



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E
HEMOGASOMÉTRICA DE SANGUE CAPRINO
ARMAZENADO EM BOLSAS CPDA-1 E CPD/SAG-M**

MARCONDES DIAS TAVARES

Médico Veterinário

MOSSORÓ - RN - BRASIL
Novembro – 2013

MARCONDES DIAS TAVARES

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E
HEMOGASOMÉTRICA DE SANGUE CAPRINO
ARMAZENADO EM BOLSAS CPDA-1 E CPD/SAG-M**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do
Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como
parte das exigências para a obtenção do título de Mestre
em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Alves Barrêto Júnior

MOSSORÓ - RN - BRASIL
Novembro – 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência

T192a Tavares, Marcondes Dias.

Avaliação hematológica, bioquímica e hemogasométrica de sangue caprino armazenado em bolsas CPDA-1 E CPD/SAG-M. / Marcondes Dias Tavares. -- Mossoró, 2013.
73f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Alves Barrêto Júnior

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Área de concentração em Sanidade Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação.

1. Caprino- Sangue. 2. Eritrócitos. 3. Hemoterapia. I. Título.

RN/UFERSA/BCOT

CDD: 636.39

Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza Borba
CRB-15/452

MARCONDES DIAS TAVARES

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E
HEMOGASOMÉTRICA DE SANGUE CAPRINO
ARMAZENADO EM BOLSAS CPDA-1 E CPD/SAG-M**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do
Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como
parte das exigências para a obtenção do título de Mestre
em Ciência Animal.

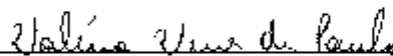
APROVADA EM 28/11/2013

BANCA EXAMINADORA:



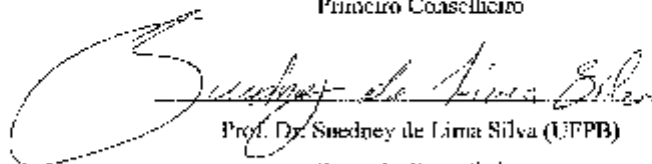
Prof. Dr. Raimundo Alves Corrêa Júnior (UFERSA)

Orientador



Prof. Dra. Valéria Veras de Paula (UFERSA)

Primeiro Conselheiro



Prof. Dr. Suedney de Lima Silva (UEPB)

Segundo Conselheiro

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MARCONDES DIAS TAVARES – Filho de Sinval Dias de Oliveira e Terezinha Tavares de Oliveira Dias, nascido em 20 de outubro de 1984, na cidade de Olho D'água do Borges, estado do Rio Grande do Norte. Fez o ensino fundamental na Escola Estadual 20 de Setembro (em Olho D'água do Borges – RN, em 2000) e o ensino médio na Escola Agrícola de Jundiaí (em Macaíba – RN, em 2003), onde concluiu o curso Técnico em Agropecuária no mesmo ano. No ano de 2005 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), cursando o 1º semestre. Em 2006 ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), concluindo-o em 2011 na mesma universidade. Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica por um ano, atuando sempre na área de Medicina Interna Veterinária, especificamente com hematologia de grandes animais. Ainda no ano de 2011 ingressou no Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da UFERSA, sob orientação do professor Doutor Raimundo Alves Barrêto Júnior. Participou durante a graduação e pós-graduação de congressos importantes. Por fim, em novembro de 2013 defendeu a dissertação para obtenção do título de mestre.

Aos meus familiares

A vocês, amados membros da minha aliança mais fiel, unidos a mim por laços de sangue e que não mediram esforços em dispor-me tudo o que precisei para obter este título. Dedico esta conquista com o mais puro sentimento de gratidão e asseguro que a mesma lhes pertence tanto quanto a mim.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, primeiramente por ter me mostrado a certeza de sua presença ao meu lado, e depois, por ter sido o tempo inteiro fonte de inspiração para que eu obtivesse êxito em meus propósitos. Agradeço-te Deus, por ter me encorajado a superar as dificuldades surgidas, especialmente a labuta e as limitações impostas pela vida estudantil.

Ao meu orientador Raimundo Alves Barrêto Júnior (Barretinho) por suas valiosas observações e orientações, por ter me dado um lugar na sua seleta equipe desde o “berço” da iniciação científica até este glorioso momento. Meus amigos me perguntavam como andava o batidão e os trabalhos com o “pai Barrêto”; isso representa a seriedade, liderança e compromisso com que ele trata das atividades de pesquisa, e ao mesmo tempo reflete o dom de divertir e o trato íntimo com nós orientados. Seu lado humano entende as dificuldades da vida e o levou a compreender minhas decisões, por mais distante que elas tenham me levado. Quero reafirmar minha admiração e gratidão por você Barretin, obrigado por tudo amigo.

À minha família, em especial a minha mãe (Terezinha Tavares) e meu pai (Sinval Dias) por serem incansáveis em dispor-me tudo o que precisei para alcançar este feito. O amor e exemplo que deles obtive sempre foi o impulso que precisei pra persistir e continuar lutando pelos meus objetivos. Agradeço ao meu amado irmão Marcos por apoiar-me, por doutrinar-me e incentivar-me nas horas e circunstâncias mais necessárias. Não dá pra te agradecer apenas com palavras mano. Agradeço a minha amada Cínthia pela companhia, cuidados e carinho que me foram doados nos momentos de crise e pelas alegrias compartilhadas até hoje. Ao meu tio Aderson pelo incentivo e infinito referencial, Tia Raimunda Tavares por seu incentivo e apoio quase maternal; Gledson, Luciana e Breno (“Meio-irmãos”) pelo companheirismo e incentivo; Tio Joaquim Tavares (*in memoriam*) pelo referencial e exemplo de virtudes; Tio Pedro e Luziarte pelo incentivo e referencial. Aos demais tios e tias por terem me mostrado um modelo de paz, humildade e dignidade, capazes de influenciar-me no modo de conduzir a vida.

Aos colaboradores da UFERSA e da USP, que no dia a dia contribuíram com minha formação, Erinaldo do laboratório que se dispôs na medida do possível. À professora Valéria Veras pela parceira contínua com nosso grupo de pesquisa e por disponibilizar seu laboratório. Agradeço ao professor Jean Berg por disponibilizar seu laboratório para a microbiologia das bolsas. Agradeço a equipe Ortolani: Enrico, Carol, e Clara pelas análises bioquímicas e a Humberto Hamad que desde a graduação me auxilia com as análises estatísticas.

Aos colegas de pesquisa Isabella de Oliveira, minha amável conterrânea de ODB, pela amizade e orientação insubstituíveis, a doce Rejane (Rejana) pelo companheirismo e instruções laboratoriais que desde sempre contribuíram para minha formação, Nayanna Fonseca pelo apoio na hematologia, Leonardo Barreira pelas análises bioquímicas (diretamente da USP). Agradeço a Paulo Ricardo (pibiquinho), Jocélio (deputado), Jaqueline (Jaq), Jerson (vaqueiro), pela ajuda imprescindível e por tornarem nossos trabalhos divertidos

e estimulantes. Agradeço a Jucélio Gameleira pela boa amizade e alegria de dividir bons momentos sob o mesmo teto. Agradeço a Talita Lins (lá de nós) por ser tão prestativa, responsável e acima de tudo amiga; a Rociene, uma boa amiga e colaboradora, que cuidou com carinho da microbiologia das bolsas, repartindo o frango assado conosco e nos divertindo com os “informes” semanais. Ao amigo Thiago César pelo companheirismo insubstituível e pelas divertidas brincadeiras.

“Uma crise difícil pode ser mais prontamente suportada se tivermos a convicção de que a nossa existência traz consigo um propósito – uma causa para defender, uma pessoa para amar, um alvo para alcançar”.

(John Maxwell)

AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA E HEMOGASOMÉTRICA DE SANGUE CAPRINO ARMAZENADO EM BOLSAS CPDA-1 E CPD/SAG-M

TAVARES, Marcondes Dias. **Avaliação hematológica, bioquímica e hemogasométrica de sangue caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M**. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Produção e Sanidade Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

RESUMO: O presente trabalho objetivou fazer avaliação hematológica, bioquímica e hemogasométrica do sangue caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M. Foram utilizados 7 caprinos machos, adultos, castrados, sem raça definida, pesando em média 45kg. O sangue foi coletado em duas bolsas plásticas, uma contendo CPDA-1 e outra CPD/SAG-M, sendo armazenadas durante 42 dias. Realizou-se avaliações hematológicas (número de eritrócitos, volume globular, hemoglobina total e plasmática, grau de hemólise, volume corpuscular médio, leucócitos), variáveis bioquímicas (glicose, lactato, sódio, potássio, proteínas totais), variáveis hemogasométricas (pH, bicarbonato, pressão parcial de oxigênio e de dióxido de carbono, saturação de oxigênio, déficit de base, dióxido de carbono total) e microbiologia, em sete momentos (T), sendo T0 (imediatamente após a coleta), T7 (sete dias), T14 (quatorze dias), T21 (vinte e um dias), T28 (vinte e oito dias), T35 (trinta e cinco dias) e T42 (quarenta e dois dias após a coleta). Nas duas bolsas houve aumento da hemoglobina plasmática, grau de hemólise, lactato, pressão parcial de oxigênio, redução de hemoglobina total e pH. Nas bolsas não houve variação no número de eritrócitos, glicose, sódio, potássio e pressão parcial de dióxido de carbono. Na comparação com a CPDA-1, a bolsa CPD/SAG-M apresentou menores valores de eritrócitos, VG, hemoglobina total e sódio, e maiores valores de grau de hemólise e hemoglobina plasmática. As alterações observadas no sangue caprino armazenado durante 42 dias, em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, não foram suficientes para invalidar seu uso como recurso terapêutico.

Palavras-Chave: Transfusão, Eritrócitos, Hemoterapia.

HEMATOLOGIC, BIOCHEMICAL AND HEMOGASOMETRIC EVALUATION OF CAPRINE BLOOD STORED IN CPDA-1 AND CPD/SAG-M BAGS

TAVARES, Marcondes Dias. **Hematologic, biochemical and hemogasometric evaluation of caprine blood stored in CPDA-1 and CPD/SAG-M bags.** 2013. 73f. Dissertation (Master in Animal Science: Animal Production and Health) - Federal Rural University of the Semi-Arid (UFERSA), Mossoró, RN, 2013.

ABSTRACT: The present study aimed to evaluate the hematological, biochemical and hemogasometric changes in caprine blood stored in CPDA-1 and CPD/SAG-M bags. Seven male, adult, neutered, mixed breed goats weighing an average of 45kg were used. From each animal, 25% of the estimated total blood volume was collected into two plastic bags, one containing CPDA-1 and another with CPD/SAG-M; next they were stored for 42 days. Hematological (number of erythrocytes, packed cell volume, total and plasmatic hemoglobin, degree of hemolysis, mean cell volume, leukocytes), biochemical (glucose, lactate, sodium, potassium, total plasma protein), hemogasometric (pH, bicarbonate, partial pressure of oxygen, partial pressure of carbon dioxide, oxygen saturation, base deficit, total carbon dioxide) and microbiological evaluations were performed in seven moments (T), T0 (immediately after sampling), T7 (seven days), T14 (fourteen days), T21 (twenty-one days), T28 (twenty-eight days), T35 (thirty-five days) and T42 (forty-two days after sampling). In the two bags there was an increase of plasmatic hemoglobin, degree of hemolysis, lactate, pO₂ and a decrease of total hemoglobin and pH. In the bags there was no alteration in the erythrocyte count, glucose, sodium, potassium or partial pressure of carbon dioxide. In the comparison with the CPDA-1, the CPD/SAG-M bag had lower erythrocytes, packed cell volume, total hemoglobin and sodium, as well as higher levels of hemolysis and plasmatic hemoglobin. The changes observed in the caprine blood stored for 42 days in CPDA-1 and CPD/SAG-M bags were not sufficient to invalidate their use as a therapeutic resource, however, it has been found that it is preferable to use CPDA-1 bags for the conservation of caprine blood.

Keywords: Transfusion, Erythrocytes, Hemotherapy.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Composição das bolsas plásticas tipo CPDA-1 e CPD/SAG-M, nas quais foi acondicionado o sangue total caprino.....	35
Quadro 2. Tempos experimentais em que foram realizadas as análises das amostras do sangue total caprino armazenado.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Número de Eritrócitos ($\times 10^6 \mu\text{L}$) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados..	39
Tabela 2. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Volume Globular (%) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados	40
Tabela 3. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Volume Corpuscular Médio (fL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados..	41
Tabela 4. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Concentração de Hemoglobina Total (g/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.	43
Tabela 5. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Concentração de Hemoglobina Plasmática (g/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.....	44
Tabela 6. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Número de Leucócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}$) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados..	45
Tabela 7. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Grau de Hemólise (%) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.	46
Tabela 8. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Glicose Plasmática (mg/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados	47
Tabela 9. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Lactato Plasmático (g/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados	48
Tabela 10. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Sódio Plasmático (mEq/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados	49
Tabela 11. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Potássio Plasmático (mEq/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados..	50
Tabela 12. Valores médios (X) e desvios padrões (S) das Proteínas Plasmáticas Totais (g/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados	51
Tabela 13. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do pH do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados	52

Tabela 14. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.....	53
Tabela 15. Valores médios (X) e desvios padrões (S) de Pressão Parcial de Oxigênio (mmHg) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados	54
Tabela 16. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Bicarbonato Plasmático (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados..	55
Tabela 17. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Dióxido de Carbono Total (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados..	56
Tabela 18. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Saturação de Oxigênio (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados..	57
Tabela 19. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Déficit de Base (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação dos valores médios do Número de Eritrócitos ($\times 10^6 \mu\text{L}$) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	40
Figura 2. Representação dos valores médios do Volume Globular (%) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	41
Figura 3. Representação dos valores médios do Volume Corpuscular Médio (fentolitros) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	42
Figura 4. Representação dos valores médios da Hemoglobina Total (g/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	43
Figura 5. Representação dos valores médios da Hemoglobina Plasmática (g/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	44
Figura 6. Representação dos valores médios do Número de Leucócitos Totais do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.....	45
Figura 7. Representação dos valores médios do Grau de Hemólise (%) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.....	46
Figura 8. Representação dos valores médios da Concentração de Glicose Plasmática (mg/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	47
Figura 9. Representação dos valores médios da Concentração do Lactato Plasmático (g/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	48
Figura 10. Representação dos valores médios da Concentração do Sódio Plasmático (mEq/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	49
Figura 11. Representação dos valores médios da Concentração do Potássio Plasmático (mEq/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	50
Figura 12. Representação dos valores médios das Proteínas Totais (g/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	51
Figura 13. Representação dos valores médios de pH do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	52
Figura 14. Representação dos valores médios da Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados....	53
Figura 15. Representação dos valores médios da Pressão Parcial de Oxigênio (mmHg) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	54
Figura 16. Representação dos valores médios do Bicarbonato Plasmático (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	55

