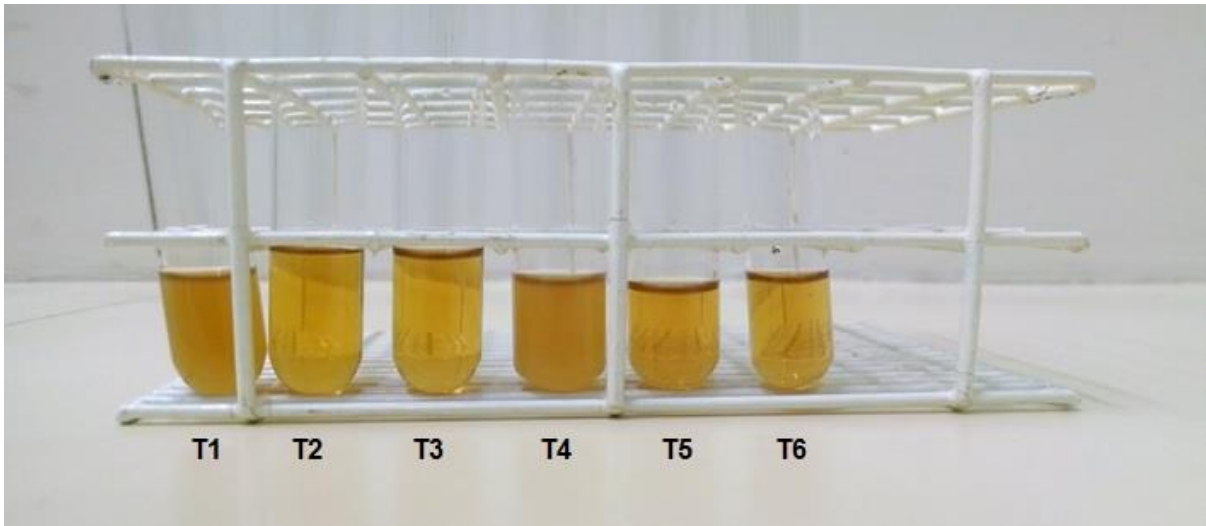
As amostras positivas foram semeadas em Ágar sangue (Nutrient Agar – Himedia® e sangue de carneiro) e Ágar Macconckey (MacConkey Agar - Himedia®) (QUINN et al., 2005) e ficaram 24 horas em estufa à 37°C (OLIVEIRA, 2000). Após este período, os microrganismos foram identificados por meio da coloração de gram (OLIVEIRA, 2000).

Resultados e Discussão

Os grupos com o uso de antissépticos foram eficazes com e sem tricotomia. Não houve crescimento bacteriano no caldo BHI após a incubação por 24 a 72 horas dos grupos com o uso de antissepticos (Figura 1). Entretanto, nos grupos controles T1 e T4, em que a antissepsia não foi realizada, houve crescimento bacteriano em todas as amostras, com predomínio de cocos gram positivos com a porcentagem de 85% no grupo T1 e 75% no T4.

Estes isolados bacterianos foram semelhantes aos encontrados por SWAIM et al. (1991), e CELERE (2011), que ao examinarem a microflora presente em caninos e humanos respectivamente, encontraram um maior número de bactérias gram-positivas. As características individuais de cada animal e o meio ambiente em que vivem são fatores contribuintes para o aumento ou diminuição da carga microbiana da pele e para a variação do gênero e espécie dos microrganismos encontrados (FONSECA, 2009).

Figura 1: Comparação do crescimento bacteriano entre os grupos T1-T6 após cultivo caldo BHI com período de 24 horas de incubação. Observa-se turbidez do grupo T1 e T4 compatível com crescimento bacteriano, enquanto os demais grupos apresentaram conteúdo límpido que representa ausência de crescimento bacteriano.



Fonte: próprio autor.

Neste estudo, os protocolos de antissepsia utilizados reduziram em 100% o número de bactérias presentes na pele dos cães sem tricotomia. Porém, segundo PAVLETIC (2012), a presença do pelo do animal é uma barreira física, dificulta a antissepsia e pode reter sujidades e microrganismos. A tricotomia é um procedimento importante e visa diminuir os riscos de contaminação decorrente da colheita de sangue em doadores caninos, aumentando a segurança transfusional.

ARCOS & GOLDMAN (2010), realizaram um estudo em que avaliaram protocolos de antissepsia em humanos, utilizando Gluconato de Clorexidina 2% + Alcool 70% e Tintura de iodo 2% + álcool 70% e obtiveram 99% de redução bacteriana, embora os resultados mais significativos foram com o uso do primeiro protocolo.

Segundo ALTEMEIER (1991), em concentrações apropriadas, o álcool é um anti-séptico extremamente rápido e eficaz na redução do número de microrganismos encontrados na pele, destrói tanto pela desnaturação proteica, quanto pela interferência no metabolismo microbiano (OLIVEIRA, 2005). Para MORIYA & MÓDENA (2008), os álcoois etílicos e isopropílicos, em concentrações de 70% a 92% exercem ação germicida quase imediata, porém, sem nenhuma ação residual e ressecam a pele em repetidas aplicações.

As soluções contendo o composto clorexidina, possui alto nível de atividade antimicrobiana, por apresentar ação rápida de aproximadamente 15 segundos após a

aplicação, por possuir um amplo espectro de ação contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Além disso, apresenta baixa toxicidade (DENTON, 2001). Neste estudo, o álcool 70% e a clorexidine 2% foram utilizados de maneira combinada e mostraram-se eficientes na eliminação das bactérias presentes na pele dos cães.

Muitos fatores podem limitar a qualidade da redução bacteriana da técnica utilizada, dentre estes, pode-se destacar o tipo de antisséptico, a concentração e a forma de aplicação (ARCOS & GOLDMAN, 2010; BUENO, 2010). Sendo assim, a eficácia de 100% da técnica utilizada no presente trabalho com o clorexidine degermante 2% + álcool 70% e clorexidine degermante 2% + clorexidine alcoólico 0,5%, pode ser decorrente do maior tempo de antissepsia, associação de antissépticos e o uso do clorexidine degermante de concentração 2%. MCDONALDS (2001), recomenda que para se obter uma antissepsia eficaz é necessária a utilização de antissépticos de maneira combinada. Segundo PEREIRA et al. (1990), quanto maior o tempo de contato do gluconato de clorexidine, maior será a redução das unidades formadoras de colônias (UFC), resultando em maior atividade residual.

Conclusão

Conclui-se que a eficácia da antissepsia realizada nesse estudo, com 100% de redução bacteriana, se deve ao uso combinado de antissépticos, a utilização da clorexidina na concentração de 2% e ao tempo prolongado de 3 minutos do procedimento.

Embora os protocolos apresentados nesse estudo possam ser utilizados com segurança para a colheita de sangue de cães, ainda o recomendado é a tricotomia antes da antissepsia, visto que o pelo do animal pode acumular sujidades e microrganismos, dificultando ainda mais a antissepsia.

Referências

- ALTAMEIER, W.A. Surgical antiseptics. Block SS. Disinfection, Sterilization, and Preservation, 4ed. Philadelphia: Lea&Febiger, n.26, p.493-504. 1991
- ARCOS, S.R.; GOLDMAN, M. Skin disinfection methods: prospective evaluation and postimplantation results. Transfusion, Baltimore, v.50, n.1, p.59-64. 2010.
- BRECHER, M.E, HAY, S.N. Bacterial contamination of blood components. Clin Microbiol Rev, v.18, p.195-204, 2005.
- BUENO, J.L. Skin disinfection and bacterial contamination of blood components: be simple. Transfusion, v. 50, n.1, p.5-8, 2010.

- CELERE, M.S. Determinação da atividade antimicrobiana de duas técnicas de antissepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue. 2011. 109f. Dissertação (mestrado) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- DENTON, G.W. Chlorhexidine. In: BLOCK, S.S. Disinfection Sterilization, and Preservation. 5ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Willis, 2001, p.321-335.
- FONSECA, L.G.; LANGHI JUNIOR, D.M.; CARVALHO, L.R.B.; MIMICA, L.M.J. et al. Avaliação da antissepsia cutânea por quatro métodos em doadores de sangue. Rev. Bras. Hematol. Hemoter, vol.31, n.1, p.5-8, 2009
- MCDONALD C.P, LOWE P, ROY A, ROBBINS P. et al. Evaluation of donor arm disinfection techniques. Vox Sang. v.80, n.3, p.135-41, 2001.
- MORIYA, T, MÓDENA, J.L.P. Assepsia e antissepsia técnicas de esterilização Medicina. v.41, n.3, p.265-73, 2008.
- OLIVEIRA, S. J. Microbiologia Veterinária, Guia Bacteriológico Prático. Canoas: ULBRA, 2 a Edição, 2000.
- OLIVEIRA, A.C. Infecções Hospitalares. Epidemiologia, Prevenção e Controle. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.710.
- PAVLETIC, M. M. Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery. Iowa: Wiley-Blackwell, 3ed., 2010, 696p.
- PEREIRA, L.J., LEE, G.M., WADE, K.J. The effect of surgical hand-washing routines on the microbial counts of operating room nurses. Am J Infect Control, v.18, p.354-364, 1990.
- PEREIRA, P. M.; RAMALHO, F. S. Transfusão Sanguínea. Rev Clínica Veterinária, São Paulo, v.6, n.34, p.34-40, 2001.
- PEREZ P.; BRUNEAU, C.; CHASSAIGNE, M.; SALMI, L.R. et al. Multivariate analysis of determinants of bacterial contamination of whole-blood donations. Vox Sang. v.82, n.2, p.55-60, 2002.
- QUINN, P.J.; MARKEY, B K.; CARTER, M.E.; DONNELEY, W.J.C. et al. Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas. Porto Alegre: Artmed, 1ed, 2005. p.512.
- RODRIGUES, E.A.C., MENDONÇA, J.S., AMARANTE, J.M.B. et al. Infecções hospitalares prevenção e controle. São Paulo : Sarvier, 1997. 669p.
- SLATTER, D. Manual de Cirurgia de Pequenos Animais. São Paulo. Manole, 3ed, v.2, 1993. 2830p.
- SILVA, D. A. R. et al. O gluconato de clorexidina ou o álcool-iodo-álcool na anti-sepsia de campos operatórios em cães. Ciência Rural. v.30, n.3, p.431-437, 2000.

SWAIM, S.F.; RIDDEL, K.P.; GEIGER, D.L. Evaluation of surgical scrub and antiseptic solutions for surgical preparation of canine paws. J Am Vet Med Assoc, v.198, n.11, p.1941-1945, 1991.