Figura 17. Representação dos valores médios do Dióxido de Carbono Total (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	56
Figura 18. Representação dos valores médios da Saturação de Oxigênio (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados	57
Figura 19. Representação dos valores médios do Déficit de Base (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grau Celsius
µL	Microlitros
µm ³	Micrômetro cúbico
10 ⁸	Cem milhões, 100000000
ACD	Ácido citrato dextrose
CHGM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CPDA-1	Citrato-fosfato-dextrose-adenina
dL	Decilitro
g	Grama
L	Litro
mm ³	Milímetro cúbico
mmHg	Milímetros de mercúrio
mmol	Milimol
PPT	Proteínas plasmáticas totais
PVC	Policloreto de vinila
SAG-M	Salina, adenina, glicose, manitol
VG	Volume globular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
GERAL	19
ESPECÍFICOS	19
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
3.1 SANGUE TOTAL ESTOCADO E SUA COMPOSIÇÃO	20
3.2 VARIÁVEIS-CONTROLE NO MONITORAMENTO DA QUALIDADE SANGUÍNEA.....	21
3.2.1 Hemograma.....	21
3.2.1.1 Contagem de Eritrócitos	21
3.2.1.2 Contagem Global de Leucócitos.....	22
3.2.1.3 Volume Globular (VG) e Volume Corpuscular Médio (VCM)	22
3.2.1.4 Concentração de Hemoglobina Total e Plasmática	23
3.2.1.5 Grau de Hemólise	24
3.2.2 Hemogasometria e Bioquímica.....	25
3.2.2.1 Potencial Hidrogeniônico	25
3.2.2.2 Dióxido de Carbono Total e Bicarbonato.....	26
3.2.2.3 Pressão Parcial de Dióxido de Carbono e Pressão Parcial de Oxigênio.....	26
3.2.2.4 Déficit de Base.....	27
3.2.2.5 Potássio e Sódio plasmáticos.....	27
3.2.3 Microbiologia	29
3.3 BOLSAS PLÁSTICAS DE CONSERVAÇÃO SANGUÍNEA E REFRIGERAÇÃO	29
3.4 LESÕES ERITROCITÁRIAS DURANTE O ARMAZENAMENTO	31
3.5 VIABILIDADE TRANSFUSIONAL DO SANGUE ARMAZENADO.....	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 COLETA E ARMAZENAMENTO DO SANGUE	34
4.2 AVALIAÇÃO DO SANGUE ARMAZENADO	35
4.2.1 Tempos experimentais.....	35
4.2.2 Hemograma.....	36

4.2.3 Avaliação bioquímica	37
4.2.4 Avaliação Hemogasométrica	37
4.2.5 Avaliação microbiológica	38
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
5 RESULTADOS	39
5.1 HEMOGRAMA	39
5.1.1 Contagem de Eritrócitos	39
5.1.2 Volume Globular	40
5.1.3 Volume Corpuscular Médio	41
5.1.4 Concentração de Hemoglobina Total	42
5.1.5 Concentração de Hemoglobina Plasmática	43
5.1.6 Contagem Global de Leucócitos	45
5.1.7 Grau de hemólise	46
5.2. AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	47
5.2.1 Glicose Plasmática	47
5.2.2 Lactato	48
5.2.3 Sódio Plasmático	49
5.2.4 Potássio Plasmático	50
5.2.5 Proteínas Plasmáticas Totais	51
5.3. AVALIAÇÃO HEMOGASOMÉTRICA	52
5.3.1 Potencial Hidrogeniônico	52
5.3.2 Pressão Parcial de Dióxido de Carbono	53
5.3.3 Pressão Parcial de Oxigênio	54
5.3.4 Bicarbonato Plasmático	55
5.3.5 Dióxido de Carbono Total	56
5.3.6 Saturação de Oxigênio	57
5.3.7 Déficit de Base	58
5.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	59
6 DISCUSSÃO	60
7 CONCLUSÃO	66
8 REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

A hemoterapia é uma especialidade que desperta cada vez mais interesse em medicina veterinária, na clínica de pequenos animais e, gradativamente, na de grandes animais. Em humanos, métodos de conservação do sangue e seus componentes têm sido cada vez mais aprimorados, a fim de se obter uma melhor qualidade e maior tempo de estocagem. O sangue total estocado pode ser utilizado para fornecer eritrócitos, proteínas plasmáticas e fatores de coagulação estáveis como o fibrinogênio (REICHMANN; DEARO, 2001). Na prática, essa tecnologia pode ser útil para as cirurgias eletivas, por meio da conservação prévia do sangue do paciente e sua reinfusão no pós-cirúrgico, ou mesmo nas emergências, através de um banco de sangue.

A caprinocultura é uma atividade econômica explorada em todos os continentes, estando presente em áreas com diferentes características edafoclimáticas (CORDEIRO et al., 2008). A produção destes pequenos ruminantes se caracteriza como uma atividade de grande importância cultural, social e econômica para o Brasil, principalmente para a região nordeste, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento da região (EMPARN, 2006). A produção de alimentos de alto valor biológico (leite, carne e vísceras), pele de excelente qualidade, além da adaptabilidade destes animais aos ecossistemas locais, permite à caprinocultura enquadrar-se como uma boa alternativa de trabalho e de renda (MORAES NETO, 2003).

Em revisão de literatura sobre a conservação de sangue e seus componentes em animais domésticos, identificaram-se estudos realizados com as espécies canina (COSTA JÚNIOR et al., 2006), felina (BERTOLETTI, 2011), equina (NIINISTÖ et al. 2008) e asinina (BARROS, 2011). Ribeiro Filho et al., (1994) utilizaram bolsas CPDA-1 para conservação de sangue total bovino, em que se observaram níveis adequados das variáveis, 35 dias após o início do armazenamento. Em ovinos foram estudadas as variáveis hematológicas, hemogasométricas e bioquímicas do sangue armazenado em CPDA-1, durante 35 dias (SOUSA et al., 2013). Após ampla revisão de literatura, observa-se que na espécie caprina não se conhece os efeitos do armazenamento sobre o sangue conservado, em quaisquer sistemas de armazenamento disponíveis até hoje.

A aplicação dos variados sistemas de conservação na medicina transfusional veterinária deve ser cuidadosamente avaliada, tornando-se indispensável o conhecimento de alterações durante o armazenamento, elucidando as particularidades de cada espécie, para permitir o adequado uso terapêutico do sangue e seus componentes. A importância expressiva da criação de caprinos, associada às perdas econômicas causadas pela mortalidade nos rebanhos, decorrente dos processos que levam a perdas sanguíneas, e a inexistência de informações que subsidiem o uso racional do sangue caprino armazenado, justificam a realização deste trabalho.

2 OBJETIVOS

GERAL

Avaliar o sangue total de caprinos acondicionado em bolsas tipo CPDA - 1 e CPD/SAG – M.

ESPECÍFICOS

Avaliar hematologicamente, bioquimicamente e hemogasometricamente o sangue total caprino armazenado durante 42 dias em bolsas tipo CPDA-1 e CPD/SAG-M, sob-refrigeração entre 1° e 6° C.

Comparar a conservação de sangue total caprino em bolsas tipo CPDA-1 e CPD/SAG-M, durante 42 dias de estocagem, sob-refrigeração entre 1° e 6° C.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 SANGUE TOTAL ESTOCADO E SUA COMPOSIÇÃO

O sangue é um tecido de consistência líquida, formado por um meio intercelular chamado plasma e por células de dois tipos: os glóbulos vermelhos ou eritrócitos, e os glóbulos brancos ou leucócitos (GARCIA-NAVARRO, 2005). O plasma é constituído por aproximadamente 91,5% de água, 7% de sólidos orgânicos e 1% de sólidos inorgânicos. O restante de 0,5% é um conjunto de substâncias nitrogenadas, gorduras neutras, colesterol, fosfolipídios, glicose, enzimas e hormônios. Os sólidos inorgânicos constituem-se de elementos como sódio (Na^+), potássio (K^+), magnésio, cálcio, fósforo, cobre, cloro e outros que podem encontrar-se na forma de sais ou íons (GARCIA-NAVARRO, 2005). A principal função do sangue é transportar diversos tipos de agentes, tais como: oxigênio, dióxido de carbono, lipídeos, carboidratos, vitaminas, sais minerais, resíduos e hormônios (POOMCOKRAK; NEATPISARNVANIT, 2008).

Historicamente, a terapia transfusional é baseada na utilização de sangue total, e tal uso continua a ser o meio mais prático de transfusão em muitas clínicas veterinárias. Sangue total fresco é o sangue de um doador saudável e apto, colhido adequadamente em um recipiente contendo solução anticoagulante/preservante quando mantido em condições ótimas de preservação, devendo ser colhido e transfundido ou processado em menos de seis horas, de maneira que todos os componentes se apresentem viáveis, uma vez que as plaquetas, em sangue total, não permanecem viáveis por um período de 6 horas ou mais após a coleta (CHIARAMONTE, 2004).

O termo “sangue total estocado” se refere ao sangue fresco total colhido com solução anticoagulante/preservante e armazenado a temperatura de 1 a 6°C (REICHMANN; DEARO, 2001).

3.2 VARIÁVEIS-CONTROLE NO MONITORAMENTO DA QUALIDADE SANGUÍNEA

3.2.1 Hemograma

A estocagem de sangue em condições controladas visa primordialmente preservar os eritrócitos, que são as unidades fundamentais no transporte do oxigênio dos pulmões para os tecidos e de dióxido de carbono no sentido inverso (GARCIA-NAVARRO, 2005). Ao avaliarmos os eritrócitos, várias mensurações podem ser feitas. Estas podem ser combinadas para gerar mais informações, que descrevem a condição destas células (KERR et al., 2003).

3.2.1.1 Contagem de Eritrócitos

A contagem de eritrócitos é determinante para calcular os índices eritrocitários: volume Corpuscular médio (VCM) e concentração da hemoglobina Corpuscular média (CHCM).

O período de armazenamento promove uma série de alterações na membrana plasmática dos eritrócitos, como o aumento gradual da fragilidade osmótica e o surgimento de microvesículas, redução do tamanho celular e esferocitose progressiva, sendo que algumas sofrem lise, levando à diminuição no número destas células (WARDROP et al., 1994).

Caprinos e ovinos chegam a possuir mais que o dobro de eritrócitos circulantes que outros animais (GARCIA-NAVARRO, 2005). Quando o sangue é retirado da corrente sanguínea e mantido sob armazenamento, parece haver variações interespecíficas no tocante a manutenção do número destas células: no sangue ovino, armazenado em CPDA-1 por 35 dias, o número de eritrócitos tende a se manter estatisticamente igual (SOUSA et al., 2013), ocorrendo o mesmo no sangue canino armazenado por 41 dias em CPDA-1 e CPD/SAG-M (COSTA JÚNIOR et al., 2006). No sangue equino armazenado como um concentrado de eritrócitos, por 35 dias, há um aumento nesse número (NIINISTO et al., 2008). Já no sangue

asinino, armazenado por 42 dias em CPDA-1 e CPD/SAG-M, o mesmo tende a diminuir (BARROS, 2011).

3.2.1.2 Contagem Global de Leucócitos

A presença de leucócitos em produtos sanguíneos armazenados tem sido causa de reações febris decorrente da liberação de citocinas, imunossupressão pela diminuição da atividade das células Natural Killer e da fagocitose e lesões pulmonares devido à presença de agregado leucocitário, na circulação pulmonar (EDER; CHAMBERS, 2007). Leucócitos coletados com sangue total podem se romper quando submetidos a baixas temperaturas, liberando proteases e lipases que danificam os eritrócitos durante o armazenamento. A remoção dos leucócitos, isto é, a leucorredução, pela remoção da camada leucoplaquetária ou por leucofiltração, pode prevenir estes danos e permitir a recuperação dos eritrócitos, reduzindo a hemólise (HESS, 2006). A conservação de sangue total em bolsas CPDA-1 em ovinos (SOUSA et al., 2013) e ACD em equinos (LOPES et al., 1995) mostrou redução na leucometria global.

3.2.1.3 Volume Globular (VG) e Volume Corpuscular Médio (VCM)

O volume globular ou hematócrito é simplesmente uma mensuração da fração do volume sanguíneo que é ocupada pelos eritrócitos. É obtido por meio da estratificação do sangue através da centrifugação em três partes: eritrócitos, leucócitos mais plaquetas e uma última, o plasma, podendo ser expresso em porcentagem (KERR et al., 2003). Por isso, o VG está intimamente relacionado com o tamanho e o número dos eritrócitos (MATOS et al., 1995). A aparência do plasma nos tubos de microhematócrito pode fornecer informações importantes, tais como hemólise, icterícia e lipemia (REBAR et al., 2003). Os eritrócitos dos caprinos e ovinos tem um volume celular que vai de 16 a 40 μm^3 , sendo relativamente menores do que os de outras espécies domésticas, quando comparados, por exemplo, ao cão,

cujos eritrócitos medem entre 60 e 77 μm^3 (GARCIA-NAVARRO, 2005). O tamanho destas células é representado pelo VCM, que é calculado conforme a fórmula abaixo.

$$\text{VCM (fL)} = \frac{\text{Volume Globular (\%)}}{\text{N}^\circ \text{ eritrócitos (milhões/mm}^3\text{)}} \times 10$$

(GONZÁLEZ et al., 2008).

Durante o armazenamento do sangue a temperaturas entre 2 e 4°C, o VCM tende a aumentar, elevando também o VG nas espécies equina, asinina e ovina (NIINISTO et al., 2008; BARROS, 2011; SOUSA et al., 2013).

3.2.1.4 Concentração de Hemoglobina Total e Plasmática

A mensuração da concentração de hemoglobina total dá subsídios para se determinar o grau de hemólise e a CHGM. REIS et al., (2011) observaram que a concentração de hemoglobina total tendeu a reduzir no sangue bovino acondicionado em CPDA-1 durante 21 dias. No decorrer do armazenamento do sangue, ocorre sua liberação para o plasma devido à ruptura dos eritrócitos, onde a união entre a hemoglobina e o estroma eritrocitário quebra-se pela ação do agente hemolítico (GONZÁLEZ et al., 2008). O desprendimento de vesículas a partir da superfície eritrocitária, com hemoglobina em seu interior, também contribui para aumentar a concentração plasmática deste pigmento (HESS; GREENWALT, 2002).

Na medicina veterinária não existem parâmetros estabelecidos quanto ao grau de hemólise e o nível de hemoglobina plasmática admissível no sangue total ou no concentrado de hemácias, para as diferentes espécies. No entanto alguns trabalhos levam em consideração os parâmetros humanos (MUDGE, 2004; NIINISTO et al., 2008; BARROS, 2011).

3.2.1.5 Grau de Hemólise

O grau de hemólise é descrito como o percentual de hemoglobina livre no plasma em relação à hemoglobina total, determinada pela fórmula abaixo:

$$\text{Grau de hemólise (\%)} = \frac{(100 - \text{Ht}) \times \text{Hb Plasmática (g/dL)}}{\text{Hb Total (g/dL)}}$$

(MUDGE et al., 2004).

Pela fórmula, percebe-se que quanto mais eritrócitos se romperem, mais hemoglobina estará livre no plasma e, conseqüentemente, maior será o grau de hemólise do sangue armazenado (SOWEMIMO-COKER, 2002). A hemólise é um marcador fidedigno da falha de um sistema de conservação sanguínea e ocorre pela lise da membrana plasmática do eritrócito com conseqüente liberação de hemoglobina (HESS; GREENWALT, 2002).

Vários fatores podem estar associados com a lise dos eritrócitos e podem ser de natureza mecânica, bioquímica ou pela presença de leucócitos. A manipulação do sangue requer cuidados especiais, tendo em vista a relativa fragilidade da membrana plasmática eritrocitária que pode romper com os choques mecânicos. Baixas concentrações de ATP (adenosina trifosfato) reduzem a capacidade de equilíbrio iônico pela bomba sódio/potássio e a célula pode vir a romper por turgescência demasiada. Além disso, com a depleção de ATP se perde a integridade do esqueleto ligado à bicamada lipídica, com perda da forma normal do eritrócito e liberação de hemoglobina na forma de microvesículas (HESS; GREENWALT, 2002).

3.2.2 Hemogasometria e Bioquímica

3.2.2.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH sanguíneo dos animais está próximo da neutralidade com leve tendência à alcalinidade (aproximadamente 7.4). Em condições fisiológicas, as reações metabólicas tendem a desviar continuamente este pH para ácido ou alcalino (ALMOSNY, 2003). Com a retirada do sangue da circulação, o metabolismo das células continua, levando a uma redução do pH, principalmente devido à metabolização da glicose para lactato com consequente acúmulo de íons H^+ . Com o uso da refrigeração, em torno de 1 a 6° C, estas reações bioquímicas são retardadas, possibilitando um maior período de conservação do sangue dentro das bolsas (AUTHEMENT, 1986).

Sob variadas condições de estocagem o metabolismo eritrocitário começa rapidamente, mas, diminui com a queda do pH (HESS et al., 2001). Isso ocorre porque o pH ácido retarda a glicólise por inibir a fosfofrutoquinase (HESS, 2010). Então, até certo ponto a queda de pH é desejável, pois a diminuição do metabolismo tende a manter viáveis os constituintes sanguíneos por mais tempo.

Segundo Hess, (2006) a coleta de sangue total em soluções preservantes, contendo citrato fosfato dextrose (CPD), normalmente já reduz o pH, e a adição de solução aditiva reduz ainda mais esta variável. No entanto, há um limite inferior de pH para que o ATP se mantenha em concentrações adequadas. Em humanos verificou-se que eritrócitos em suspensão em pH 6.6 mantiveram ativa a glicólise e mantiveram o ATP durante várias semanas, enquanto que aquelas a pH 6.2 produziram um pouco de lactato e as concentrações de ATP diminuíram rapidamente (HESS et al., 2001).

Como observação geral, o limite inferior de pH para o armazenamento de eritrócitos em humanos é de cerca de 6.2, estimado a partir de muitas amostras de sangue armazenadas em uma variedade de sistemas (HESS; GREENWALT, 2002).

A redução dos valores de pH em sangue armazenado é um achado frequente em estudos com espécies domésticas. Ribeiro Filho et al., (1994) trabalhando com sangue bovino

conservado em CPDA-1 obtiveram valores de pH reduzidos após 35 dias de armazenamento. O mesmo relatou Sousa et al., (2013) ao trabalhar com sangue ovino nas mesmas condições.

3.2.2.2 Dióxido de Carbono Total (TCO_2) e Bicarbonato (HCO_3^-)

O bicarbonato é uma base fraca responsável por mais de 50% da capacidade tamponante do meio extracelular. A redução nos valores sanguíneos do HCO_3^- pode ser em virtude de seu consumo no controle da acidez (LUNA, 2002). Em solução, o bicarbonato se combina com um próton H^+ produzido pelo ácido carbônico, sendo em seguida convertido a dióxido de carbono e água pela anidrase carbônica presente nos eritrócitos (HESS, 2006). Por essa reação é possível observar que surge uma relação entre o TCO_2 e a concentração de HCO_3^- existentes na solução.

Sempre que os distúrbios respiratórios podem ser eliminados, o componente metabólico do equilíbrio acidobase é indicado pela concentração de bicarbonato, e este é geralmente estimado pela determinação do TCO_2 , pois o HCO_3^- é responsável por aproximadamente 95% do TCO_2 mensurado (KANEKO, 2008).

3.2.2.3 Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (pCO_2) e Pressão Parcial de Oxigênio (pO_2)

Durante o armazenamento o CO_2 é formado a partir da reação neutralizante do HCO_3^- com os íons H^+ . Em seguida o CO_2 se difunde para fora da bolsa plástica, removendo prótons efetivamente da solução e diminuindo a taxa de redução do pH (HESS, 2006). Trabalhando com sangue bovino armazenado em CPDA-1, Ribeiro Filho et al., (1994) observaram aumento dos níveis da pCO_2 na primeira semana e redução após este período. Este mesmo achado foi descrito também por Laposy e Nogueira, (2011) que estudaram o sangue canino em bolsas CPDA-1.

A pO_2 tende a aumentar no interior das bolsas, sendo observado aumento dessa variável no armazenamento de sangue bovino, canino, asinino e ovino (RIBEIRO FILHO et

al., 1994; COSTA JUNIOR et al., 2006; BARROS, 2011; SOUSA et al., 2013), comprovando que as bolsas plásticas utilizadas para o armazenamento do sangue são permeáveis ao CO₂ e ao O₂ (Ribeiro Filho et al., 1994).

Hashimoto, (1997) acondicionou sangue humano em seis tipos de bolsa, de diferentes fabricantes, e as manteve em temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante duas horas, e observou que a saída de CO₂ foi menor do que a entrada de O₂, em todos os tipos de bolsa.

3.2.2.4 Déficit de Base

O déficit de base, muitas vezes considerado como excesso de base, quando o valor é positivo, geralmente é considerado como uma indicação do desvio de bicarbonato do normal. Em um animal com acidose metabólica, por exemplo, o déficit de base calculado fornece um meio de estimar a quantidade de bicarbonato requerida para corrigir o balanço acidobase para o normal. Esta variável ainda não é tão usual na medicina veterinária, no entanto, pode ser fornecida na avaliação de rotina do equilíbrio acidobase em animais (CARLSON, 2008).

3.2.2.5 Potássio e Sódio plasmáticos (K⁺ e Na⁺)

No interior das células, o potássio tem função parecida com a do sódio no líquido extracelular, influenciando o equilíbrio acidobase e a pressão osmótica, incluindo a retenção de água. Concentrações elevadas de K⁺ intracelular são essenciais para várias funções metabólicas importantes, incluindo a biossíntese de proteínas pelos ribossomos. Mudanças na concentração de K⁺ que alteram a relação entre K⁺ intra e extracelular, alteram o potencial de membrana (CARLSON, 2008). Este potencial permite a geração do potencial de ação necessário para a função neural e muscular. Desse modo, tanto aumentos como reduções no nível de K⁺ plasmático podem desequilibrar a relação, provocando arritmias cardíacas e paralisia muscular (MOTTA, 2000).

Em grande parte o K^+ é um íon intracelular, com mais de 98% dos íons localizados intracelularmente. Assim como em humanos, outras espécies animais com alta concentração de K^+ intracelular, como equinos, suínos e alguns ruminantes, tem uma bomba sódio/potássio (Na^+/K^+) responsável pelo equilíbrio iônico, que troca Na^+ intracelular por K^+ extracelular, por meio da hidrólise de ATP. Com a depleção da glicose e temperaturas de 2 a 6°C, esse mecanismo é paralisado e o K^+ intracelular deixa a célula, enquanto o Na^+ entra (HARVEY, 2008).

A concentração de K^+ extracelular aumenta no sobrenadante de sangue total e concentrado de eritrócitos com o decorrer do tempo de armazenamento a temperatura de 1 a 6°C com soluções preservativas anticoagulantes contendo CPDA-1 ou solução salina (AS) (MOORE et al., 1981; HEATON et al., 1984; BANSAL, 2007). Quando eritrócitos de diferentes animais são comparados, verifica-se uma forte correlação positiva entre a concentração de ATP e a relação K^+/Na^+ intracelular (MISETA et al., 1993). A depressão da bomba Na^+/K^+ , em sangue preservado a 4°C, implica absorção de sódio e água nos eritrócitos com aumento significativo do seu volume (FINK, 1998).

O aumento do nível do potássio extracelular indica um dos primeiros eventos que se relacionam com a piora da qualidade das células vermelhas (KORTE; VERHOEVEN, 2004). Transfusões sanguíneas com altos níveis de potássio oferecem risco de arritmia e está presente principalmente com grandes volumes de transfusões em recém-nascidos e crianças, sendo relatado parada cardíaca letal (VAN DE WATERING, 2011). Sousa et al. (2013) trabalhando com sangue ovino em CPDA-1, observou aumento do K^+ e redução do Na^+ plasmáticos, ocorrendo o mesmo com sangue bovino conservado em CPDA-1 por 21 dias (REIS et al., 2011). Em contraste, outros experimentos com sangue bovino mostraram um progressivo aumento na concentração do Na^+ , sustentando dados de estudos com sangue humano, canino e equino, armazenados em bolsas CPDA-1 (HÖGMAN, 1999; RIBEIRO FILHO et al., 1994; BARTHEL, 1999; MUDGE, et al., 2004).

3.2.3 Microbiologia

O sangue armazenado pode ser um meio de cultura ideal para bactérias. Cerca de uma em cada duas mil unidades de sangue humano armazenadas é contaminada com bactérias no momento da coleta, a partir da pele do doador, ou por bactérias já presentes no sangue (HESS, 2010). A maioria das bactérias não sobrevive ao armazenamento a frio, mas as bactérias termotolerantes, como *Aeromonas*, *Vibrio*, e espécies de *Serratia*, podem sobreviver e crescer lentamente. Elas se dividem uma vez por dia, de modo que, normalmente, demoram pelo menos 19 dias para que uma bactéria se multiplique para as 10^8 bactérias que podem causar uma septicemia grave (HESS, 2010). A contaminação bacteriana pode mudar o pH do sangue, de modo que nos Estados Unidos a mensuração do pH é usada como indicador substituto da presença de bactéria no sangue total (BARKER et al., 2010). A formação de coágulos, alteração de cor, massas anormais no sangue, plasma opaco, presença de gás ou odor peculiar devem levantar a suspeita de que aquela unidade está contaminada (SOWEMIMO-COKER, 2002).

3.3 BOLSAS PLÁSTICAS DE CONSERVAÇÃO SANGUÍNEA E REFRIGERAÇÃO

O termo “bolsa plástica” é utilizado para definir o recipiente completo com o tubo de coleta e agulha, os tubos de saída, as soluções anticoagulantes e/ou preservadoras e os tubos de transferência e recipientes associados, quando existentes (ANVISA, 2004). Os filmes das bolsas de armazenamento de sangue são fabricados com uma mistura de PVC com alguns plastificantes que conferem a flexibilidade necessária ao material, além de influenciar no processamento e preservação dos componentes do sangue, por possuírem permeabilidade ao CO_2 e O_2 (HESS; GREENWALT, 2002; RIBEIRO FILHO et al., 1994).

Atualmente o mercado dispõe de diversos tipos de bolsas plásticas desenvolvidas para coleta e armazenamento do sangue, seja como sangue total ou hemocomponentes. São diversas opções que visam atender diferentes fins, podendo conter constituintes anticoagulantes diversos, além de soluções aditivas compostas por fatores nutricionais para

eritrócitos. No Brasil são regulamentadas pelo Ministério da Saúde quatro soluções anticoagulantes e/ou preservadoras que compõem diferentes bolsas de armazenamento sanguíneo: ACD (Ácido, Citrato, Dextrose), CPD (Citrato, Fosfato, Dextrose), CPDA-1 (Citrato, Fosfato, Dextrose, Adenina), e CPD/SAG-M (Citrato, Fosfato, Dextrose / Salina, Adenina, Glicose, Manitol), sendo que as bolsas contendo CPDA-1 tem sido as mais utilizadas na medicina veterinária (LANEVSKI e WARDROP, 2001).

As soluções anticoagulantes tradicionais ACD, CPD e CPDA foram desenvolvidas na década de 1960, quando o sangue total foi predominantemente utilizado na terapia transfusional (SCOTT, 2005). Estas soluções são aprovadas para armazenamento de sangue total até 35 dias (FRIDEY, 2003). À medida que as lesões de armazenamento tornaram-se um reconhecido fator de redução da viabilidade pós-transfusional eritrocitária, a suplementação de soluções aditivas de armazenamento foram progressivamente alteradas para melhorar a qualidade dos glóbulos vermelhos armazenados. A solução aditiva SAG-M foi desenvolvida e prolongou o período de armazenamento para 42 dias (HESS; GREENWALT, 2002). Originalmente, as soluções aditivas são adicionadas ao concentrado de hemácias, após a centrifugação do sangue total e separação do plasma. Pesquisas no campo da medicina veterinária tem utilizado essas soluções na conservação de sangue total (COSTA JÚNIOR et al., 2006; BERTOLETTI, 2011; BARROS, 2011).

Várias abordagens mostraram serem eficazes na redução da taxa de hemólise e redução de danos de membrana durante o armazenamento, em que as mais populares são a utilização de PVC com plastificantes e a adição de estabilizadores de membrana tais como manitol e citrato (HÖGMAN, 1998).

A preservação hipotérmica de eritrócitos baseia-se no princípio de que os eventos bioquímicos e reações moleculares podem ser suprimidos por uma redução da temperatura. No contexto da biopreservação, condições hipotérmicas são aquelas em que a temperatura é inferior a temperatura fisiológica normal, mas superior ao ponto de congelamento da solução de armazenamento (SCOTT, 2005). Como as taxas de reações bioquímicas são dependentes da temperatura, o armazenamento a temperaturas de 1°C a 6°C minimizam a degradação dos eritrócitos por reduzir seu metabolismo em até 40 vezes. (HÖGMAN, 1998).

3.4 LESÕES ERITROCITÁRIAS DURANTE O ARMAZENAMENTO

Durante o armazenamento *in vitro*, os eritrócitos passam por mudanças que afetam sua função e viabilidade, muitas vezes referidas coletivamente como "lesões de armazenamento". Estas mudanças aumentam a preocupação com a oferta de oxigênio adequada, com o aumento da adesão de eritrócitos ao endotélio e com a deformabilidade eritrocitária prejudicada, que é necessária para sua passagem através de pequenos capilares (VAN DE WATERING, 2011). As lesões de armazenamento vão desde modificações microscópicas das células vermelhas, que podem resultar em danos irreversíveis e redução da sobrevivência pós-transfusional, até o acúmulo de substâncias biorreativas que podem influenciar a qualidade do sangue transfundido e contribuir para reações pós-transfusionais (CHIN-YEE et al., 1997).