5 ARTIGO B - Artigo redigido sob as normas de publicação do periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. Disponível em: <http://www.scielo.br/revistas/abmvz/iinstruc.htm#006>. Acesso em: 15/01/2017.

CONTROLE DE QUALIDADE NAS DIFERENTES ETAPAS DE PRODUÇÃO DO CONCENTRADO DE HEMÁCIAS EM CÃES

QUALITY CONTROL IN DIFFERENT STAGES OF PRODUCTION OF RED BLOOD CELLS IN DOGS

Resumo

Durante toda a etapa de produção do sangue existem pontos críticos. Em decorrência disso, devem ser tomadas medidas que visem diminuir as falhas e aumentar a segurança transfusional. O objetivo desse estudo foi realizar o controle de qualidade do concentrado de hemácias após a padronização das etapas de produção do sangue. Para isso realizou-se triagem dos doadores, colheita de bolsas de sangue total, separação de hemocomponentes para obtenção de concentrado de hemácias, armazenamento das bolsas de sangue e avaliação da qualidade das mesmas. Os valores médios (\pm DP) do volume, volume globular, hemoglobina e percentual de hemólise do concentrado de hemácias foram: $299,77 \pm 30,08$ mL, $60,87 \pm 2,60\%$, $20,57 \pm 0,93$ g/dL e $0,09 \pm 0,07\%$ respectivamente. Os valores médios (\pm DP) do volume globular, hemoglobina total percentual de hemólise e hemoglobina por unidade de concentrado de hemácias após o período de armazenamento foram: $57,55 \pm 3,01\%$, $20,30 \pm 0,89$ 0, $20 \pm 0,12\%$, $60,90 \pm 7,65$. As bolsas de concentrado de hemácias ficaram dentro dos parâmetros de controle de qualidade estabelecidos pela legislação do Ministério da Saúde em humanos, em que o volume globular deve estar entre 50% a 70%, o percentual de hemólise até 0,8%, a hemoglobina por unidade acima de 40 g/unidade. Os resultados obtidos possibilitaram concluir que a padronização das etapas de produção do sangue envolve desde a seleção de doadores até o final do armazenamento e é necessária para produzir concentrado de hemácias com qualidade. O controle de qualidade visa encontrar possíveis falhas nos procedimentos para que sejam reparadas, aumentando a segurança transfusional, tendo em vista o estado crítico do paciente que necessita da transfusão sanguínea.

Palavras chave: banco de sangue, hemocomponentes, medicina transfusional.

Abstract

The objective of this study was to perform the quality control of red blood cells after standardization of blood production stages. For this purpose, donor screening, whole blood packets collection, separation of blood components to obtain red blood cells, storage of blood packets and evaluation of blood quality were performed. The mean (\pm SD) volume, globular volume, hemoglobin and hemolysis percentage of red blood cell concentrate were: 299.77 ± 30.08 mL, $60.87 \pm 2.60\%$, 20.57 ± 0.93 g / DL and $0.09 \pm 0.07\%$ respectively. The mean (\pm SD) of the volume, globular volume, total hemoglobin percentage of hemolysis and hemoglobin per unit of packed red blood cells after the storage period were: $57.55 \pm 3.01\%$, 20.30 ± 0.89 0, $20 \pm 0.12\%$, 60.90 ± 7.65 . Red blood cell packets were within the parameters of quality control established by the Ministry of Health legislation in humans, in which the globular volume should be between 50% and 70%, the percentage of hemolysis up to 0.8%, hemoglobin per unit above 40 g / unit. The results obtained allow us to conclude that the standardization of blood production stages involves selection of donors until the end of

storage and is necessary to produce quality red blood cells. Quality control aims to find possible flaws in the procedures to be repaired, increasing transfusion safety, considering the critical condition of the patient who needs the blood transfusion.

Key words: blood bank, blood components, transfusion medicine.

Introdução

Os avanços da transfusão sanguínea na medicina veterinária e a utilização de componentes sanguíneos, tem tornado essa prática mais comum, levando ao aumento do número de bancos de sangue veterinários e com isso uma maior preocupação com a qualidade dos produtos sanguíneos ofertados (Barros, 2011).

Estudos anteriores em medicina transfusional preocupavam-se principalmente com o receptor do sangue, porém, o sucesso da transfusão também depende da boa saúde do doador de sangue e da qualidade dos hemocomponentes. Portanto, é essencial a utilização de componentes seguros, obtidos de acordo com protocolos padronizados, a fim de minimizar os danos às hemácias e diminuir o risco de reações transfusionais (Ferreira *et al.*, 2014).

O sangue total e o concentrado de hemácias são os componentes sanguíneos mais utilizados em cães. Embora os melhores procedimentos para a colheita de sangue, processamento e armazenamento de concentrado de hemácias canino tenham sido relatados por diversos autores, alguns pontos críticos que abrangem todas as etapas do ciclo do sangue ainda podem ser identificados, como a seleção de um doador com alguma doença infecciosa, a contaminação bacteriana durante a colheita, o processamento inadequado do sangue ocasionando hemólise, entre outros (Lucas *et al.*, 2004; Ford e Mazzaferro, 2006; Abrams-Ogg, 2012).

Segundo Ferreira *et al.* (2014), os bancos de sangue humanos possuem um rigoroso controle de qualidade dos hemocomponentes a fim de identificar não conformidades durante a colheita, o processamento e armazenamento do sangue. Na medicina veterinária, não há nenhum guia com protocolos de controle de qualidade bem estabelecido. Ainda hoje, os parâmetros humanos são utilizados como referência na avaliação da qualidade das bolsas de sangue (Barros, 2011; Marchi; Martins; Pereira, 2015). O objetivo deste estudo foi realizar o controle de qualidade do concentrado de hemácias após a padronização das etapas de produção do sangue.

Material e Métodos

O projeto foi previamente aprovado pelo comitê de ética animal (CEUA), registrado sob nº 74989.2015.74. Antes do início das colheitas, foi elaborado um manual de procedimentos para o Laboratório de Medicina Transfusional do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (Dainese e Nunes, 2007)

Foram colhidas 30 bolsas de sangue de cães doadores, no período de abril a setembro de 2016. Os animais foram triados de acordo com: idade, comportamento, peso, anamnese, exame físico e exames laboratoriais.

Os cães doadores aptos tinham idade entre 2 e 8 anos; eram dóceis e calmos, aceitando contenção física; pesavam mais de 28 kg sem ser obesos. Estavam fisicamente saudáveis, não apresentavam lesões de pele e queixas de doenças pelos guardiões, não tinham alterações no hemograma e nos exames bioquímicos como ureia, creatinina, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, albumina, proteína total e glicose. Além disso, os exames de reação em cadeia da polimerase (PCR) para *Erlichia sp.* e *Babesia sp.* e sorologia para *Leishmania sp.* foram negativos.

Realizou-se tricotomia na região da veia jugular seguida da antissepsia com gaze e solução degermante de clorexidina 2% + álcool 70%, durante três minutos. A bolsa para colheita de sangue utilizada foi a tripla com SAG-M (Cloreto de sódio, manitol, dextrose monoidratada e adenina) da marca Fresenius®. Foram colhidas bolsas com volume mínimo de 300 mL e máximo de 450 mL de sangue. Os primeiros mililitros de sangue foram desviados para o compartimento acoplado à bolsa para realização de exames. Os cães não foram anestesiados, apenas contidos fisicamente. Antes e após a colheita de sangue, os doadores foram agraciados com petiscos para cães.

Logo após a colheita da bolsa de sangue total, realizou-se a homogeneização e retirada uma amostra para avaliação do volume globular e hemoglobina. As bolsas de sangue total ficaram em repouso em superfície fria e limpa por 1 hora até a centrifugação.

O sangue foi fracionado para se obter dois hemocomponentes: concentrado de hemácias e plasma congelado. Para isso, foi utilizado o protocolo de centrifugação de 4.200 g, durante 10 minutos a 22 graus célsius com aceleração nove e freio cinco na centrífuga Heraeus Cryofuge 5500i – Thermo Scientific®.

A separação dos componentes sanguíneos foi realizada com o extrator manual de plasma da Hemoblu®. Logo após a solução preservativa de SAG-M (100 mL) foi adicionada ao concentrado de hemácias. A bolsa foi homogeneizada para retirada de uma amostra para a análise do volume globular (VG), hemoglobina total (HB) e hemoglobina extracelular.

O concentrado de hemácias ficou armazenado em refrigerador comum (Pratice 230 - Consul®) exclusivo para esta finalidade até o momento da transfusão sanguínea. Por motivo de alta demanda de transfusões, as bolsas foram sendo utilizadas quando solicitadas na rotina hospitalar. Sendo assim, foram avaliadas bolsas armazenadas de 4 horas a 28 dias. Durante o tempo de armazenamento, a temperatura da geladeira foi conferida em um termômetro de máxima e mínima, uma vez ao dia. A temperatura foi regulada sempre que necessário para manter-se entre 2°C a 6°C.

Os testes laboratoriais utilizados para avaliar a qualidade das bolsas de concentrado de hemácias foram baseados na Resolução da diretoria colegiada - RDC Nº34 de 11 de junho de 2014 do Ministério da Saúde (MS).

A massa do sangue total e do concentrado de hemácias foi obtida retirando o peso das bolsas com anticoagulante do valor final das bolsas pesadas com sangue (em gramas). O volume em mililitros foi obtido dividindo a massa do sangue pela densidade do mesmo, sendo 1.053 para sangue total (Kakaiya, 2011) e 1.065 para concentrado de hemácias (Sakuma *et al.*, 2011).

Os valores do volume globular e da hemoglobina total (g/dl) foram obtidos pelo aparelho hematológico (Poch 100iv Diff). A determinação da quantidade de hemoglobina em g por concentrado de hemácias foi realizada por meio do cálculo: $Hb(g/CH) = Hb(g/dl) \times Vol(dl)$ (Sakuma *et al.*, 2011)

Para determinar a hemoglobina extracelular, o plasma sobrenadante foi retirado após centrifugação de 1252g por 10 minutos. A amostra foi lida em aparelho de espectrofotometria Evolution 60S – Thermo Scientific® utilizando água destilada como branco em diluição 1:10. As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 370, 415, 510, 577 e 600 nm. (Toulmond, *et al.*, 1990).

A determinação do percentual de hemólise, em unidades de concentrado de hemácias e sangue total foi realizada pela aplicação de fórmula matemática que emprega o hematócrito, hemoglobina extracelular e hemoglobina total (g/dL): $\% \text{ Hemólise} = (100 - Ht \times Hbe)/Hb$ (Tomczak, 2008).