Acredita-se que as alterações que ocorrem durante o processo de armazenamento são responsáveis por muitos dos efeitos adversos, cada vez mais reconhecidos, associados com a transfusão de eritrócitos (KOR et al., 2009). As alterações bioquímicas sobre os eritrócitos armazenados são principalmente relacionadas às alterações no metabolismo energético, com depleção do ATP. Devido ao seu papel central no metabolismo celular, os níveis adequados de ATP são essenciais para inumeráveis processos celulares. Exemplos incluem a manutenção da atividade da bomba Na^+/K^+ , estabilidade da membrana de eritrócitos, transporte de glicose, mecanismos de defesa do estresse oxidativo, distribuição de fosfolipídios de membrana e vasodilatação regional sob condições de hipóxia (ALMAC et al., 2007).

Notavelmente, as alterações biomecânicas vistas nos eritrócitos durante o processo de armazenamento incluem: alterações na forma corpuscular, deformabilidade, fragilidade osmótica e agregabilidade (ALMAC et al., 2007). Como o diâmetro dos capilares variam de 3-8 μm , alterações sutis na deformabilidade do eritrócito pode ter um impacto substancial na sua capacidade de atravessar a microcirculação. Têm-se demonstrado que estas mudanças afetam o trânsito de eritrócitos através da microcirculação, resultando em decréscimo da oxigenação tecidual (MARIK et al., 1993). Mudanças específicas na morfologia eritrocitária incluem a transição de um disco bicôncavo deformável para equinócitos pouco deformáveis com protruções, e posteriormente para esferoequinócitos não deformáveis (HESS; GREENWALT, 2002).

3.5 VIABILIDADE TRANSFUSIONAL DO SANGUE ARMAZENADO

Dos eritrócitos transfundidos no final do tempo de armazenamento, 20 a 25% se tornam inviáveis e são removidos da circulação dentro de algumas horas. As células que sobrevivem após 24h mostram uma vida normal, independentemente da duração do armazenamento (LUTEN, 2008).

Enquanto a depleção de ATP pode resultar em mudanças de deformação características, observadas no armazenamento prolongado de eritrócitos, estas alterações morfológicas são visivelmente revertidas com a normalização dos níveis de ATP. É importante ressaltar que esses níveis normalizam rapidamente após a transfusão. Além disso, a redução gradual dos níveis de ATP intracelular parece não se correlacionar bem com essas mudanças morfológicas (KOR et al., 2009).

Ao longo dos anos, estudos tem mostrado que os leucócitos podem exercer efeitos deletérios indiretos sobre os eritrócitos armazenados por consumir a glicose da solução conservadora e por liberar substâncias biorreativas. Durante o armazenamento ocorre ruptura dos leucócitos, promovendo liberação de imunomoduladores inflamatórios como histamina, mieloperoxidase e proteína eosinofílica catiônica (HÖGMAN, 1998).

A presença de leucócitos em produtos sanguíneos armazenados tem sido causa de reações febris decorrente da liberação de citocinas, imunossupressão pela diminuição da atividade das células Natural Killer e da fagocitose e lesões pulmonares devido à presença de agregado leucocitário, na circulação pulmonar. Dessa forma, a transfusão de sangue armazenado sem leucorredução (redução mediante filtração) pode desencadear reação inflamatória no receptor e assim potencializar ou ser mascarada, por doença primária que o receptor pode ter (MCMICHAEL et al., 2010).

Durante o armazenamento, a presença de leucócitos juntamente com os eritrócitos acelera a hemólise e aumenta o potássio extracelular, portanto a conservação é melhor quando se elimina a camada leucoplaquetária (HÖGMAN et al., 2002). A hemólise intravascular representa uma condição patológica severa em vários sistemas vitais, incluindo gastrointestinal, cardiovascular, pulmonar, urogenital, anormalidades hematológicas e renais (ROTHER, 2005). A redução de 80 a 90% dos leucócitos tem demonstrado redução dos riscos de reação pós transfusional (HÖGMAN, 1998).

A severidade da maioria das reações transfusionais é dose-dependente e seu reconhecimento precoce pode evitar maiores complicações. Assim, o paciente deve ser cuidadosamente monitorado, principalmente nos primeiros 30 minutos da transfusão. Quando se suspeitar de reações adversas, a transfusão deve ser interrompida imediatamente (por, no mínimo, 10 a 15 minutos) e o paciente avaliado. Deve-se verificar se a velocidade usada está correta. Sinais de febre leve ou de hipersensibilidade tipo I geralmente desaparecem e a transfusão pode ser reiniciada lentamente. Em grandes animais recomenda-se o tratamento de reações leves com administração de flunixin meglumine. A transfusão pode ser retomada em ritmo mais lento após 15 minutos. No caso de reações intensas, sugestivas de anafilaxia, é indicado o uso de drogas com ação adrenérgica, fluidoterapia intravenosa e glicocorticoides após a imediata interrupção da transfusão (GINGERICH, 1986; DURHAM, 1996; COLLATOS, 1997; STONEHAM, 1997; MORRIS, 1999).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas dependências da Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA. Todos os procedimentos, a que foram submetidos os animais, passaram por avaliação do Comitê de Ética da instituição, sendo aprovados sob parecer de número 59/2013.

Foram utilizados sete caprinos machos, adultos, castrados, sem raça definida, pesando em média 45 Kg. Eles passaram por um período de adaptação de sessenta dias, em que receberam capim Tanzânia (*Panicum maximum*) como volumoso, concentrado comercial para caprinos e sal mineral, sendo submetidos a exame parasitológico periodicamente, com administração de endoparasiticida¹ e coccidiostático².

4.1 COLETA E ARMAZENAMENTO DO SANGUE

O sangue coletado foi armazenado no Laboratório de Medicina Interna Veterinária - UFERSA, onde foram realizadas as análises em parceria com o Laboratório de Doenças Nutricionais e Metabólicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP).

Antes da coleta realizou-se tricotomia e antissepsia da região jugular, sendo coletadas as duas bolsas simultaneamente por meio de venipunctura da veia jugular externa, ao mesmo tempo em que as mesmas eram homogeneizadas e pesadas em balança digital³. Para a pesagem considerou-se um mililitro de sangue sendo equivalente a um grama. De cada animal foram coletadas duas bolsas de sangue através da pesagem das mesmas, totalizando 900g de sangue, dividido em partes iguais. As bolsas plásticas continham solução anticoagulante/preservadora, sendo uma com citrato-fosfato-dextrose-adenina (CPDA-1)⁴ e

¹ Endazol 10% cobalto, IRFA – Química e Biotecnologia Industrial LTDA.

² Coccifin, Ouro Fino Produtos Veterinários.

³ Balança Comercial Coiman – Modelo BN, Coiman®, Comércio e Indústria de Madeiras e Metalúrgica São Cristóvão, Dracena, Brasil.

⁴ Bolsas plásticas duplas CPDA-1, para coleta de sangue, Fresenius Hemocare®.

outra contendo citrato-fosfato-dextrose/salina-glicose-manitol (CPD/SAG-M)¹, conforme o quadro 1.

Quadro 1. Composição das bolsas plásticas tipo CPDA-1 e CPD/SAG-M, nas quais foi acondicionado o sangue total caprino.

COMPONENTE	CPDA-1	CPD/SAG-M
Ácido Cítrico	0,229g	0,229g
Citrato de Sódio	2,63g	2,63g
Fosfato Diácido de Sódio	0,222g	0,222g
Glicose	3,19g	3,45g
Adenina	0,0275g	0,017g
Manitol	nc	0,525g
Cloreto de Sódio	nc	0,877g

Fonte: Fresenius hemocare. nc: não contém.

As bolsas foram armazenadas em refrigerador durante 42 dias e mantidas a temperatura média de 3°C, sendo homogeneizadas uma vez ao dia. Durante esse período foram feitas avaliações semanais da qualidade do sangue armazenado por meio da mensuração de variáveis hematológicas, variáveis bioquímicas, variáveis hemogasométricas e microbiologia.

4.2 AVALIAÇÃO DO SANGUE ARMAZENADO

4.2.1 Tempos experimentais

A avaliação do sangue total caprino armazenado, por meio de análises hematológicas, bioquímicas, hemogasométricas e microbiologia, foi realizada em sete momentos, conforme demonstra o quadro 2.

¹ Bolsas plásticas triplas CPD/SAG-M, para coleta de sangue, Fresenius Hemocare®.

Quadro 2. Tempos experimentais em que foram realizadas as análises das amostras do sangue total caprino armazenado.

Tempos	Momentos de avaliação
T0	Imediatamente após a coleta
T7	Sete dias após a coleta
T14	Quatorze dias após a coleta
T21	Vinte e um dias após a coleta
T28	Vinte e oito dias após a coleta
T35	Trinta e cinco dias após a coleta
T42	Quarenta e dois dias após a coleta

4.2.2 Hemograma

Foi utilizada uma alíquota do sangue armazenado de cada bolsa para contagem de eritrócitos, leucócitos, determinação do volume globular e determinação da hemoglobina total e plasmática.

A contagem de eritrócitos e leucócitos foi realizada pelo método manual em Câmara de Neubauer por macrodiluição seguindo os procedimentos de Hendrix (2005). A mensuração do volume globular foi obtida em centrífuga para microhematócrito, sendo utilizados tubos capilares de 75 mm, onde as amostras foram centrifugadas a uma força real de centrifugação de 12.500 g, por 15 minutos e, posteriormente, lidas em tabela de microhematócrito (KERR, 2003). As concentrações de hemoglobina plasmática e total foram determinadas pelo método da cianometahemoglobina, onde 10µL de plasma ou sangue eram diluídos em 2,5mL de solução de Drabkin, sendo realizada leitura posterior em espectrofotômetro, a 540nm conforme Hendrix (2005). O grau de hemólise foi calculado de acordo com Mudge et al., (2004), seguindo a fórmula abaixo:

$$\text{Grau de hemólise (\%)} = \frac{(100 - \text{Ht}) \times \text{Hb Plasmática (g/dL)}}{\text{Hb Total (g/dL)}}$$

4.2.3 Avaliação bioquímica

As variáveis bioquímicas mensuradas foram glicose, lactato, sódio, potássio e proteínas plasmáticas. Para isso foram coletadas alíquotas de sangue armazenado nas bolsas em tubo de ensaio, centrifugadas para obtenção do plasma, congelado a -20°C e, posteriormente, descongeladas a temperatura ambiente para mensuração das variáveis. As concentrações de glicose, lactato e proteínas plasmáticas totais foram determinadas em analisador bioquímico automatizado¹ utilizando kits comerciais. A concentração plasmática de sódio e potássio foi determinada por fotometria de chama, sendo as amostras diluídas em água deionizada (1:200) e posteriormente lidas em fotômetro².

4.2.4 Avaliação Hemogasométrica

Em cada tempo experimental foram retiradas alíquotas de meio mililitro de sangue de cada bolsa em seringa tipo insulina, sendo hermeticamente fechada e acondicionada em caixa isotérmica com gelo e água para determinação das variáveis hemogasométricas do sangue armazenado, por meio de aparelho de gasometria portátil³, utilizando cartuchos comerciais específicos⁴. As variáveis mensuradas foram pH, pressão parcial de oxigênio (pO_2), pressão parcial de Dióxido de Carbono (pCO_2), saturação de oxigênio (sO_2), bicarbonato (HCO_3), déficit de base (BE) e Dióxido de Carbono total (TCO_2).

¹ Modelo RX Daytona, Randox®.

² Fotômetro CELM®.

³ Equipamento portátil de análise sanguínea, modelo i – STAT, Abbott Point Care®.

⁴ Cartucho para teste diagnóstico rápido CG4+, Abbott Point Care®.

4.2.5 Avaliação microbiológica

Foram retiradas alíquotas de meio mililitro de sangue de cada bolsa em seringa estéril, hermeticamente fechadas e enviadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da UFERSA. Em placas de Petri esterilizadas colocou-se aproximadamente 15 mL do meio ágar sangue (Blood Ágar Base adicionado com 5% de sangue de carneiro) e após a solidificação semeou-se uma alíquota de sangue com auxílio da alça de Drigalski em placa de Petri devidamente identificada com os números das amostras. Em seguida, as placas foram colocadas em estufa a 36°C por 48 horas. Após este período, realizou-se leitura com auxílio de contador de colônias. Todo este procedimento foi realizado em fluxo laminar.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para se conhecer a distribuição dos dados obtidos nas diversas variáveis estudadas os mesmos foram submetidos ao teste de Kolmogorov e Smirnov. Como os dados *in totum* apresentaram distribuição normal, os mesmos foram submetidos inicialmente à análise de variância de medidas repetidas de duas vias (Two-way repeted mensure ANOVA) seguidas de teste de comparação de média de Bonferoni, considerando o efeito do tipo de bolsa (CPDA-1 ou SAG-M) e o efeito do tempo (diferentes momentos de coletas). Foi utilizado software estatístico GraphPad Prisma para execução das análises sendo considerado um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 HEMOGRAMA

5.1.1 Contagem de Eritrócitos

Não houve diferença ($p>0,05$) na manutenção do número de eritrócitos, na comparação entre os dois tipos de bolsa em estudo.

Na bolsa CPDA-1 não houve diferença ($p>0,05$) entre o tempo inicial (T0) e os demais. Na bolsa SAG-M se observou resultado semelhante em que as médias de cada momento não diferiram da média de T0, sendo menor ($p<0,05$) apenas no T14 (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Número de Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	12,69	12,99	12,26	13,84	13,3	13,13	13,5
S	1,45	1,56	1,39	2,40	1,86	1,76	1,94
SAG-M							
X	12,6 ^a	10,93 ^{ab}	10,61 ^b	11,41 ^{ab}	10,99 ^{ab}	11,24 ^{ab}	11,63 ^{ab}
S	2,58	1,33	1,12	1,71	1,09	1,25	2,11

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferoni ($p<0,05$). Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

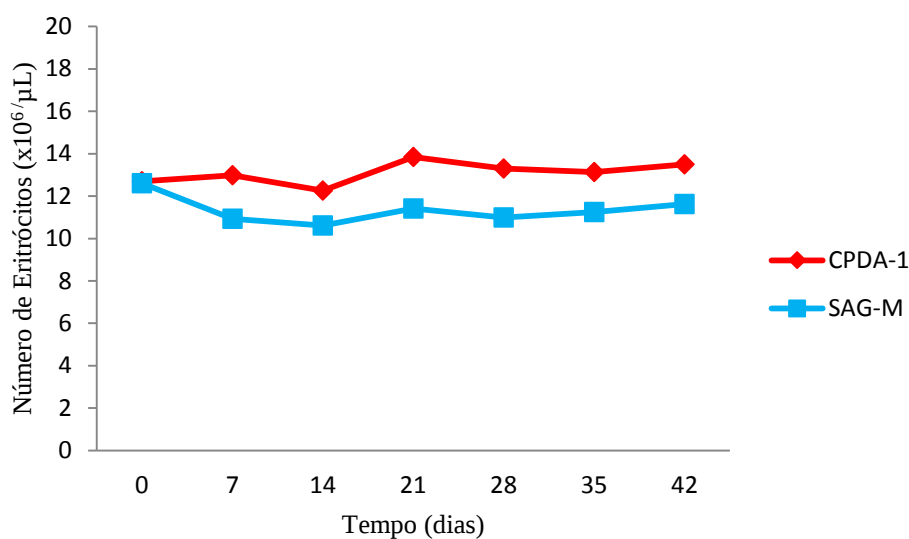


Figura 1. Representação dos valores médios do número de eritrócitos do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.1.2 Volume Globular (VG)

A bolsa SAG-M apresentou valores de VG menores ($p < 0,05$) do que a bolsa CPDA-1 do momento T7 até o momento final (T42) (Tabela 2).

Na comparação do T0 com os outros tempos, as médias do VG não diferiram ($p > 0,05$) nos dois tipos de bolsa (Figura 2).

Tabela 2. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Volume Globular (%) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	20,29 ^A	21,00 ^A	20,86 ^A	21,29 ^A	20,71 ^A	21,86 ^A	21,43 ^A
S	1,60	1,91	2,27	2,29	1,60	2,12	3,95
SAG-M							
X	18,29 ^A	17,57 ^B	17,14 ^B	17,29 ^B	17,14 ^B	16,71 ^B	18,14 ^B
S	3,45	1,90	1,46	1,38	1,46	1,50	1,77

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p < 0,05$).

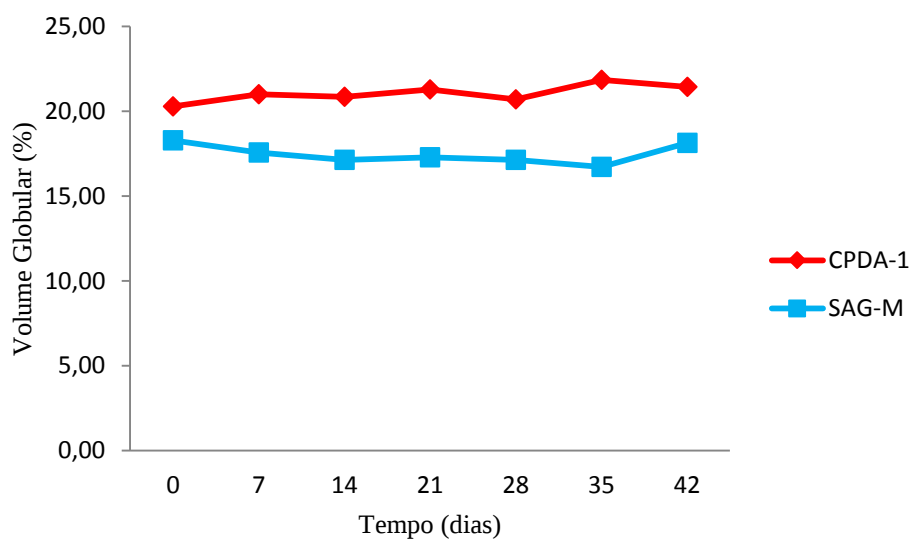


Figura 2. Representação dos valores médios do Volume Globular (%) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.1.3 Volume Corpuscular Médio (VCM)

Comparando-se os dois tipos de bolsas em estudo, não se observou diferença ($p>0,05$) do VCM durante o experimento.

Na comparação entre os tempos, tanto na bolsa CPDA-1 como na SAG-M não se observou diferença ($p>0,05$) nos valores médios do volume corpuscular médio (Tabela 3 e Figura 3).

Tabela 3. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Volume Corpuscular Médio (fL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	16,09	16,29	17,07	15,60	15,70	16,74	15,87
S	0,90	1,11	1,28	1,74	1,28	1,14	1,45
SAG-M							
X	15,23	16,39	16,34	15,51	15,90	15,00	15,99
S	2,89	2,66	2,24	2,65	2,05	2,21	3,40

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p<0,05$). Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

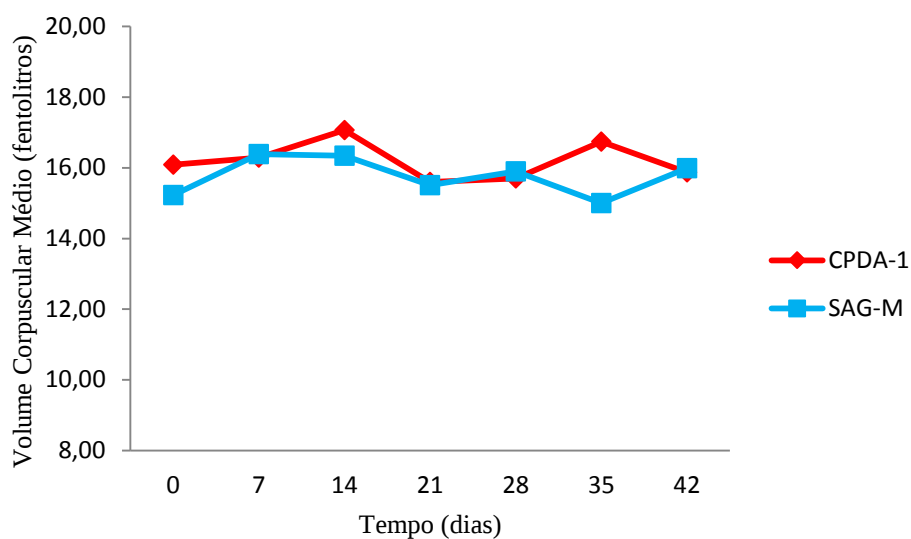


Figura 3. Representação dos valores médios do Volume Corpuscular Médio (fentolitros) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.1.4 Concentração de Hemoglobina Total

Em todos os momentos os valores da concentração de hemoglobina total foram menores ($p < 0,05$) na bolsa SAG-M quando comparados aos observados na bolsa CPDA-1 (Figura 4).

Já na comparação do momento inicial (T0) com os momentos seguintes a bolsa SAG-M manteve sem diferença ($p > 0,05$) seus valores de hemoglobina total até o momento T21, e a partir do T28 se observou uma ligeira redução ($p < 0,05$) até o momento final (T42). Na bolsa CPDA-1 ocorreu uma ligeira redução destes valores ($p < 0,05$), mas, a partir do momento T21 (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Concentração de Hemoglobina Total (g/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	7,73 ^{Aa}	7,66 ^{Aa}	7,49 ^{Aab}	7,26 ^{Abc}	7,04 ^{Ac}	7,19 ^{Abc}	6,39 ^{Ad}
S	0,61	0,59	0,56	0,53	0,58	0,52	0,66
SAG-M							
X	6,29 ^{Ba}	6,29 ^{Ba}	6,17 ^{Bab}	6,07 ^{Bab}	5,93 ^{Bbc}	5,74 ^{Bc}	5,36 ^{Bd}
S	0,41	0,51	0,42	0,42	0,40	0,41	0,43

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferoni ($p < 0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p < 0,05$).

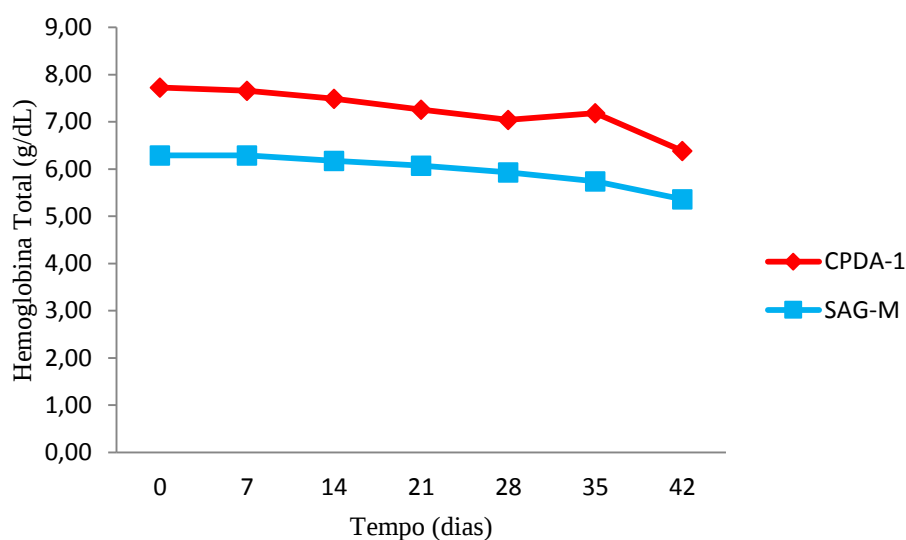


Figura 4. Representação dos valores médios da Hemoglobina Total (g/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.1.5 Concentração de Hemoglobina Plasmática

Em todos os momentos os valores da concentração de hemoglobina plasmática foram menores ($p < 0,05$) na bolsa CPDA-1 quando comparados aos observados na bolsa SAG-M (Figura 5).

Já na comparação do momento inicial (T0) com os momentos seguintes, a bolsa SAG-M manteve sem diferença ($p>0,05$) seus valores de hemoglobina plasmática até o momento T7, e a partir do T14 se observou aumento ($p<0,05$) até o momento final (T42). Na bolsa CPDA-1 também ocorreu aumento ($p<0,05$) destes valores, a partir do momento T7 (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Concentração de Hemoglobina Plasmática (g/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	0,004 ^{Bf}	0,005 ^{Be}	0,006 ^{Bd}	0,009 ^{Bc}	0,011 ^{Bb}	0,011 ^{Bb}	0,012 ^{Ba}
S	0,0005	0,0011	0,0008	0,0015	0,0008	0,0007	0,0007
SAG-M							
X	0,011 ^{Ad}	0,011 ^{Ad}	0,012 ^{Ac}	0,014 ^{Ab}	0,014 ^{Ab}	0,015 ^{Aa}	0,015 ^{Aa}
S	0,0005	0,0008	0,0008	0,0005	0,0007	0,0005	0,0008

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferoni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

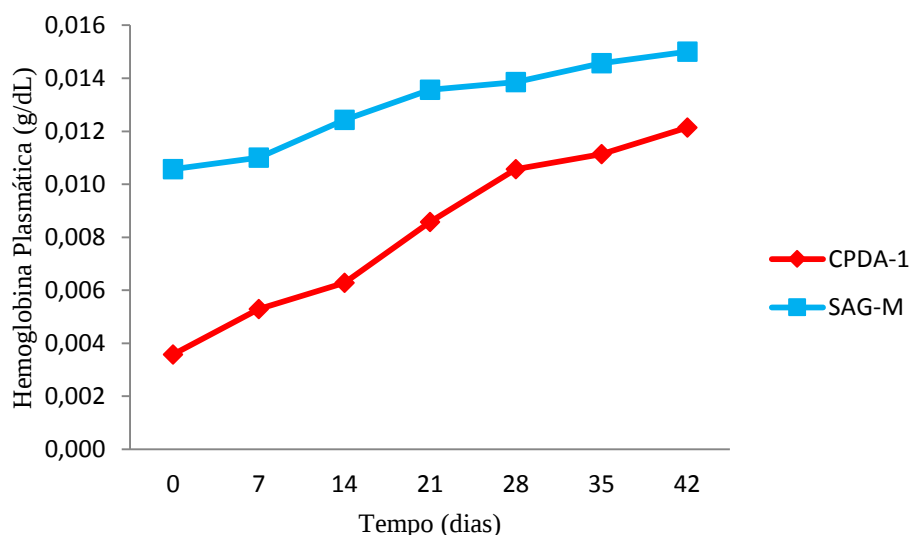


Figura 5. Representação dos valores médios da Hemoglobina Plasmática (g/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.1.6 Contagem Global de Leucócitos

Na contagem global de leucócitos não houve diferença ($p>0,05$) entre os tipos de bolsa.

As médias da bolsa CPDA-1 não diferiram ($p>0,05$) quando comparadas ao T0. Na bolsa SAG-M se observou uma redução ($p<0,05$) no número de leucócitos apenas no último momento, quando comparado ao T0 (Tabela 6 e Figura 6).

Tabela 6. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Número de Leucócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}$) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	6,47	8,10	6,89	7,34	6,46	6,25	6,15
S	2,37	2,43	2,62	1,96	1,21	2,68	2,55
SAG-M							
X	6,29 ^{ab}	6,71 ^a	6,09 ^{abc}	5,34 ^{abc}	3,86 ^{bc}	4,31 ^{abc}	3,69 ^c
S	1,86	2,18	1,74	1,97	1,75	2,31	1,91

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p<0,05$). Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

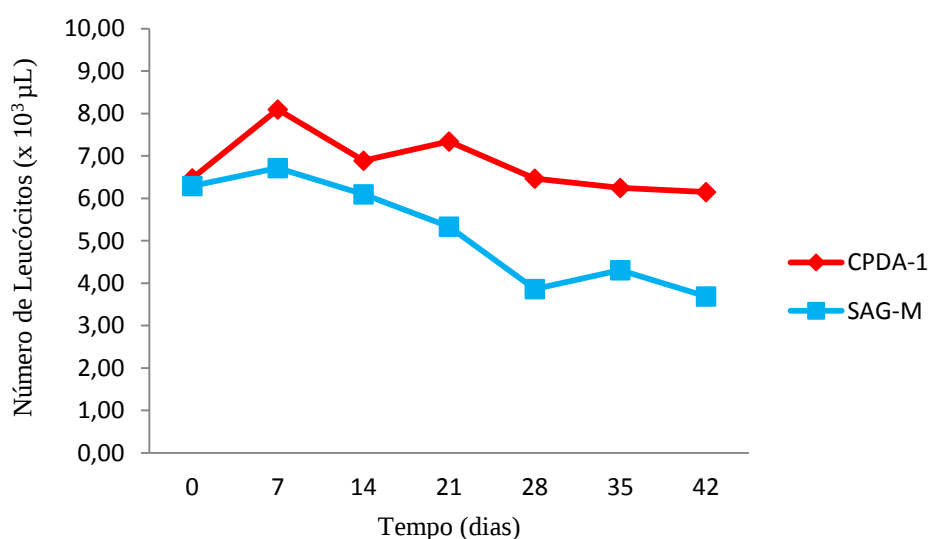


Figura 6. Representação dos valores médios do Número de Leucócitos Totais do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.1.7 Grau de Hemólise

Em todos os momentos os valores do grau de hemólise foram menores ($p < 0,05$) na bolsa CPDA-1 quando comparados aos observados na bolsa SAG-M (Figura 7).