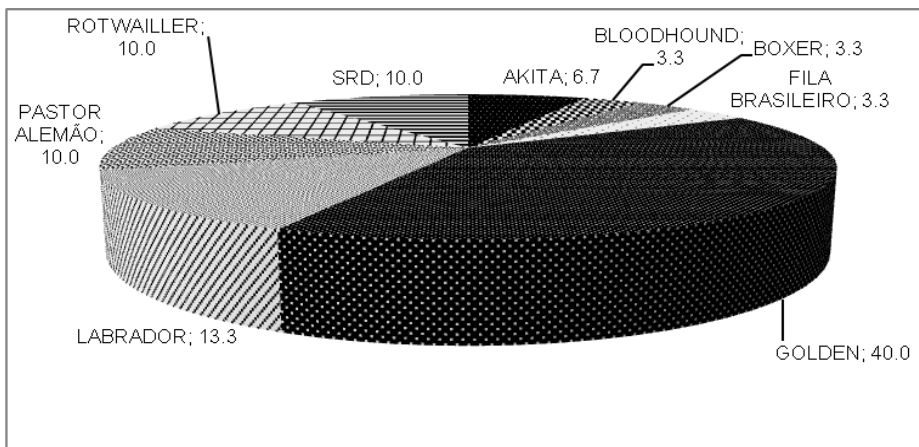
A análise microbiológica das bolsas de concentrado de hemácias foi realizada por meio do kit de hemocultura Hemobac Trifásico® aeróbio e anaeróbio. A hemocultura das bolsas também foi realizada em caldo BHI (Brain Heart Infusion, Neogen Corporation®) na proporção de 1:5 (5ml de sangue para 45 ml do caldo), antes e no final da transfusão sanguínea.

Os dados foram testados para normalidade pelo teste de Shapiro wilks. Foi feita análise de regressão para as variáveis do concentrado de hemácias em relação ao volume. Os dados do concentrado de hemácias após o período de armazenamento foram estudados por meio da análise de regressão em relação ao tempo de armazenamento. Considerou-se uma probabilidade de erro de 5% para todas as análises por meio do pacote computacional R para análise dos dados.

Resultados e Discussão

Diversos grupos raciais foram utilizados no projeto (Figura 1) e todos os cães apresentaram-se dentro dos padrões esperados. As médias e desvio padrão para peso e idade foram de $35,04 \pm 4,40$ kg e $4,30 \pm 1,60$ anos respectivamente.

Figura 1 – Número porcentual de animais doadores quanto á raça.



Os animais estavam saudáveis ao exame físico e sem alterações nos exames laboratoriais. Todos tiveram resultado negativo nos exames de sorologia para *Leishmania sp.*, assim como nos exames de PCR para *Ehrlichia sp.* e *Babesia sp.* Verificou-se que tanto o VG como a HB dos doadores (Tabela 1) estavam dentro do valor de referência para a espécie (37% a 55%, 12g/dl a 18g/dl, respectivamente), em que todos os doadores apresentaram VG acima de 42% (WEISS e WARDROP, 2010).

As médias e desvios padrão dos volumes das bolsas de sangue total e do concentrado de hemácias estão na Tabela 1. Ferreira *et al.* (2014), colheram 235 bolsas de sangue de cães, em que a média dos volumes das bolsas de sangue total foi de 349mL, variando de 218mL a 580mL. No mesmo estudo, bolsas com volume inferior a 300mL foram colhidas de cães de 15kg a 25kg, retirando de 13% a 15% de sangue do animal e ajustando a quantidade proporcional de anticoagulante da bolsa (63mL de anticoagulante para 450mL de sangue).

Tabela 1 - Médias e desvios padrão para as variáveis observadas no sangue total, no concentrado de hemácias e no concentrado de hemácias após o período de armazenamento. Londrina, 2016.

Etapa	Variável	Média±DP
Sangue Total	Volume (ml)	410,73±43,95
	VG(%)	39,56±4,63
	HB(g/dl)	13,52±1,50
Concentrado de hemácias (Bolsa tripla com SAG-M)	Volume (ml)	299,77±30,08
	VG(%)	60,87±2,60
	HB(g/dl)	20,57±0,93
	Hemólise(%)	0,09±0,07
Concentrado de hemácias após o período de armazenamento (Bolsa tripla com SAG-M)	HBCH (g/unidade)	61,7±8,00
	VG(%)	57,55±3,01
	HB(g/dL)	20,30±0,89
	Hemólise(%)	0,20±0,12
	HBCH(g/unidade)	60,90±7,65

VG: Volume globular (%); HB: Hemoglobina (g/dl); Hemólise: Percentual de hemólise (%); HBCH: Hemoglobina do concentrado de hemácias (g/unidade).

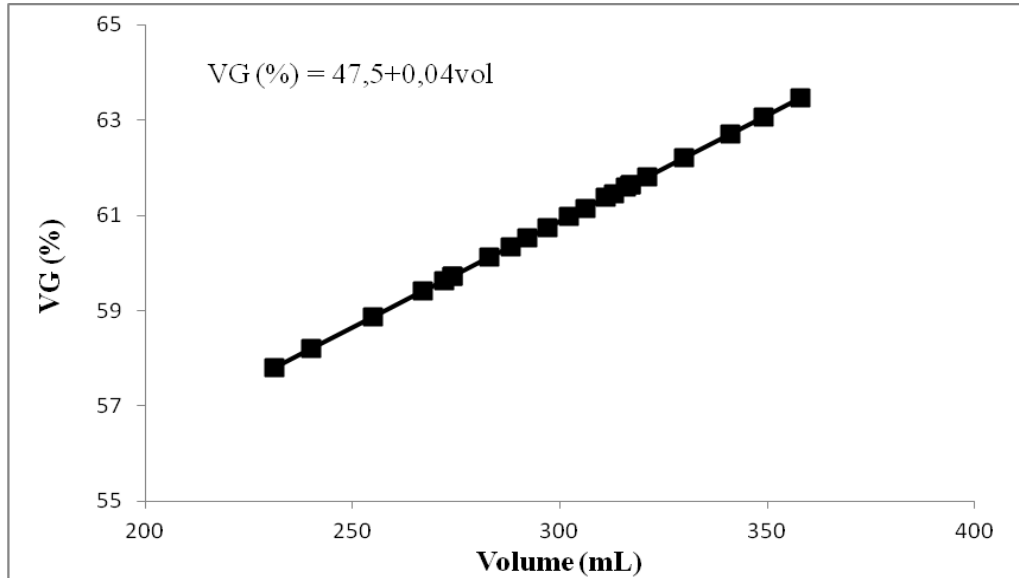
Nesse estudo, optou-se por não aproveitar bolsas colhidas com volume inferior a 300mL seguindo instruções do fabricante da bolsa (Fresenius®). Houve variação de 304 mL a 455mL de sangue devido à movimentação do animal, por perda do acesso ou diminuição do fluxo sanguíneo durante a colheita. Na medicina, segundo RDC N°34 de 11 de junho de 2014 do MS, bolsas de sangue total com volume menor que 300mL devem ser desprezadas. Bolsas com volume entre 300mL a 404mL aproveita-se apenas o concentrado de hemácias e se despreza o plasma.

Em bolsas de concentrado de hemácias com SAG-M, nos volumes inferiores a 320mL deve-se avaliar a hemoglobina do concentrado de hemácias, que deve ser superior a 45 g/unidade para que a bolsa seja aceita para uso (MS, 2014). Neste estudo, o volume do CH variou de 231mL a 358mL e a hemoglobina do concentrado de hemácias foi superior a 47,52 g/unidade em todas as bolsas analisadas (médias na Tabela 1).

Foi avaliado se há influência do volume do concentrado de hemácias sobre o VG, HB total, percentual de hemólise e hemoglobina (g/unidade). Observou-se que o volume influenciou significativamente no resultado do VG, da HB total e da hemoglobina g/unidade de forma crescente, ou seja, bolsas com maior volume tiveram valores mais elevados de VG (Figura 2), HB total (Figura 3) e hemoglobina g/unidade (figura 4). O volume não influenciou significativamente o percentual de hemólise, dado não mostrado. Ferreira *et al.* (2014),

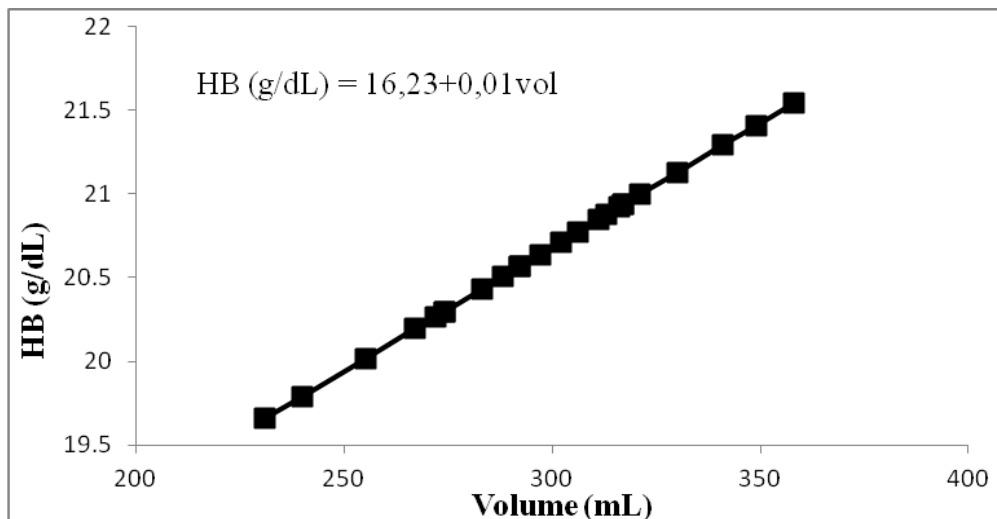
também não observaram relação significativa entre o volume com o percentual de hemólise do concentrado de hemácias.

Figura 2 – Análise de regressão do volume globular (%) em relação ao volume das bolsas de concentrado de hemácias.