Na bolsa CPDA-1 os valores do grau de hemólise aumentaram ($p < 0,05$) até o momento T42, quando comparados ao momento inicial (T0). Na bolsa SAG-M estes valores também aumentaram ($p < 0,05$) até o momento T42, quando comparados ao T0, no entanto, apenas a partir do T14 (Tabela 7).

Tabela 7. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Grau de Hemólise (%) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	0,04 ^{Be}	0,05 ^{Bd}	0,07 ^{Bd}	0,09 ^{Bc}	0,12 ^{Bb}	0,12 ^{Bab}	0,13 ^{Ba}
S	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02
SAG-M							
X	0,14 ^{Ad}	0,14 ^{Ad}	0,16 ^{Ac}	0,18 ^{Ab}	0,19 ^{Ab}	0,21 ^{Aa}	0,21 ^{Aa}
S	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferoni ($p < 0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p < 0,05$).

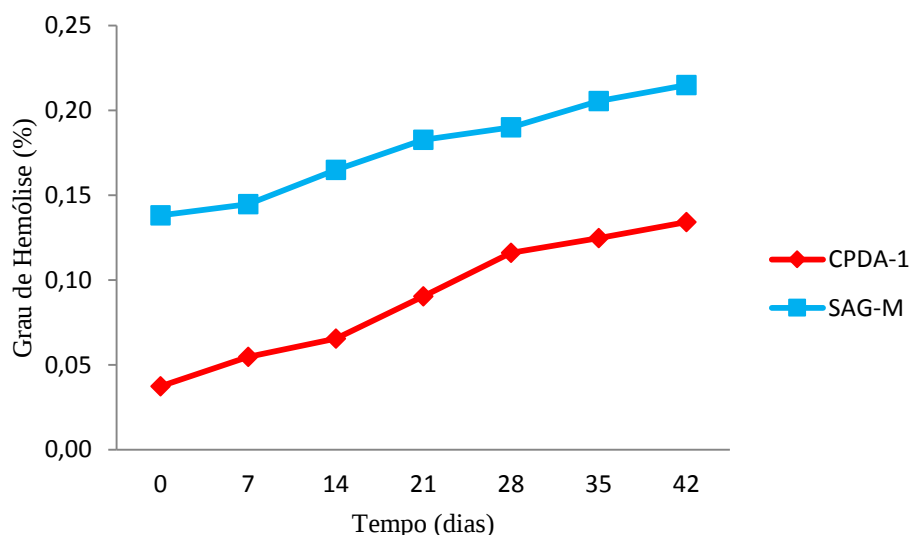


Figura 7. Representação dos valores médios do Grau de Hemólise (%) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.2. AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

5.2.1 Glicose Plasmática

Não houve diferença ($p>0,05$) entre as médias da glicose plasmática durante todo o experimento, na comparação entre os dois tipos de bolsa.

Comparando o T0 com os momentos seguintes em cada bolsa, nas duas bolsas não se observou diferença ($p>0,05$) entre os valores médios da glicose plasmática até o fim do experimento (Tabela 8 e Figura 8).

Tabela 8. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Glicose Plasmática (mg/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	573,3	582,0	586,1	575,2	550,6	558,9	558,8
S	35,7	34,5	36,4	42,9	37,2	43,2	45,9
SAG-M	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	588,8	575,2	568,0	558,2	558,4	553,3	549,5
S	75,2	28,4	27,7	38,9	39,0	37,0	45,7

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

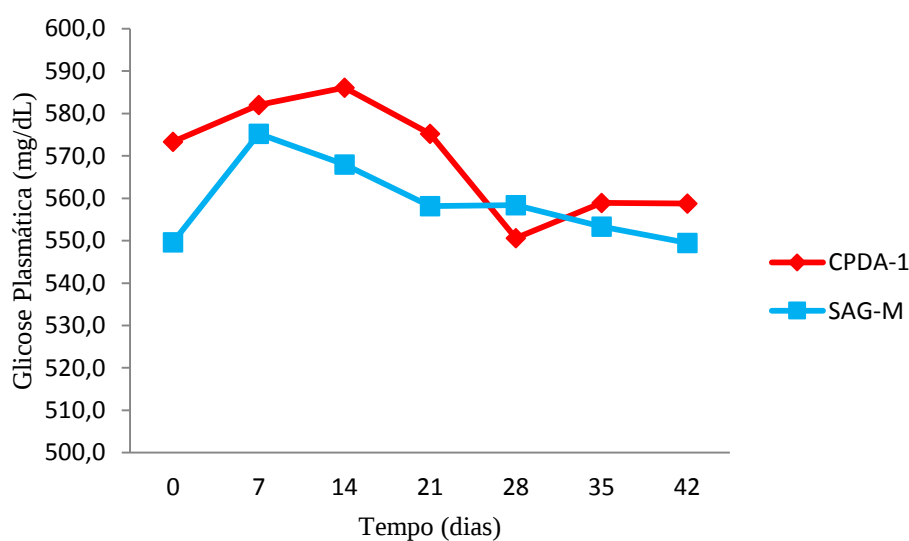


Figura 8. Representação dos valores médios da Concentração de Glicose Plasmática (mg/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.2.2 Lactato

Não houve diferença ($p>0,05$) entre as médias do lactato durante todo o experimento, na comparação entre os dois tipos de bolsa (Tabela 9).

Comparando o T0 com os momentos seguintes em cada bolsa, até o T14 não houve diferença ($p>0,05$) entre os valores médios na CPDA-1 nem na SAG-M. A partir do T21 estes valores aumentaram ($p<0,05$) nos dois tipos de bolsa (Figura 9).

Tabela 9. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Lactato (g/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	39,9 ^d	42,9 ^{cd}	45,4 ^{cd}	49,7 ^c	52,8 ^{bc}	58,2 ^{ab}	63,5 ^a
S	28,2	28,4	28,3	28,1	29,2	28,3	29,4
SAG-M							
X	29,4 ^d	34,6 ^{cd}	36,2 ^{cd}	39,0 ^{bc}	42,3 ^{abc}	46,2 ^{ab}	49,6 ^a
S	14,3	23,5	22,4	23,1	23,2	24,5	24,2

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

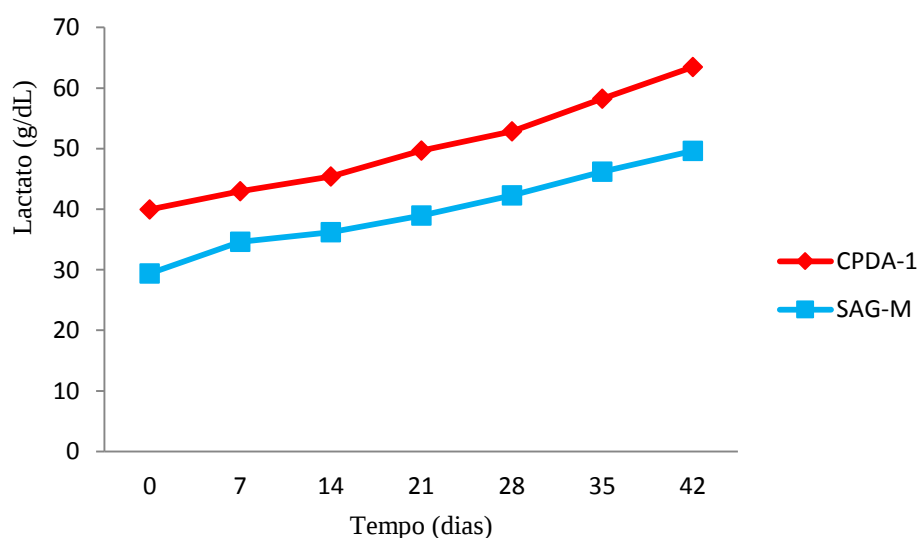


Figura 9. Representação dos valores médios da Concentração do Lactato (g/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.2.3 Sódio Plasmático

Os valores médios do sódio plasmático nas bolsas não diferiram apenas no T7 e T28. Apenas nos momentos T7 e T28 não se observou diferença ($p>0,05$) entre os valores médios das bolsas (Figura 10).

Comparando o T0 com os momentos seguintes em cada bolsa, nas duas bolsas não se observou diferença ($p>0,05$) entre os valores médios do sódio plasmático até o fim do experimento (Tabela 10).

Tabela 10. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Sódio Plasmático (mEq/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	166,6 ^A	166,6 ^A	164,6 ^A	166,0 ^A	159,4 ^A	162,3 ^A	161,4 ^A
S	8,6	4,6	4,7	5,2	9,3	3,9	10,2
SAG-M							
X	152,6 ^{Bab}	159,4 ^{Aa}	153,4 ^{Bab}	153,1 ^{Bab}	150,0 ^{Aab}	150,6 ^{Bab}	145,4 ^{Bb}
S	12,5	3,8	2,2	1,6	3,8	2,8	6,8

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferoni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

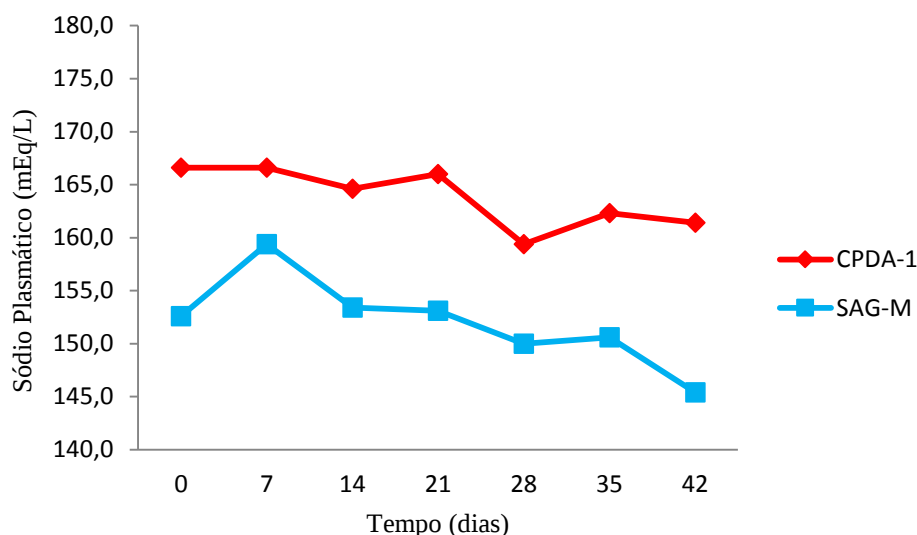


Figura 10. Representação dos valores médios da Concentração do Sódio Plasmático (mEq/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.2.4 Potássio Plasmático

Não houve diferença ($p>0,05$) entre as médias do potássio plasmático durante todo o experimento na comparação entre os dois tipos de bolsa.

Comparando o T0 com os momentos seguintes em cada bolsa, nas duas bolsas os valores médios do potássio plasmático não diferiram ($p>0,05$) (Tabela 11 e Figura 11).

Tabela 11. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Potássio Plasmático (mEq/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	4,24	5,40	7,60	7,58	9,04	9,31	9,44
S	0,44	1,12	1,85	1,52	2,86	2,62	3,09
SAG-M							
X	3,30	4,91	6,19	6,81	7,21	7,69	7,84
S	0,27	0,85	1,75	1,72	1,48	2,35	2,34

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

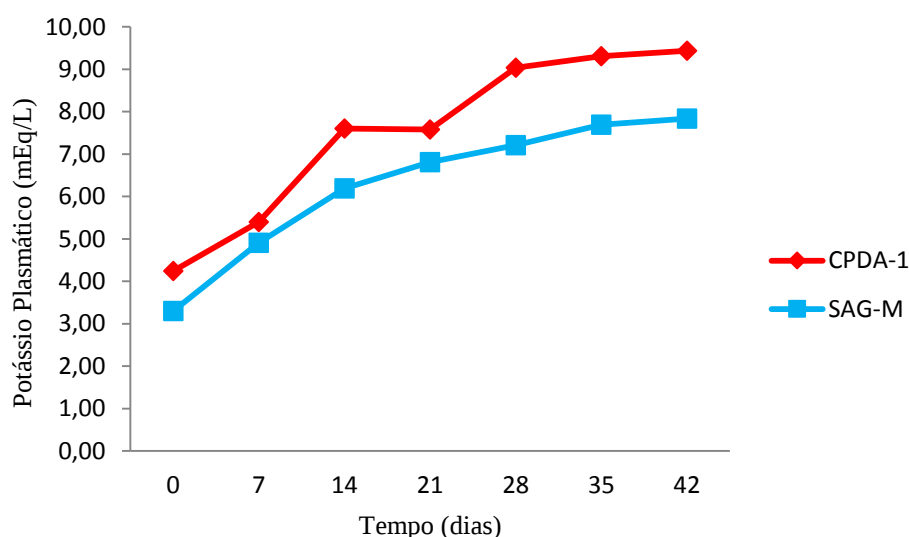


Figura 11. Representação dos valores médios da Concentração do Potássio Plasmático (mEq/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.2.5 Proteínas Plasmáticas Totais (PPT)

Em todos os momentos os valores de proteínas plasmáticas totais foram maiores ($p<0,05$) na bolsa CPDA-1 do que na SAG-M (Figura 12).

Tanto na CPDA-1 como na SAG-M os valores médios de PPT não diferiram até o momento T35, quando comparados ao T0. Nos dois tipos de bolsa houve redução ($p<0,05$) das proteínas plasmáticas totais no último momento (T42) (Tabela 12).

Tabela 12. Valores médios (X) e desvios padrões (S) das Proteínas Plasmáticas Totais (g/dL) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	8,06 ^{Aa}	8,11 ^{Aa}	8,14 ^{Aa}	8,20 ^{Aa}	8,51 ^{Aa}	8,09 ^{Aa}	7,53 ^{Ab}
S	0,25	0,27	0,28	0,33	0,36	0,58	0,70
SAG-M	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	7,09 ^{Ba}	6,81 ^{Ba}	6,77 ^{Ba}	6,96 ^{Ba}	7,06 ^{Ba}	7,06 ^{Ba}	6,54 ^{Bb}
S	0,55	0,32	0,18	0,24	0,10	0,19	0,40

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferoni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

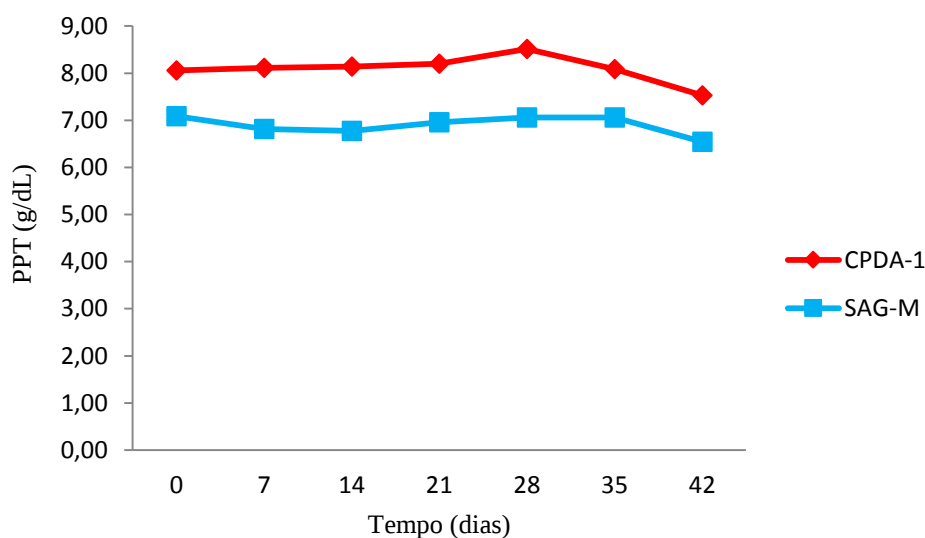


Figura 12. Representação dos valores médios das Proteínas Plasmáticas Totais (g/dL) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.3. AVALIAÇÃO HEMOGASOMÉTRICA

5.3.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Na comparação entre os dois tipos de bolsa não houve diferença ($p > 0,05$) entre as médias do pH.

Na comparação do T0 com os demais tempos, em cada bolsa, na CPDA-1 se observou redução ($p < 0,05$) dos valores de pH, em que apenas o T28 não diferiu ($T > 0,05$) do T0. Na bolsa SAG-M os valores de pH também tenderam a diminuir ($p < 0,05$) já a partir do T7 até o T42 (Tabela 13 e Figura 13).

Tabela 13. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do pH do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	6,91 ^a	6,86 ^b	6,86 ^b	6,86 ^b	6,88 ^{ab}	6,86 ^b	6,86 ^b
S	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,06
SAG-M	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	6,94 ^a	6,89 ^b	6,87 ^b	6,88 ^b	6,86 ^b	6,86 ^b	6,86 ^b
S	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p < 0,05$).

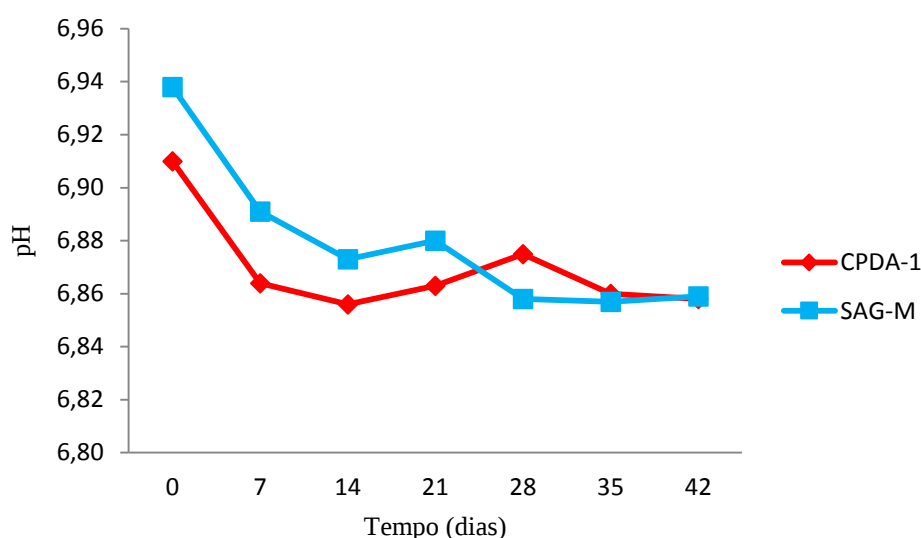


Figura 13. Representação dos valores médios de pH do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.3.2 Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (pCO₂)

Até o T21 os valores da pCO₂, na bolsa SAG-M, foram menores ($p < 0,05$) do que os da CPDA-1. Depois do momento T21 os valores não diferiram ($p > 0,05$) entre os dois tipos de bolsa (Tabela 14 e Figura 14).

Comparando o T0 com os momentos seguintes em cada bolsa, nas duas bolsas não se observou diferença ($p > 0,05$) entre os valores médios da pCO₂.

Tabela 14. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	87,73 ^{Aabc}	95,73 ^{Aab}	97,06 ^{Aa}	93,47 ^{Aabc}	87,96 ^{Aabc}	82,99 ^{Ac}	84,50 ^{Abc}
S	11,09	12,60	10,71	11,20	8,25	17,30	11,74
SAG-M	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	68,53 ^{Bb}	75,14 ^{Bb}	79,44 ^{Bab}	74,73 ^{Bb}	79,89 ^{Aab}	77,04 ^{Ab}	75,83 ^{Ab}
S	9,44	10,15	10,52	10,47	10,81	8,53	11,47

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p < 0,05$).

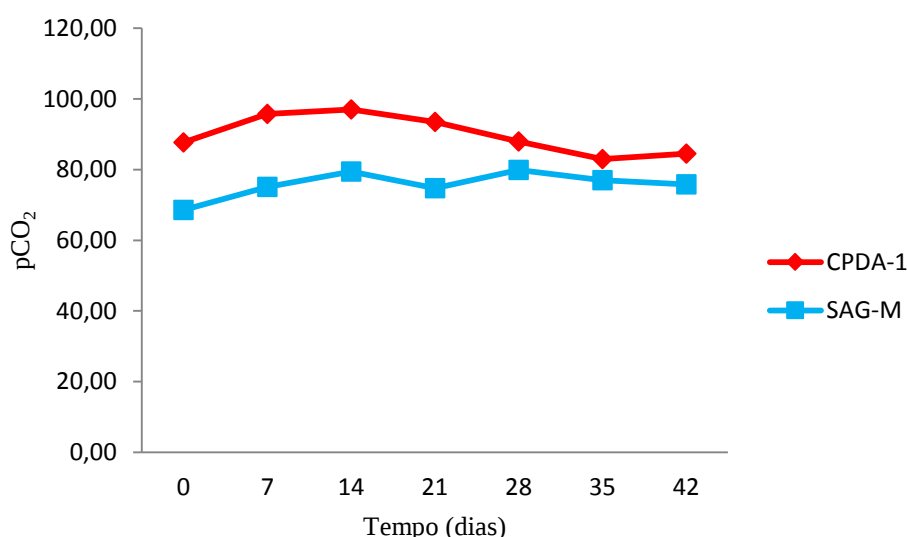


Figura 14. Representação dos valores médios da Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.3.3 Pressão Parcial de Oxigênio (pO₂)

Na comparação entre os dois tipos de bolsa não houve diferença ($p>0,05$) entre as médias da pO₂ (Tabela 15).

Comparando o T0 com os momentos seguintes em cada bolsa, não houve diferença ($p>0,05$) entre os valores médios na CPDA-1 nem na SAG-M até o T14. A partir do T21 estes valores aumentaram ($p<0,05$) nos dois tipos de bolsa (Figura 15).

Tabela 15. Valores médios (X) e desvios padrões (S) de Pressão Parcial de Oxigênio (mmHg) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	68,7 ^c	77,9 ^{bc}	104,7 ^{bc}	124,4 ^b	190,3 ^a	221,4 ^a	235,4 ^a
S	12,9	20,7	38,2	71,8	43,5	27,9	13,3
SAG-M							
X	67,1 ^e	78,0 ^e	95,6 ^{de}	131,9 ^{cd}	159,6 ^{bc}	201,7 ^{ab}	226,7 ^a
S	9,5	8,6	22,8	38,0	54,3	48,2	26,7

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferoni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

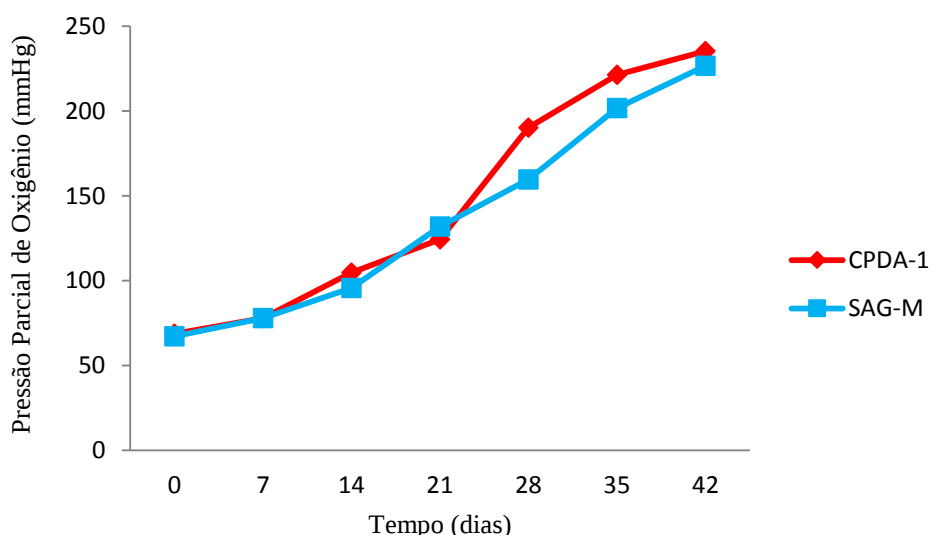


Figura 15. Representação dos valores médios da Pressão Parcial de Oxigênio (mmHg) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.3.4 Bicarbonato Plasmático (HCO_3^-)

Não houve diferença ($p>0,05$) entre as médias do Bicarbonato plasmático na comparação entre os dois tipos de bolsa.

Comparando o T0 com os momentos seguintes em cada bolsa, não houve diferença ($p>0,05$) entre os valores médios do Bicarbonato na CPDA-1 nem na SAG-M, até o T35. Apenas no T42 estes valores foram menores ($p<0,05$) nos dois tipos de bolsa (Tabela 16 e Figura 16).

Tabela 16. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Bicarbonato Plasmático (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	16,39 ^{ab}	16,59 ^a	16,56 ^a	15,90 ^{ab}	15,71 ^{abc}	15,19 ^{bc}	14,47 ^c
S	2,61	2,07	2,06	2,50	2,07	1,96	2,03
SAG-M	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	14,23 ^a	13,86 ^a	14,07 ^a	13,40 ^{ab}	13,66 ^{ab}	13,17 ^{ab}	12,56 ^b
S	1,98	1,83	1,84	1,76	1,90	1,85	1,72

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

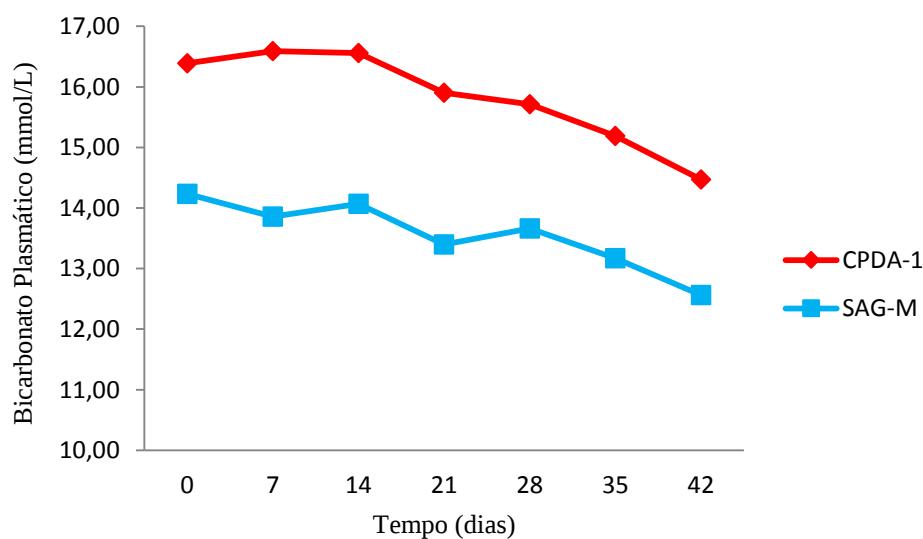


Figura 16. Representação dos valores médios do Bicarbonato Plasmático (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.3.5 Dióxido de Carbono Total (TCO₂)

Na comparação entre os tipos de bolsa os valores de TCO₂ diferiram ($p > 0,05$) nos momentos T7 e T21, sendo menores ($p < 0,05$) na bolsa SAG-M (Figura 17).

Na bolsa CPDA-1 não houve diferença ($p > 0,05$) entre os valores de TCO₂ até o T28 quando comparados ao T0. A partir do T35 foi observada uma redução ($p < 0,05$) destes valores. Na bolsa SAG-M tais valores não diferiram ($p > 0,05$) quando comparados ao T0 (Tabela 17).

Tabela 17. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Dióxido de Carbono Total (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	19,29 ^{Aab}	19,29 ^{Aab}	19,43 ^{Aa}	18,71 ^{Aabc}	18,00 ^{Abcd}	17,57 ^{Ac}	16,86 ^{Ad}
S	2,69	2,43	2,23	2,63	1,91	2,23	2,12
SAG-M							
X	16,14 ^A	15,71 ^B	16,29 ^A	15,43 ^B	15,71 ^A	15,14 ^A	15,14 ^A
S	2,19	1,98	2,21	2,07	1,98	1,86	2,34

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p < 0,05$).

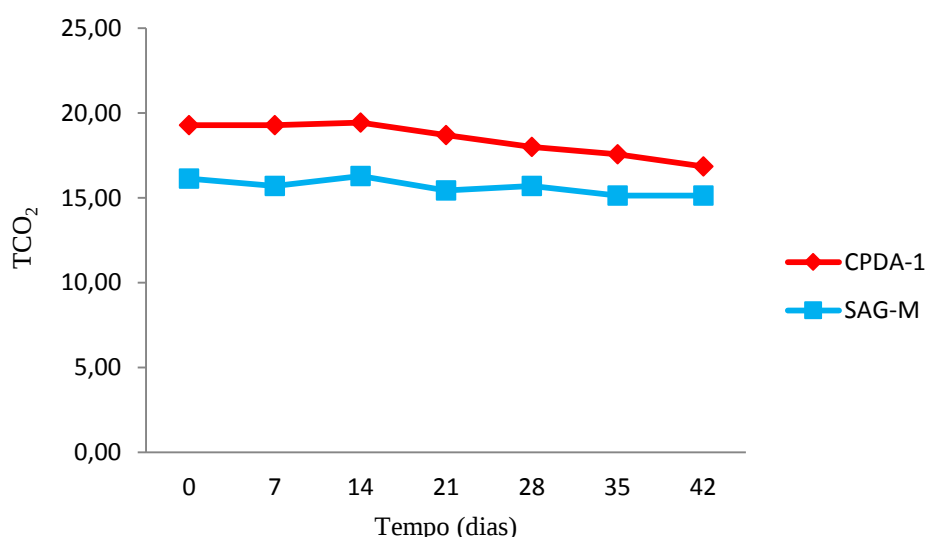


Figura 17. Representação dos valores médios do Dióxido de Carbono Total (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.3.6 Saturação de oxigênio (sO₂)

Não houve diferença ($p>0,05$) entre as médias da saturação de oxigênio na comparação entre os dois tipos de bolsa.