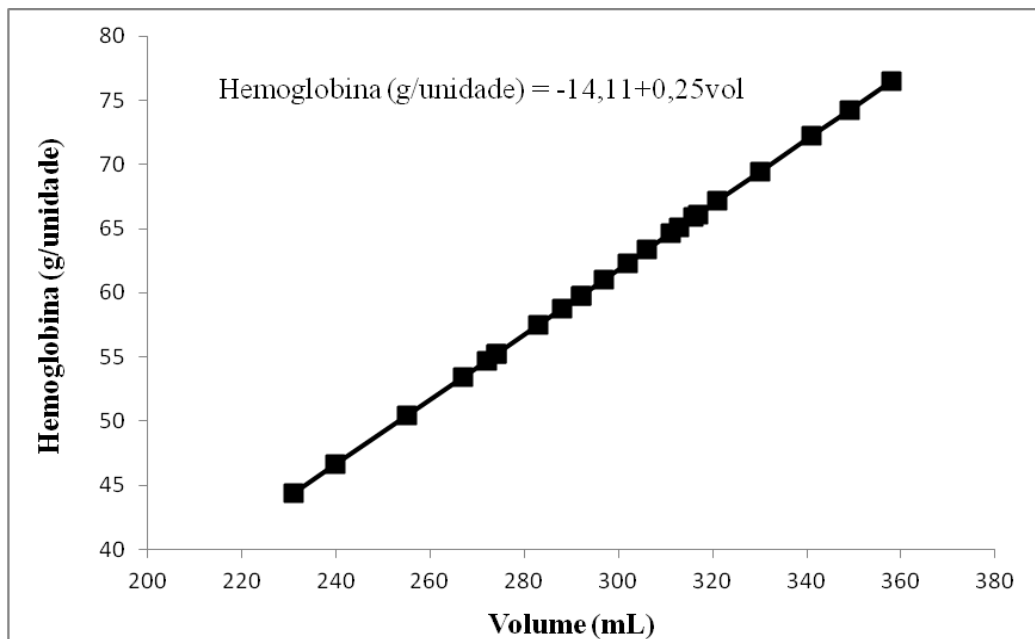
VG: Volume globular (%) do concentrado de hemácias com SAG-M após a centrifugação; $p=0,003$.

Figura 3 – Análise de regressão da hemoglobina total (g/dL) em relação ao volume das bolsas de concentrado de hemácias.



HB: Hemoglobina do concentrado de hemácias com SAG-M após a centrifugação; $p=0,007$.

Figura 4 – Análise de regressão da hemoglobina (g/unidade) em relação ao volume das bolsas de concentrado de hemácias.



$p < 0,001$.

O volume do concentrado de hemácias influencia significativamente VG e HB total e hemoglobina (g/unidade), pois após a centrifugação o plasma é retirado, então quanto maior o volume da bolsa e maior a porcentagem do volume globular da mesma, mais hemácias vão ser misturadas com os 100mL da solução preservativa, diminuindo a diluição e resultando em maiores valores destas variáveis estudadas.

O protocolo de centrifugação utilizado de 4.200 g, durante 10 minutos a 22°C, com aceleração nove e freio cinco, obteve VG, HB total, percentual de hemólise e hemoglobina (g/unidade) do CH satisfatórios (tabela1). Portanto, este protocolo foi padronizado para a separação do concentrado de hemácias de cães. Atualmente existem vários protocolos de centrifugação do sangue total de cães. (Ferreira *et al.*, 2014). Feldman e Sink (2008), recomendam a centrifugação a 5.000g durante 5 minutos com temperatura entre 1°C a 6°C. Wardrop; Tucker; Mugnai (1997), utilizaram centrifugação de 4.200g por 6 minutos à 4°C e observaram em média volume globular de 63% e percentual de hemólise de 0,07%. A pequena variação dos resultados dos autores acima citados e deste presente estudo, pode ser devido ao tempo de centrifugação, em que neste estudo foi maior (10 minutos).

A centrifugação do sangue total é um ponto crítico, podendo acarretar em hemólise. Segundo Ferreira, *et al.* (2014), maiores velocidades e tempo de centrifugação aumentam o percentual de hemólise. Para Sakuma *et al.* (2011), cada banco de sangue deve padronizar seu

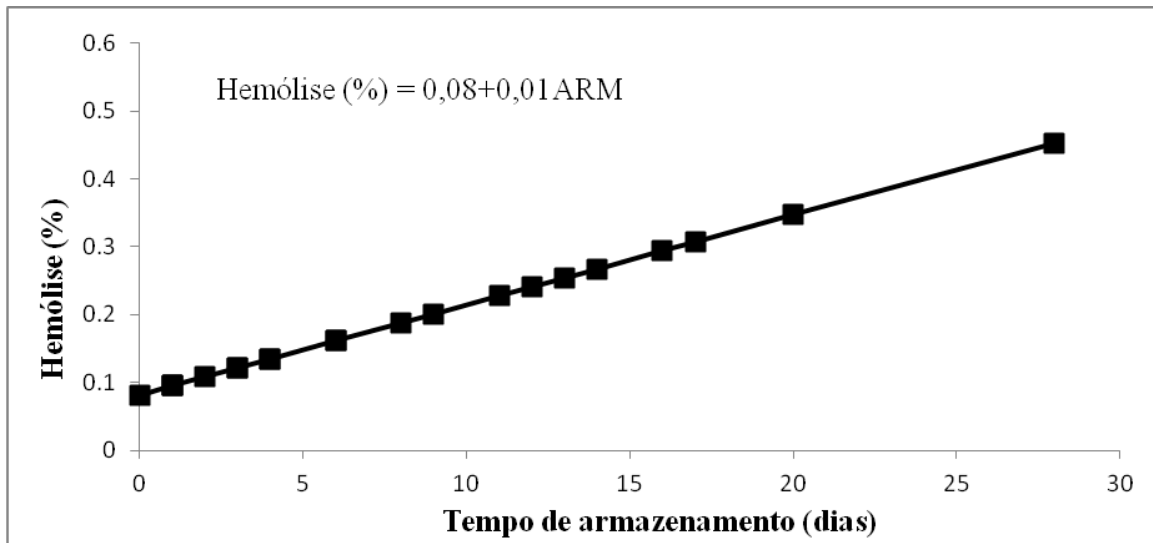
próprio protocolo de centrifugação, desde que haja um controle da qualidade dos produtos sanguíneos.

Em humanos o tempo de armazenamento é de no máximo 42 dias, como é exigido pelo MS (2014). Na medicina veterinária não existem regras estabelecidas quanto ao tempo de armazenamento, as bolsas são armazenadas de 28 a 35 dias, dependendo da solução preservativa e tipo de geladeira utilizada (Wardrop, 1995; Obrador *et al.*, 2015). As bolsas deste estudo ficaram armazenadas em média (\pm DP) $8,83 \pm 6,73$ dias.

O Ministério da Saúde recomenda que o controle de qualidade deve ser realizado em 1% da produção mensal ou em 10 bolsas de concentrado de hemácias por mês, o que for maior. Devido ao número reduzido de doadores e o estoque de sangue não ser suficiente para atender a demanda, o período de armazenamento das bolsas de sangue de cães acaba sendo mais curto. Então, recomenda-se que as amostras para as análises do controle de qualidade sejam colhidas antes do início da transfusão sanguínea, para que seja possível avaliar a qualidade da bolsa quanto ao período em que ficou armazenada, além de aproveitar a abertura da bolsa para colheita das amostras do controle de qualidade.

Foi verificada a influência do tempo de armazenamento sobre as variáveis VG, HB, percentual de hemólise (%) e hemoglobina do concentrado de hemácias (g/unidade). Observou-se que o tempo de armazenamento somente teve efeito significativo no percentual de hemólise e de forma crescente (Figura 5). Tomczak *et al.* (2010), obteve resultados similares em humanos, em que maiores tempos de armazenamento, levaram a percentuais de hemólise mais altos, ao passo que o hematócrito e a hemoglobina não sofreram alterações significativas.

Figura 5 – Análise de regressão do percentual de hemólise (%) das bolsas de concentrado de hemácias em relação ao tempo de armazenamento.



ARM: Período de armazenamento. $p < 0,001$.

A média (\pm DP) da temperatura mínima do refrigerador foi de $2,9^{\circ}\text{C} \pm 1,007$ e a média da temperatura máxima de $4,9^{\circ}\text{C} \pm 1,010$. A temperatura ideal de armazenamento varia entre 2 a 6°C (RDC 34 /2014), para Scott *et al.* (2005), a temperatura do refrigerador pode variar de 1 a 6°C levando à redução na velocidade das reações bioquímicas e moleculares das hemácias. Segundo Hogman (1997), as hemácias humanas podem ser mantidas em refrigeração entre 2 a 8°C , em que diminuem em até 40% o metabolismo, retardando o processo de envelhecimento natural.

O controle de qualidade das bolsas de CH após o período de armazenamento mostrou-se satisfatório (tabela 1), visto que todos os parâmetros avaliados ficaram dentro do estipulado pelo MS (2014), em que o VG deve estar entre 50% a 70%, a hemoglobina (g/unidade) deve ser maior que 40g/unidade, o percentual de hemólise não deve ser superior a 0,8%.

Entretanto, a legislação também preconiza que 100% das análises microbiológicas das bolsas sejam negativas (MS, 2014). Nesse estudo uma das análises microbiológicas deu positivo no kit de hemocultura Hemobac trifásico® aeróbio, confirmada mediante cultura em caldo BHI antes e após o início da transfusão sanguínea, com o crescimento da bactéria *Staphylococcus coagulase negativa*. Não houve crescimento em nenhum Hemobac trifásico® anaeróbio.

Houve crescimento bacteriano no caldo BHI da análise de uma bolsa de sangue após o término da transfusão, em que a análise pré-transfusão tanto em BHI, quanto no Hemobac trifásico® aeróbio deram negativo, sugerindo que houve contaminação na bolsa durante a

transfusão sanguínea, com duração de 4 horas. A bactéria identificada foi a *Staphylococcus* coagulase negativa.

Após o resultado da análise microbiológica, os pacientes que receberam as bolsas com contaminação bacteriana foram identificados. Ambos estavam recebendo antibiótico terapia (Doxicilina e Enrofloxacina) devido doença primária e mantiveram-se estáveis e sem complicações até a alta médica. Para Kessler *et al.* (2010), os pacientes que necessitam receber transfusões sanguíneas são frequentemente debilitados e/ou imunocomprometidos, portanto, a transmissão de microrganismos pode levar a uma complicação grave na terapia transfusional.

A literatura médica relata a prevalência de 0,04% a 2% de contaminação bacteriana em hemocomponentes, dependendo do tipo do componente. Isto pode ocorrer mesmo que sejam tomados todos os cuidados de antisepsia no momento da colheita e com o uso de materiais descartáveis adequados (Engelfriet *et al.* 2000).

Para Brecher (2005), a contaminação de bolsas de sangue pode ter origem da flora normal da pele, uma vez que é muito difícil desinfetar totalmente a pele humana e torna-la asséptica, sendo ainda mais difícil nos animais domésticos (Stefanetti *et al.* 2016). Além disso, a bacteremia assintomática do doador no momento da doação, ou infecções no período de incubação ou de convalescença, que não são referidas pelo guardião durante a triagem clínica, podem também ser a causa de uma contaminação (Lee, 2002; Fonseca, 2009).

Texeira *et al.* (2011), observaram uma prevalência de 63% de *Staphylococcus sp.* em nove hemocomponentes positivos na hemocultura. Para os mesmos autores, existem pontos críticos durante a obtenção do sangue e no preparo dos componentes sanguíneos que podem ser identificados como suscetíveis a causar contaminação bacteriana. As etapas da produção de hemocomponentes desde a seleção de doadores constituem um vasto leque de procedimentos que devem ser executados com atenção e disciplina para a garantia da qualidade.

Os resultados positivos nas análises microbiológicas reafirmam a importância da implementação do controle de qualidade como rotina em bancos de sangue veterinários, pois mesmo que haja padronização nas etapas de produção e cuidados sejam tomados para diminuir os riscos da terapia transfusional, falhas ainda podem acontecer. O controle de qualidade está relacionado com a procura incessante por falhas em procedimentos e rotinas e permite assim, a reparação e a constante busca pelo aperfeiçoamento.

Conclusão

Os resultados obtidos possibilitaram concluir que a padronização das etapas de produção do sangue envolve desde a seleção de doadores até o final do armazenamento das bolsas de sangue e é necessária para produzir concentrado de hemácias com qualidade. O controle de qualidade das bolsas de sangue requer análises laboratoriais hematológicas e microbiológicas visando encontrar possíveis falhas nos procedimentos para que sejam reparadas, aumentando a segurança transfusional, tendo em vista o estado crítico do paciente que necessita da transfusão sanguínea.

Referências Bibliográficas

- ABRAMS-OGG, A.C.G.; SCHNEIDER, A. Principles of canine and feline blood collection, processing and storage. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. *Veterinary Hematology*, 6ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010, p.731-737.
- BARROS, I.O. Avaliação da conservação do sangue total de jumentos (equus asinus) acondicionado em bolsas de sangue do tipo CPDA-1 e CPD/SAG-M. 2011.79f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Rural do Semi-Árido.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. Resolução RDC nº34, de 11 de junho de 2014. Disponível em: http://www.saude.rs.gov.br/upload/1418735690_Resolucao%20%20RDC%20ANVIS%2034_%20de%2011%20de%20junho%20de%202014.pdf. Acesso em: 20 de novembro de 2016.
- BRECHER, M.E.; HAY, S.N. Bacterial contamination of blood components. *Clin Microbiol Rev.*, n.18, p.195–204, 2005.
- DAINESE, S.M.; NUNES, D.B. Procedimentos operacionais padronizados e o gerenciamento de qualidade em centros de pesquisa. *Rev. Assoc. Med. Bras.* v.53, n.1, p.1-12, 2007.
- ENGELFRIET, C.P.; REESINK, H.W.; BLAJCHMAN, M.A.; MUYLLE, L. et al. Bacterial contamination of blood components. *Vox Sang.*, n.78, p.59-67, 2000.
- FELDMAN B.F.; SINK, C.A. Collection, processing, storage and shipment. In: FELDMAN B.F.; SINK, C.A. *Practical transfusion medicine*, 1ed, Teton NewMedia: Jackson, 2008, p.14–37.
- FERREIRA, R. F. R.; GOPEGUI, R. R.; MAIA, S.; MATOS, A. J. F. Laboratory analysis of canine packed red blood cells—effects of collection and processing on haemolysis, haemoglobin concentration, haematocrit and blood culture. **Comp Clin Pathol**, v. 23, n. 5, p. 1395–1401, 2014.
- FONSECA, L.G.; LANGHI JUNIOR, D.M.; CARVALHO, L.R.B.; MIMICA, L.M.J. et al. Avaliação da antisepsia cutânea por quatro métodos em doadores de sangue. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. São Paulo, v.31, n.1, p.5-8, 2009.

FORD, R.B.; MAZZAFERRO, E.M. Emergency care. In: FORD, R. B, MAZZAFERRO, E. M. Kirk and Bistner's handbook of veterinary procedures and emergency treatment, 8 ed. Saunders, St. Louis, 2006. p.1–291.

HOGMAN, C.F.; ERICKON, L. Clinical and laboratory experience with erythrocyte and platelet preparation for 0.5 cdp erythosol opti systems. *Vox Sanguinis*, v.73, p. 212-219, 1997.

HÖGMAN, C.F.; MERYMAN, H.T. Red blood cells intended for transfusion: quality criteria revisited *Transfusion*, Philadelphia, v. 46, n.1, p.137–142, 2006.

KAKAIYA, R.; ARASON, C.A.; JULLEIS, J. Whole blood collection and component processing at blood collection centers. In: Roback, J. D. Technical manual, 17th ed. American Association of Blood Banks, Bethesda, 2011. p.187-226.

KESSLER, R.J.; RANKIN, S.; YOUNG, S. et al. *Pseudomonas fluorescens* contamination of a feline packed red blood cell unit and studies of canine units. *Vet Clin Pathol*. n.39, p.29–38, 2010.

LUCAS, R.L.; LENTZ, K.D.; HALE, A.S. Collection and preparation of blood products. *Clin Tech Small Anim Pract.*, n.19, p.55–62, 2004.

LEE, C. K.; HO, P.L.; CHAN, N.K.; MAK, A. et al. Impact of donor arm skin disinfection on the bacterial contamination rate of platelet concentrates. *Vox Sang*. n.83, p.8-204, 2002.

MARCHI, M.N.; MARTINS, R.R.; PEREIRA, P.M. Controle de qualidade de bolsas de sangue total e concentrado de hemácias de cães. *Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.*, v.2, n.2, p.131-141, 2015.

OBRADOR, R.; MUSULIN, S.; HANSEN, B. Red blood cell storage lesion. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v. 25, n. 2, p.187–199, 2015.

SAKUMA, A.; OTTOBONI, M. A. P.; SIERRA, P. C.; PEREIRA, A. F. Manual para controle de qualidade do sangue total e hemocomponentes. São Paulo: RedSang-SIBRATEC, 2011, p.120.

SCOTT, K. L.; LECAK, J.; ACKER, J. P. Biopreservation of blood cells: past, present and future. *Transfusion Medicine Review*, v. 19, n. 2, p. 127-142, 2005.

STEFANETTI, V.; CAPPELLI, A.M.K.; CAPOMACCIO, S.; SGARIGLIA, E. et al. Detection of bacterial contamination and DNA quantification in stored blood units in 2 veterinary hospital blood Banks. *Vet Clin Pathol*, n.45, v.3, p.406–410, 2016.

TEIXEIRA, M.P.; SIMOES, M.L.M.S.; CORTES, V.F. et al. Prevenção e controle da contaminação bacteriana de hemocomponentes. *R. Enferm. Cent. O. Min.* v.1, n.3, p. 377-385, 2011.

TOMCZAK, A. C. T. Q. Estudos sobre o controle de qualidade de unidades transfusionais eritrocitárias. 2008. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná.

TOMCZAK, A. C. T. Q.; GRILO, K. T. M.; CASTRO, J. M.; MACHADO, A. M. B. et al. Estudo de métodos laboratoriais para o controle de qualidade de unidades transfusionais eritrocitárias no centro de hematologia e hemoterapia do Paraná (Hemepar), Brasil. *Rev. Bras. Hematol. e Hemoter.*, v. 3, n. 3, p. 209-214, 2010.

TOULMOND, A., El Idrissi Slitine, F., de Frescheville, J. and Jouin, C. Extracellular hemoglobins of hydrothermal vent annelids: structural and functional characteristics in three alvinellid species. *Biological Bulletin*, n.179, p.366-373, 1990.

WARDROP, K. J. Selection of anticoagulant-preservatives for canine and feline blood storage. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, n.25, v.6, p.1263–1276, 1995.

WARDROP, K. J.; TUCKER, R.L.; MUGNAI, K. Evaluation of canine red blood cells stored in a saline, adenine and glucose solution for 35 days. *J Veterinary Intern Med*, n.11, p.5–8, 1997.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6ed. Wiley-Blackwell, 2010, 1232p.

6 CONCLUSÃO

- A eficácia da antissepsia realizada nesse estudo, com 100% de redução bacteriana, foi devido ao uso combinado de antissépticos, a utilização da clorexidina na concentração de 2% e ao tempo prolongado de 3 minutos do procedimento.
- Embora os protocolos apresentados nesse estudo possam ser utilizados com segurança para a colheita de sangue de cães, ainda o recomendado é a tricotomia antes da antissepsia, visto que o pelo do animal pode acumular sujidades e microrganismos, dificultando ainda mais a antissepsia.
- Os resultados obtidos possibilitaram concluir que a padronização das etapas de produção do sangue envolve desde a seleção de doadores até o final do armazenamento das bolsas de sangue e é necessária para produzir concentrado de hemácias com qualidade.
- O controle de qualidade das bolsas de sangue requer análises laboratoriais hematológicas e microbiológicas visando encontrar possíveis falhas nos procedimentos para que sejam reparadas, aumentando a segurança transfusional, tendo em vista o estado crítico do paciente que necessita da transfusão sanguínea.
- O manual de procedimentos contribuiu para que os serviços ofertados pelo Laboratório de Medicina Transfusional, ocorrem de forma sistemática e padronizada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS-OGG, A. C. G.; SCHNEIDER, A. Principles of canine and feline blood collection, processing and storage. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Veterinary Hematology**, 6ed. Iowa: Wiley-Blackwell. 2010. p. 731-737.
- ARCOS, S.R.; GOLDMAN, M. Skin disinfection methods: prospective evaluation and postimplantation results. **Transfusion**, Baltimore, v.50, n.1, p.59-64. 2010.
- ALMIZRAQ R; TCHIR, J.D.; HOLOVATI, J.L., et al. Storage of red blood cells affects membrane composition, microvesiculation, and in vitro quality. **Transfusion**, v. 53, n. 10, p. 2258–2267, 2013.
- BARROS, I. O. Avaliação da conservação do sangue total de jumentos (equus asinus) acondicionado em bolsas de sangue do tipo CPDA-1 e CPD/SAG-M. 2011. 79f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Rural do Semi-Árido.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. Resolução RDC nº34, de 11 de junho de 2014. Disponível em: http://www.saude.rs.gov.br/upload/1418735690_Resolucao%20%20RDC%20ANVIS%2034%20de%2011%20de%20junho%20de%202014.pdf. Acesso em: 20 de novembro de 2016.
- BUENO, J.L. Skin disinfection and bacterial contamination of blood components: be simple. **Transfusion**, v. 50, n.1, p.5-8, 2010.
- CALLAN, M. B. Red Blood Cell Transfusions in dog and cat. In: FELDMAN, B. F.; ZINKI, J. G.; JAIN, N. C. Schalm's veterinary hematology. 5ed. Philadelphia: Lippincott Williams; Wilkins, 2000. p.1344.
- CARRAZZONE, C. F. V.; BRITO, A. M.; GOMES, Y. M. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** vol.26 no.2 São José do Rio Preto 2004.
- CASTELLANOS, I.; COUTO, C. G.; GRAY, T. L. Clinical use of blood products in cats: a retrospective study (1997 – 2000). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 18, n. 4, p. 529-532, 2004.
- DELUCA, L.; GLASS, S.; JOHNSON, R.; BURGER, M. Description and evolution of a canine volunteer blood donor program. **J Appl Anim Welf SCI**, n. 9, p. 129-141, 2006.
- DEVIDOW, B. Transfusion medicine in small animals. **Vet Clin Small Anim**, v. 43, n. 6, p.735–756, 2013.
- FELDMAN, B.F.; SINK, C.A. Hemoterapia para o clínico de pequenos animais. São Paulo: Roca, 2007. 104p.
- FERREIRA, R. F. R.; GOPEGUI, R. R.; MAIA, S.; MATOS, A. J. F. Laboratory analysis of canine packed red blood cells—effects of collection and processing on haemolysis,

haemoglobin concentration, haematocrit and blood culture. **Comp Clin Pathol**, v. 23, n. 5, p. 1395–1401, 2014.

FONSECA, L. G., et al. Avaliação da antissepsia cutânea por quatro métodos em doadores de sangue. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v.31, n.1, p.5-8, 2009.

FORD, R. B.; MAZZAFERRO, E. M. Emergency care. In: FORD, R. B, MAZZAFERRO, E. M. **Kirk and Bistner's handbook of veterinary procedures and emergency treatment**, 8 ed. Saunders, St. Louis, 2006, p. 1–291.

GIAGRANDE, P. L. F. The history of blood transfusion. **Br J Haematol**, v. 4, n. 4, p. 758-767, 2000.

GOLDMAN, M.; ROY, G., FRECHETTE, N.; DECARY, F.; MASSICOTTE, L.; DELAGE, G. Evaluation of donor skin disinfection methods. **Transfusion**, V. 3, n. 3, p. 309-312, 1997.

HELM, J.; KNOTTENBELT, C. Blood transfusions in dogs and cats indications. **In Practice**, London, v. 32, p. 184-189, 2010.

HESS, J. R.; GREENWALT, T. J. Storage of blood cells: new approaches. **Transfusion Medicine Review**, v. 16, n. 4, p. 283-295, 2002.

HÖGMAN, C.; MERYMAN, H. T. Storage parameters affecting red blood cell survival and function after transfusion. **Transfusion Medicine Reviews**, Hamilton, v. 13, n. 4, p. 275 – 296, 1999.

HÖGMAN, C. F.; MERYMAN, H. T. Red blood cells intended for transfusion: quality criteria revisited **Transfusion**, Philadelphia, v. 46, n. 1, p.137–142, 2006.

HOLME, S. Current issues related to the quality of stored RBCs. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 33, n. 1, p. 55–61, 2005.

KESSLER, R.J.; REESE, J.; CHANG, D.; SETH, M. et al. Dog erythrocyte antigens 1.1, 1.2, 3, 4, 7, and Dal blood typing and cross-matching by gel column technique. **Vet. Clin. Pathol.**, Santa Barbara, v. 39, n. 3, p. 306-316, 2010.

KORTE, D.; VERHOEVEN, A. J. Quality determinants of erythrocyte destined for transfusion. **Cell and Molecular Biology**, v. 50, n. 2, p. 187-195, 2004.

KURUP, P. A.; ARUN, P.; GAYATHRI, C. R.; DANHYA, C. R. et al. Modified formulation of CPDA for storage of whole, and of SAGM for storage of red blood cells, to maintain the concentration of 2,3-diphosphoglycerate. **Vox Sanguinis**, v. 85, n. 4, p. 253-261, 2003.

LANEVSKI, A.; WARDROP, K. J. Principles of Transfusion Medicine in Small Animals. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 42, n. 6, p. 447 – 454, 2001.

LEONART, M. S. S. Estudos sobre a preservação de eritrócitos. 1994. Tese (Doutorado em Análises Clínicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

LOTENS, A.; NAJDOVKI, T.; CELLIER, N.; ERNOTTE, B. et al. New approach to 'top-and-bottom' whole blood separation using the multiunit TACSI WB system: Quality of blood components. **Vox Sang**, v. 107, n. 3, p. 261-8, 2014.

LUCAS, R. L.; LENTZ, K. D.; HALE, A. S. Collection and preparation of blood products. **Clin Tech Small Anim Pract**, v. 19, n. 2, p. 55–62, 2004.

MARCHI, M.N.; MARTINS, R.R.; PEREIRA, P.M. Controle de qualidade de bolsas de sangue total e concentrado de hemácias de cães. *Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.*, v.2, n.2, p.131-141, 2015.

MARTINS, S. B. Medicina transfusional em cães e gatos: colheita, processamento e armazenamento de sangue total e hemocomponentes. 2011. Seminário. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

MCDONALD C.P, LOWE P, ROY A, ROBBINS P. et al. Evaluation of donor arm disinfection techniques. **Vox Sang**. v.80, n.3, p.135-41, 2001.

MCDONALD, C. P.; ROY, A.; MAHAJAN, P.; SMITH, R.; CHARLETT, A.; BARBARA, J. A. Relative values of the interventions of diversion and improved donor-arm disinfection to reduce the bacterial risk from blood transfusion. **Vox Sang**, v. 86, n. 3, p. 178-182, 2004.

MOHANDAS, N.; CHASIS, J. A. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. **Semin Hematol**, v. 30, n. 3, p. 171-192, 1993.

MUDGE, M. C.; MACDONALD, M. H.; OWENS, S. D. et al. Comparison of 4 Blood Storage Methods in a Protocol for Equine Pre-operative Autologous Donation. **Veterinary Surgery**, v. 33, n. 5, p. 475–486, 2004.

NIINISTO, K., RAEKALLIO, M.; SANKARI, S. Storage of equine red blood cells as a concentrate. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 2, p. 227–231, 2008.

OBRADOR, R.; MUSULIN, S.; HANSEN, B. Red blood cell storage lesion. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 25, n. 2, p. 187–199, 2015.

PEREIRA, P. M.; RAMALHO, F. S. Transfusão Sanguínea. **Rev Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 6, n.34, p. 34-40, 2001.

PEREZ P.; BRUNEAU, C.; CHASSAIGNE, M.; SALMI, L.R. et al. Multivariate analysis of determinants of bacterial contamination of whole-blood donations. **Vox Sang**. v.82, n.2, p.55-60, 2002.

REYNOLDS, J. D.; AHEARN, G.S.; ANGELO, M.; ZHANG, J. et al. S-nitrosohemoglobin deficiency: a mechanism for loss of physiological activity in banked blood. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 104, n. 43, p. 17058-17062, 2007.

RIBEIRO FILHO, J. D.; ALMEIDA, C. T.; GONÇALVES, R. C. et al. Alterações bioquímicas de sangue bovino durante a conservação por 35 dias, em frascos de vidro com ACD e bolsas plásticas com CPDA-1. **Veterinária Zootecnia**, v. 5, p. 97-103, 1993.

THRALL, A. M. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, 2ed, 2014, p.65.

TOCCI, L. J.; EWING, P. J. Increasing patient safety in veterinary transfusion medicine: an overview of pretransfusion testing. **J. Vet. Emerg. Crit. Care**, San Antônio, v. 19, n. 1, p. 66-73, 2009.

TOMCZAK, A. C. T. Q. Estudos sobre o controle de qualidade de unidades transfusionais eritrocitárias. 2008. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná.

TOMCZAK, A. C. T. Q.; GRILO, K. T. M.; CASTRO, J. M.; MACHADO, A. M. B. et al. Estudo de métodos laboratoriais para o controle de qualidade de unidades transfusionais eritrocitárias no centro de hematologia e hemoterapia do Paraná (Hemepar), Brasil. **Rev. Bras. Hematol. e Hemoter**, v. 3, n. 3, p. 209-214, 2010.

TYNELL, E.; NORDA, R.; SHANWELL, A.; BJORKMAN, A. Long-term survival in transfusion recipients in Sweden, 1993. **Transfusion**; n.41, p.251-255, 2001.

SAKUMA, A.; OTTOBONI, M. A. P.; SIERRA, P. C.; PEREIRA, A. F. Manual para controle de qualidade do sangue total e hemocomponentes. São Paulo: RedSang-SIBRATEC, 2011, p.120.

SANTIAGO, B. S. Monitoramento de qualidade de hemocomponentes produzidos no hemocentro da FMB – UNESP. 2011. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em pesquisa e desenvolvimento do hemocentro de Botucatu, faculdade de medicina da Universidade Estadual Paulista.

SANTOS, S. C. S.; MEYER, R.; COSTA, M. F. D. Variação de parâmetros hematológicos de cães doadores regulares de sangue. **Rev. Ciênc. Méd. Biol**, Salvador, v. 12, p. 472-477, 2013.

SEIFRIED, E.; MUELLER, M. M. Development of transfusion medicine in Europe. A challenge for physicians, scientists and politicians. In: ISH EAD 2007, Budapest, Hungary, 29 August 2 September 2007, p. S30-S33.

SCOTT, K. L.; LECAK, J.; ACKER, J. P. Biopreservation of blood cells: past, present and future. **Transfusion Medicine Review**, v. 19, n. 2, p. 127-142, 2005.

SOUZA, R. S.; BARROS, I. O.; TAVARES, M. D.; SOUSA, I. K. F.; OLIVEIRA, G.B.; MINERVINO, A. H. H.; BARRETO-JUNIOR, R. A. Lesões de armazenamento durante a conservação de sangue nas diferentes espécies: uma revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 2, p. 68-79, 2012.

WARDROP, K. J.; YOUNG, J.; WILSON, E. Na in vitro evaluation of storage media for the preservation of canine packed red blood cells. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 23, n. 3, p. 83-88, 1994.

WARDROP, K.J.; REINE, N.; BIRKENHEUER, A.; HALE, A.; HOHENHAUS, A.; CRAWFORD, C.; LAPPIN, M. Canine and feline blood donor screening for infectious disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 19, n. 1, p. 135-142, 2005.



WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinaru Hematology. 6 ed, willey-blackwell, 1232p. 2010.

WENDEL, N. S. Hemoterapia. In: VERRASTRO, T.; LORENZI, T. F.; WENDEL, N. S. Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica. São Paulo: Ed. Atheneu, 1996, p. 237-293.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Manual de procedimentos desenvolvido para o Laboratório de Medicina Transfusional do Hospital Veterinário da UEL

 <p>UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA</p>	<h3>Manual de Procedimentos Banco de sangue – HV UEL</h3>	 <p>Projeto Vida Banco de sangue</p>
Elaborado por: Melca N. A. de Marchi, Mariana Montanari, Patrick E. Luz	Data da criação: 05/05/2016	
Revisado e aprovado por: Profa. Dra. Patrícia Mendes Pereira	Data da implementação: 20/05/2016	
Objetivo: Padronizar os serviços ofertados pelo Projeto Vida - Banco de sangue do Hospital Veterinário da UEL		

1. ESCOLHA DOS DOADORES

- O doador canino ideal:
 - Deve ter entre 2 e 8 anos de idade
 - Pesar mais de 28 kg – Ser de grande porte e não ser obeso.
 - Estar livre de ectoparasitas
 - Deve ser dócil e calmo ou controlado pelo Guardião
 - Não pode ter sido submetido a transfusões sanguíneas, ideal que as fêmeas sejam nulíparas
 - Negativo para: *Brucela canis*, *Erlichia sp*, *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Babesia sp*, *Leishmania sp*
- Devem ser submetidos a exame clínico e hemograma antes de qualquer doação, sendo o volume globular mínimo de 40%
- Em toda doação devem ser testados para *Erlichia sp*, *Babesia sp* e *Leshmania sp*. e realizados exames bioquímicos séricos como uréia, creatinina, ALT (alanina amino transferase), FA (fosfatase alcalina), PT (proteína total), albumina e glicose
- Podem doar no mínimo 300mL e no máximo 450mL de sangue a cada 3 meses sem prejuízos à saúde do animal

2. CADASTRO DOS DOADORES

- Os doadores devem ser cadastrados no Projeto Vida em fichas que ficarão arquivadas em pasta com os meses do ano
- Preenchimento do cadastro/ficha do Doador do Projeto Vida:
 - Se o doador não for cadastrado preencher a ficha com dados do Guardiã (nome, telefone, endereço) e do cã doador (nome, data de nascimento, raça, sexo).
 - Sendo o doador jã cadastrado, deve anotar as datas das colheitas de sangue, o volume colhido, e o hematócrito/hemoglobina do doador.
 - Ao se analisar os resultados dos exames laboratoriais, ligar para o guardiã informando-o.
 - Toda ligação feita para o Guardiã deve ser registrada em sua ficha, assim como a data da próxima doação.
 - Verificar se doador estã com vacinação ou vermífugos atualizados, caso nã estejam atualizadas fazer aplicaçaõ de vacinas e vermífugos.
 - Por fim, colocar a ficha na pasta de Cadastro dos Doadores.

3. COLHEITA DE SANGUE

- Colheita com hora marcada – deveres da Equipe:
 - Estar no hospital 30 minutos antes do procedimento
 - Checar limpeza da sala de colheita
 - Separar os seguintes materiais:
 - 2 seringas 5 ml com agulhas 25x0,7
 - Tubo com EDTA e tubo seco
 - Piceta com clorexidina 2%
 - Piceta com álcool 70%
 - Gaze nã estéril
 - Luvas de procedimento
 - Bolsa para colheita (Dupla ou tripla – verificar necessidade e disponibilidade)
 - Pinça hemostática
 - Balança

- Alicate para refluxo de bolsa de sangue
- Tesoura
- Máquina de tosa
- Solicitar na secretaria a abertura do prontuário do doador, com os dados do guardião (nome completo, telefone fixo, celular, CPF, RG).
- Após chegada do doador:
 - Oferecer petisco ao doador
 - Pesar
 - Colher amostras de sangue
 - Iniciar a anamnese
 - Realizar exame físico
 - Verificar se toda a ficha do animal foi preenchida adequadamente
 - Analisar resultados de exames laboratoriais
- Iniciar a colheita
 - Tricotomia em região cervical ventral, pequena e após consentimento do guardião
 - Toda a equipe deve fazer a antissepsia das mãos
 - Responsável pela colheita e responsável pela homogeneização e pesagem da bolsa devem vestir luvas de procedimentos
 - Antissepsia
 - 1º- Clorexidina degermante 2%
 - 2º - Álcool 70%
 - Calçar luvas de procedimento e despejar uma pequena quantidade de clorexidina degermante 2% em uma gaze.
 - Realizar a antissepsia com a clorexidina com movimentos contínuos de cima para baixo durante 1,5 minutos.
 - Imediatamente após o uso da clorexidina, dar continuidade a antissepsia com gaze e álcool 70%.
 - Realizar a antissepsia com o álcool com movimentos contínuos de cima para baixo, durante 1,5 minutos.
 - Abrir o pacote contendo a bolsa e entregar a bolsa que contenha anticoagulante ao responsável pela homogeneização.

- Tarar o peso da bolsa com anticoagulante antes de iniciar a colheita
 - O paciente deve estar contido sobre mesa de inox
 - Um dos componentes da equipe deverá calçar luvas para realizar garrote
 - Retirar proteção da agulha e proceder à punção da veia jugular
 - Os primeiros ml de sangue devem ir para o compartimento acoplado no sistema, destinado à coleta de exames
 - Após o preenchimento desse compartimento, quebrar o lacre da bolsa e fechar o lacre do compartimento.
 - Colher de 3 a 4 tubos com EDTA do sangue do compartimento que vão ser destinados à reação cruzada. Homogeneizar os tubos.
 - Colher 1 tubo com EDTA e 1 tubo seco do sangue do compartimento destinado a exames para o PCR de *Ehrlichia sp.* e sorologia para *Leishmania sp.* respectivamente.
 - O responsável pela homogeneização e pesagem deve manter a bolsa em movimentação contínua e verificar o fluxo de colheita, avisando ao responsável pela punção, os possíveis problemas e a quantidade colhida.
 - Depois de colhido 450 ml, o responsável pela pesagem e homogeneização deverá utilizar uma pinça hemostática para pinçar o macarrão próximo a agulha antes da mesma ser retirada da veia jugular.
- Procedimento imediato após a colheita:
 - Procedimentos com o doador:
 - Tirar foto do doador com a bolsa e guardião para divulgação em redes sociais do projeto
 - Fazer compressa com gelo no local da punção e passar pomada cicatrizante
 - Procedimentos com a bolsa de sangue:
 - Realizar dois nós na extremidade distal do macarrão antes da pinça hemostática
 - Cortar entre o nó mais distal e a pinça hemostática

- Proceder à ordenha do sangue retido no macarrão para a bolsa e homogeneizar – repetir este procedimento três vezes
- Quando for bolsa tripla:
 - Não retirar a bolsa com a solução preservativa
- Colocar a bolsa sob uma superfície limpa e aguardar tempo para centrifugação:
 - Para obtenção de concentrado de hemácias e concentrado de plaquetas: 2 horas
 - Para obtenção de apenas concentrado de hemácias e plasma fresco congelado: 1 hora
- Identificar os tubos destinados à reação cruzada com o nome do doador, VG da bolsa e data da colheita e armazenar na geladeira do internamento da clínica médica.
- Encaminhar o tubo destinado ao PCR para *Erlichia sp.* para o laboratório de protozoologia e o tubo destinado a sorologia para *Leishmania sp.* para o laboratório de zoonoses e saúde pública, acompanhados com as respectivas requisições e a ficha do doador.

4. SEPARAÇÃO DE HEMOCOMPONENTES

- Centrífuga utilizada: Thermo Scientific – Heraeus Cryofuge 5500i
- Limpeza e manutenção da centrífuga:
 - Responsáveis: todos os participantes do projeto vida.
 - Realizar limpeza das caçapas com gaze e reaplicar uma camada extremamente fina da graxa específica
 - A limpeza deve ser realizada duas vezes por mês (15 em 15 dias)
 - Marcar em planilha de controle da limpeza das caçapas o dia em que as mesmas foram limpas e a data em que deverá ocorrer a próxima limpeza
- Procedimentos a serem realizados antes de iniciar a centrifugação:
 - Ligar o ar condicionado da sala em 20°C

- Realizar o pré cool (programa 9) para o resfriamento da cuba. Esse procedimento deve ser realizado antes da primeira centrifugação do dia
 - Colocar a bolsa de sangue junto com a bolsa satélite cuidadosamente dentro da caçapa
 - Pesar a bolsa de sangue dentro da caçapa
 - Quando for centrifugar apenas uma bolsa, usar a bolsa com água como contrapeso:
 - Pesar a bolsa com água dentro da caçapa
 - Equilibrar o peso da bolsa de sangue e da bolsa com água com os pedacinhos de bolsa cortados (as duas caçapas devem ter o mesmo peso)
 - Colocar as caçapas na centrífuga com a bolsa virada para dentro
- Selecionar o programa respectivo ao procedimento desejado:

Programa 1 – Utilizado em bolsas triplas para obtenção de concentrado de hemácias e plasma rico em plaquetas.

- 2.500 rpm
- 4:30 minutos
- 22°C
- Freio 5

Programa 2 – Utilizado para a segunda centrifugação das bolsas triplas para obtenção do concentrado de plaquetas.

- 3.200 rpm
- 12:00 minutos
- 22°C
- Freio 5

Programa 3 – Utilizado para obtenção de concentrado de hemácias e plasma fresco.

- 3.800 rpm
 - 10 minutos
 - 22°C
 - Freio 5
- Após escolher o programa, fechar a centrífuga e apertar o botão **Play**
 - Ao terminar a centrifugação, retirar com muito cuidado a caçapa da cuba

- Retirar com muito cuidado a bolsa da caçapa
- Procedimentos a serem realizados após a centrifugação:
- Bolsas duplas:
 - Colocar a bolsa no extrator manual e quebrar o lacre
 - De modo lento e contínuo, começar a extrair o plasma até ficar um dedo de plasma na bolsa centrifugada
 - Pinçar o macarrão para o plasma não voltar
 - Retirar a bolsa do extrator, fazer dois nós no macarrão e cortar o mesmo separando as duas bolsas
- Bolsas Triplas:
 - Colocar a bolsa no extrator manual e quebrar o lacre
 - De modo lento e contínuo, começar a extrair o plasma até esgotar o mesmo na bolsa centrifugada
 - Pinçar o macarrão para o plasma não voltar
 - Retirar a bolsa com o concentrado de hemácias do extrator, fazer dois nós no macarrão e cortar o mesmo separando a bolsa de concentrado da bolsa de plasma
 - Colocar a bolsa com a solução preservativa no extrator manual e quebrar o lacre
 - De modo lento e contínuo, extrair completamente a solução preservativa para a bolsa de concentrado de hemácias
 - Retirar a bolsa do extrator, fazer dois nós no macarrão e cortar o mesmo separando as duas bolsas
- Homogeneizar a bolsa de concentrado de hemácias
- Ordenhar o macarrão e homogeneizar novamente (repetir 3 vezes)
- Colher uma amostra do macarrão e mandar para o laboratório requisitando o hematócrito e Hemoglobina do concentrado de hemácias
- Fazer o rótulo das bolsas com:
 - Tipo de componente sanguíneo
 - Nome do doador
 - Data de colheita
 - Data de Validade

- Hematócrito e Hemoglobina
- Nome dos responsáveis pela colheita e centrifugação
- Guardar a bolsa de concentrado de hemácias na geladeira e a bolsa de plasma fresco no freezer amarrado com um elástico de borracha

5. ARMAZENAMENTO DAS BOLSAS DE SANGUE

- Após a centrifugação as bolsas de concentrado de hemácias deverão ser armazenadas em refrigerador para componentes sanguíneos e a bolsa de plasma fresco deverá ser armazenada no congelador
- A temperatura da geladeira deverá ser checada todos os dias e deverão ser feitas anotações das temperaturas avaliadas, que deverão estar entre 2°C e 6°C, sendo o ideal 4°C
- Responsáveis pela checagem da temperatura: todos os participantes do Projeto Vida – na escala será a Equipe de Colheita de sangue da semana
- Observar a data de validade das bolsas de sangue

6. TRANSFUSÃO SANGUÍNEA

6.1 . PRÉ TRANSFUSIONAL

- Procedimentos inerentes ao residente
 - Verificar a necessidade de transfusão sanguínea, avaliar a classificação da anemia (regenerativa ou não regenerativa – contagem de reticulócitos)
 - Determinar componente necessário para o paciente
 - Solicitar a prova de reação cruzada, hematócrito/hemoglobina da bolsa e do paciente e reticulócitos do paciente.
 - Ao enviar a solicitação da prova de reação cruzada contatar a equipe responsável pela realização do procedimento.

- Para animais internados no hospital veterinário, será aceito o pedido de transfusão até às 18 horas. A menos que haja piora do quadro clínico do animal após esse horário.
- Após liberado resultado da prova de reação cruzada contatar a equipe e preparar o animal
 - Canular animal, colocar a fluidoterapia com solução de Cloreto de sódio 0,9%
- Solicitar materiais na farmácia:
 - Uma bolsa para colheita
 - Bolsa de transferência
 - Equipo para transfusão
 - Um frasco de Hidrocortisona 500 mg
 - Um frasco de água para injeção
 - Uma ampola de Prometazina 25 mg
 - Uma seringa de 5 ml com agulha 25x0,7
 - Três seringas de 3 ml mais agulha 25x0,7
- Após a chegada da equipe de transfusão o animal deve ser entregue pelo residente à equipe
- A equipe de transfusão não é responsável por buscar o animal antes da transfusão e nem pela entrega do mesmo no final da transfusão.
- Procedimentos inerentes à equipe de transfusão
- A transfusão só poderá ser realizada se o resultado da reação cruzada for negativo – qualquer outro resultado deverá passar pela autorização da Profa. Patrícia e não deverá ser realizada a transfusão pela Equipe do Projeto Vida sem a autorização.
- Fazer o cálculo do volume a ser transfundido através do programa no computador, verificar o perfil do paciente a ser transfundido e anotar: Volume total, velocidade de transfusão nos primeiros trinta minutos, velocidade de transfusão após os primeiros trinta minutos, volume das drogas de emergência (Hidrocortisona e Prometazina)
- Pegar as fichas de identificação do paciente e de controle transfusional

- Avaliar o animal antes de iniciar o procedimento – fazer exame físico COMPLETO e preencher as fichas de controle de transfusão
- Verificar o acesso venoso do paciente
- Verificar o tipo de solução que o paciente está recebendo, caso esteja recebendo Ringer Lactato ou solução Glicofisiologia trocar para solução fisiológica de NaCL 0,9% deixando-a até limpar todo o equipo.
- Enquanto uma parte da equipe realiza os procedimentos acima, outra parte inicia o preparo da bolsa:
 - Verificar, no resultado da prova de reação cruzada, o nome do doador compatível e selecionar a bolsa na geladeira de acordo com o componente sanguíneo necessário.
 - Verificar o volume a ser transfundido para realizar a divisão da bolsa em bolsas de transferência – lembrar que a bolsa só poderá permanecer sem refrigeração por no máximo 4 horas
 - Realizar a divisão da bolsa se necessário
 - Conectar o equipo de transfusão na primeira bolsa a ser transfundida e preenche-lo completamente com sangue, guardar as outras bolsas na geladeira
 - Conectar o equipo de transfusão no cateter do paciente e iniciar a transfusão!

6.2. DURANTE A TRANSFUÇÃO

- Os estagiários deverão estar equipados com:
 - Estetoscópio
 - Termômetro
 - Caneta
 - Roupa branca com jaleco branco ou pijama cirúrgico
- Durante a primeira hora de transfusão o paciente deve ser submetido a exame físico COMPLETO a cada 15 minutos – a equipe deverá permanecer monitorando o paciente durante todo o tempo
- Após a primeira hora o paciente poderá ser monitorado a cada 30 minutos

- Verificar, não somente os parâmetros contidos na ficha de monitoração, mas também o estado clínico do paciente como um todo.
- Verificar, durante todo o procedimento, a viabilidade do acesso venoso do paciente.
- Em caso de reações transfusionais:
 - Interromper o procedimento **IMEDIATAMENTE** e colocar o paciente na fluidoterapia (NaCl 0,9%)
 - Verificar o tipo de reação transfusional e tomar medidas cabíveis:
 - Se for reação urticariforme:
 - Aplicar prometazina por via subcutânea na dose de 0,5 mg/Kg – usar a ampola de 25 mg/ml.
 - Aplicar hidrocortisona por via intravenosa na dose de 50 mg/kg – diluir o conteúdo do frasco com água para injeção (5 ml).
 - Monitorar o paciente durante 30 minutos mantendo-o na fluidoterapia.
 - Verificar, após esse período a possibilidade de retornar o procedimento.

6.3. TÉRMINO DA TRANSFUSÃO

- Realizar o último exame físico completo do paciente
- Retirar o equipo de transfusão que está conectado no cateter e conectar o equipo com a solução fisiológica NaCl 0,9%
- Verificar o preenchimento da ficha de transfusão
- Anotar no prontuário do paciente o procedimento na contra-capta, colocar a cópia das fichas de transfusão no prontuário do paciente
- Avisar o residente responsável sobre o término do procedimento e aguarda-lo vir buscar o paciente
- Descartar bolsa e equipo em lixo branco (contaminado)
- Organizar e limpar a sala de transfusão
- Guardar as fichas de controle de transfusão na pasta de controle no compartimento específico do mês vigente.
- Anotar na lista de procedimentos do prontuário do paciente a taxa de transfusão sanguínea

- Verificar o paciente após 24 horas da transfusão se houve melhora no estado clínico, hematócrito/hemoglobina e anotar na ficha de transfusão

7. CONTROLE DE QUALIDADE DAS BOLSAS DE SANGUE

- Antes de iniciar a transfusão colher 5 ml de amostra de sangue das bolsas
- Colocar 2,5ml em dois tubos secos
- Análise do hematócrito e hemoglobina:
 - Levar um dos tubos para o laboratório de Patologia Clínica
 - Para concentrado de hemácia:
 - Diluir em um tubo de ensaio 1 ml da amostra de sangue em 1 ml de solução fisiológica
 - Passar a amostra do aparelho de hematologia Diff Poch 100
 - Analisar o resultado
- Para a análise da hemoglobina extracelular e grau de hemólise:
 - Centrifugar o segundo tubo a 4000 rpm por 10 minutos
 - Retirar o plasma com uma pipeta e armazenar em eppendorf na geladeira identificado e com a data

ANEXOS

ANEXO A

Protocolo do comitê de ética animal (CEUA)



Universidade
Estadual de Londrina

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 125/2015

Londrina, 19 de Junho de 2015.

Prezado Pesquisador,

A CEUA/UEL reunida em 16 de Junho de 2015 avaliou o projeto de pesquisa intitulado "**Controle da qualidade de hemocomponentes em bolsas de concentrado de hemácias e sangue total dos cães**", registrado sob o processo CEUA nº **7489.2015.74**, pesquisa do Centro de Ciências Agrárias, desenvolvido sob sua responsabilidade, julgando-o **aprovado** para execução entendendo-se que os princípios éticos, postulados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, estão respeitados.

Serão analisadas todas as bolsas de sangue total e concentrado de hemácias que serão colhidas dos cães doadores de sangue do Projeto Vida – UEL. As amostras das bolsas serão colhidas no momento da sua abertura para uso em cães que necessitem de transfusão sanguínea no Hospital Veterinário da UEL. O projeto tem como objetivo avaliar a qualidade do sangue de cães colhido e armazenado no Projeto Vida – UEL, através de testes laboratoriais, como grau de hemólise e contaminação bacteriana no sangue total fresco e concentrado de hemácias. Além disso, pretende formular e padronizar normas de controle de qualidade para o uso mais apropriado dos componentes sanguíneos de cães, através de técnicas simples, porém, seguras, para que o sangue transfundido chegue ao receptor com componentes viáveis, minimizando efeitos deletérios, contribuindo para o sucesso terapêutico. Serão utilizados 40 cães (machos e fêmeas), 1 a 8 anos de idade e pesando acima de 28 Kg, em boas condições de saúde, constatadas através de exame físico, hemograma e pesquisa de hematozoários. Estes animais são cães doadores de sangue do Projeto Vida - UEL (cadastrado na PROEX). Não serão utilizados relaxantes musculares ou anestésicos, nem haverá jejum, restrição hídrica ou cirurgia. Animais serão contidos fisicamente leve para a colheita de sangue que dura no máximo 10 minutos. A quantidade de sangue obtida será de 400 - 500mL, a cada 3 a 4 meses, através da veia cefálica ou jugular. Procedimento padrão como preconizado e usado na rotina do Projeto Vida -UEL. Este sangue ficará armazenado em bolsas de sangue total ou concentrado de hemácias até o momento do uso. Os animais utilizados não serão mortos ao final do experimento. Os protocolos experimentais estão aprovados com previsão para execução em 16 meses.

Cumprir orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo de pesquisa aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessária. Sem mais para o momento, subscrevo, cordialmente,

Waldiceu Aparecido Verrini Junior
Prof. Dr. Waldiceu Aparecido Verrini Junior
Coord. da CEUA/UEL

Ilima. Sra.

Profa. Dra. Patrícia Mendes Pereira

Coordenador do Projeto

Departamento de Clínicas Veterinárias

Centro de Ciências Agrárias

Com cópia para Sra Égle Maria de Sousa (Chefe da DCA/PROPPG), Prof. Luiz Carlos Juliani (Diretor do Biotério Central do CCB) e Diretor(a) do Centro de Ciências Biológicas.