Comparando o T0 com os momentos seguintes em cada bolsa, até o T7 não houve diferença ($p>0,05$) entre os valores médios na CPDA-1 nem na CPD/SAG-M. A partir do T14 estes valores aumentaram ($p<0,05$) nos dois tipos de bolsa (Tabela 18 e Figura 18).

Tabela 18. Valores médios (X) e desvios padrões (S) da Saturação de Oxigênio (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	66,86 ^c	71,14 ^c	82,71 ^b	91,00 ^a	97,14 ^a	98,57 ^a	98,86 ^a
S	8,86	9,44	8,79	6,68	2,85	0,79	0,38
SAG-M							
X	68,71 ^c	74,43 ^{bc}	81,00 ^b	91,00 ^a	93,14 ^a	97,14 ^a	98,43 ^a
S	8,98	6,55	10,33	6,43	7,24	3,34	0,79

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

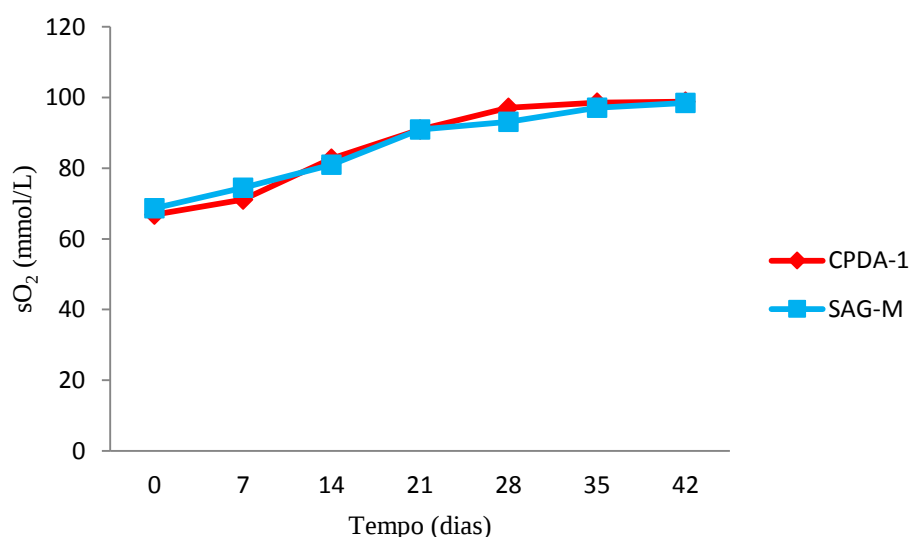


Figura 18. Representação dos valores médios da Saturação de oxigênio (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.3.7 Déficit de Base

Não houve diferença ($p>0,05$) entre as médias do Déficit de Base na comparação entre os dois tipos de bolsa.

Na bolsa CPDA-1 não houve diferença ($p>0,05$) entre os valores do déficit de base até o T24, quando comparados ao T0. A partir do T21 se observou aumento ($p<0,05$) destes valores. Na bolsa SAG-M todas as médias foram maiores ($p<0,05$) quando comparadas ao T0 (Tabela 19 e Figura 19).

Tabela 19. Valores médios (X) e desvios padrões (S) do Déficit de Base (mmol/L) do sangue total caprino armazenado em bolsas CPDA-1 e SAG-M, nos momentos (T) analisados.

CPDA-1	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
X	-15,71 ^a	-16,57 ^{ab}	-16,57 ^{ab}	-16,86 ^b	-17,29 ^{bc}	-18,00 ^{cd}	-18,57 ^d
S	2,50	2,57	2,51	2,41	2,56	2,83	2,51
SAG-M							
X	-17,71 ^a	-18,71 ^b	-18,71 ^b	-19,57 ^{bc}	-19,43 ^{bc}	-20,14 ^{cd}	-20,43 ^d
S	2,29	2,21	2,21	2,37	2,44	2,54	2,51

Médias seguidas de letras diferentes minúsculas na linha diferem entre si, segundo o teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Médias acompanhadas de letras diferentes maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo Análise de variância (ANOVA - Two-way) ($p<0,05$).

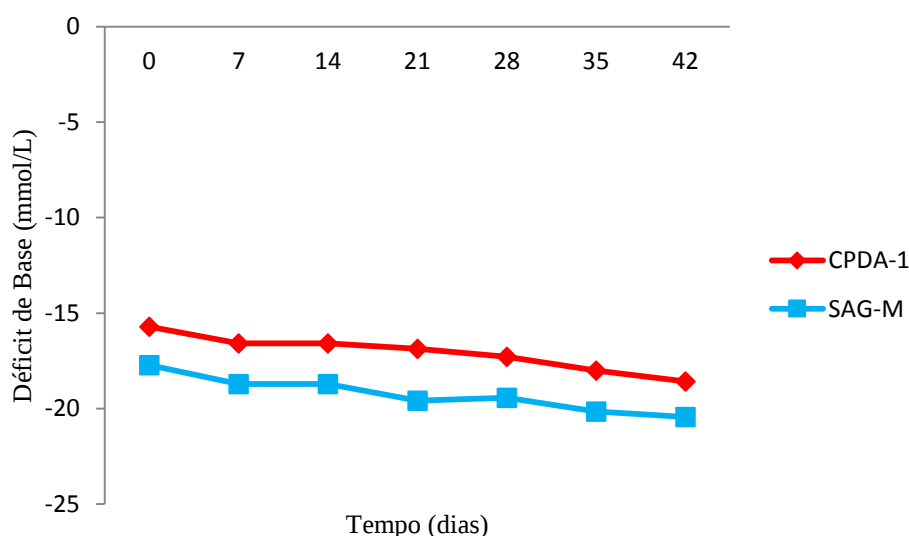


Figura 19. Representação dos valores médios do Déficit de Base (mmol/L) do sangue armazenado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, nos dias analisados.

5.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Todas as culturas das amostras, realizadas durante o período experimental de 42 dias, foram negativas para qualquer crescimento bacteriano.

6 DISCUSSÃO

Nos dois tipos de bolsa em estudo, o número de eritrócitos se manteve estatisticamente igual no final do período de armazenamento, sugerindo que os constituintes adicionais da bolsa CPD/SAG-M não conferiram benefícios a mais na preservação dos eritrócitos, quando comparados aos componentes da bolsa CPDA-1. Entre outras abordagens, o uso do PVC nas bolsas e a adição de estabilizadores de membrana tais como manitol e citrato, mostraram ser eficazes na redução de danos a membrana celular durante o armazenamento (HÖGMAN, 1998), o que pode justificar, tanto na CPDA-1 como na CPD/SAG-M, a manutenção dos eritrócitos de caprinos, sem diferença durante o armazenamento. Esta semelhança observada na comparação entre bolsas e entre o T0 e os demais tempos em cada uma delas, também foi observada por COSTA JÚNIOR et al. (2006) em estudos de conservação do sangue canino em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M. Trabalhando com sangue ovino armazenado em CPDA-1, Sousa et al., (2013) observaram redução no número de eritrócitos, corroborando os dados de Barros (2011) que observou redução destas células neste mesmo tipo de bolsa ao trabalhar com sangue de jumentos.

Tendo em vista que o volume globular é uma mensuração da fração do volume sanguíneo que é ocupada pelos eritrócitos (KERR et al., 2003), é possível justificar os menores valores do VG na bolsa CPD/SAG-M quando consideramos o maior volume de solução presente nesta bolsa, comparado ao da CPDA-1. No sangue humano a solução aditiva (SAG) reduz em aproximadamente 50 a 80% o hematócrito, reduzindo a viscosidade do mesmo (HESS, 2006). Estes valores, relativamente menores na SAG-M, também foram observados em trabalhos com outras espécies (BERTOLETTI, 2011; BARROS, 2011).

A importância da bomba sódio/potássio na manutenção do VCM já é bem discutida. A depleção da glicose e do ATP prejudica a bomba sódio/potássio, ocorrendo entrada de sódio e água na célula e saída de potássio, o que resultaria no aumento do VCM (FINK, 1998). No entanto, tanto na CPDA-1 como na CPD/SAG-M, não houve variação significativa na concentração da glicose nem dos íons sódio e potássio, o que sugere não ter havido desequilíbrio expressivo da função da bomba Na^+/K^+ . A ausência de variações no VCM durante o armazenamento também foi observada em trabalhos com sangue equino (NIINISTO et al., 2008; MUDGE et al., 2004; LOPES et al., 1995). No sangue asinino armazenado em

bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M, não foi observado diferença de valores até 35 dias de armazenamento, comparando os dois tipos de bolsa, ocorrendo aumento nas mesmas a partir da segunda semana (BARROS, 2011). Em sangue ovino armazenado em bolsas CPDA-1 houve aumento do VCM a partir de 21 dias de armazenamento (SOUSA et al., 2013).

A bolsa CPD/SAG-M apresentou valores médios de hemoglobina total menores do que os observados na CPDA-1, desde T0, o que pode ser explicado pela maior diluição do sangue com a solução aditiva presente na CPD/SAG-M, resultado encontrado também por Bertoletti et al., (2011). Ao se comparar o momento inicial com os outros tempos, houve redução da hemoglobina total, o que difere de estudos com outras espécies que relatam não ter havido alteração significativa na concentração da hemoglobina total (BERTOLETTI et al., 2011; NIINISTO et al., 2008; SOUSA et al, 2013), e ao mesmo tempo corrobora com os achados de Ribeiro Filho, (1994). A hemoglobina é considerada um tampão intracelular que se combina com os íons H^+ em excesso na tentativa de reduzir a elevação da concentração destes íons (CARLSON, 2008).

O aumento da hemoglobina plasmática foi observado em outros trabalhos (BERTOLETTI et al., 2011; BARROS, 2011), sendo esse aumento comumente atribuído à liberação da hemoglobina para o plasma à medida que os eritrócitos se rompem, ou simplesmente pelo desprendimento de vesículas a partir da superfície eritrocitária, com hemoglobina em seu interior, que também contribuem para aumentar a concentração plasmática deste pigmento (HESS; GREENWALT, 2002). O maior valor obtido nos dois tipos de bolsa ficou em torno de 0,015g/dL, estando abaixo daquele preconizado pelo Ministério da Saúde, o qual recomenda que o nível de hemoglobina livre na solução sobrenadante seja inferior a 0,2g/dL para eritrócitos conservados. Este valor, relativamente menor, reflete a redução não significativa no número de eritrócitos observado nos dois tipos de bolsa.

Os valores do grau de hemólise na CPD/SAG-M foram maiores quando comparados aos da CPDA-1, o que pode ser explicado pelos maiores valores de hemoglobina plasmática naquela bolsa. Nas duas bolsas os valores do grau de hemólise foram maiores quando comparados ao T0. Quanto mais eritrócitos se rompem, mais hemoglobina estará livre no plasma e, conseqüentemente, maior será o grau de hemólise do sangue armazenado (SOWEMIMO-COKER, 2002). No entanto, tais valores estão abaixo daqueles relatados por Niinisto et al., (2008) e Barros, (2011).

Estudos tem mostrado que os leucócitos podem exercer efeitos deletérios indiretos sobre os eritrócitos armazenados por consumir a glicose da solução conservadora e por liberar substâncias biorreativas. Durante o armazenamento ocorre ruptura destas células, promovendo liberação de imunomoduladores inflamatórios, portanto, sua presença em produtos sanguíneos armazenados acelera a hemólise e aumenta o potássio extracelular (HÖGMAN, 1998). A redução no número de leucócitos ocorrida apenas na bolsa CPD/SAG-M mostra a melhor conservação destas células na bolsa CPDA-1, o que pode sugerir melhor qualidade desta bolsa.

A concentração da glicose não variou na comparação entre o momento inicial e os posteriores na CPDA-1 nem na CPD/SAG-M, corroborando com estudo feito com esses dois tipos de bolsa em gatos (BERTOLETTI et al., 2011). No entanto, foi possível observar uma sutil redução nas duas bolsas, corroborando os achados em trabalhos com outras espécies, como cães, jumentos e gatos (COSTA JÚNIOR et al., 2006; BARROS, 2011; BERTOLETTI et al., 2011). Segundo estes autores, os níveis de glicose tendem a diminuir durante o armazenamento, devido à sua utilização como fonte energética para produção de ATP. A não observação da queda dos valores da glicose neste estudo pode estar associado ao baixo consumo da mesma pelas hemácias dos caprinos.

Um achado frequente nos trabalhos é a inversão das concentrações normais de sódio e potássio, ou seja, entrada do sódio e saída do potássio do interior da célula durante o armazenamento, observados, por exemplo, em ovinos e bovinos (SOUSA et al., 2013; REIS et al., 2011). No entanto, nos dois tipos de bolsa, as concentrações dos íons sódio e potássio não variaram na comparação entre o T0 e os tempos seguintes. A glicose é precursora do ATP, fonte de energia da bomba Na^+/K^+ , que está diretamente relacionada com o volume corpuscular médio e com o equilíbrio dos íons sódio e potássio (HÖGMAN, 1999). Portanto, sobre a bomba Na^+/K^+ , é possível inferir que houve manutenção satisfatória de sua função e da concentração destes íons, corroborando os achados de Costa Júnior et al., (2006).

Os menores valores de proteínas plasmáticas totais encontrados na CPD/SAG-M pode ser explicado pela diluição do sangue com o maior volume presente na bolsa, quando comparada à CPDA-1, hipótese sugerida também em trabalhos com outras espécies (BERTOLETTI et al., 2011; COSTA JUNIOR et al., 2006). A manutenção da concentração de proteínas plasmáticas totais de ambas as bolsas até os 35 dias, e a queda no T42, mostra a

difículdade de manutenção das concentrações de PPT após 42 dias nestas condições de armazenamento.

Houve redução do pH nos dois tipos de bolsa, na comparação do T0 e os tempos seguintes. Segundo Hess, (2006) a coleta de sangue total em soluções preservantes, contendo citrato fosfato dextrose (CPD), normalmente já reduz o pH, e a adição de solução aditiva, SAG-M por exemplo, reduz ainda mais esta variável. No entanto, neste estudo a solução aditiva não foi capaz de reduzir o pH da bolsa CPD/SAG-M quando comparada à CPDA-1. Segundo Ribeiro Filho et al., (1994) a queda do pH durante o tempo de análise se dá, possivelmente, pelos metabólitos ácidos provenientes do metabolismo anaeróbico dos eritrócitos durante a conservação. Em parte a elevação da concentração de hidrogênio é minimizada, pois o excesso de íons H^+ se combina com os tampões intracelulares, em particular a hemoglobina (CARLSON, 2008).

Na comparação entre bolsas, foi observado que os valores da pCO_2 na CPDA-1 foi superior aos valores observados na CPD/SAG-M nos dias sete, 14 e 21. Esta variação da CPDA-1 também foi observada por Ribeiro Filho et al. (1994), quando estudaram o sangue bovino em bolsas CPDA-1, e por Costa Júnior et al., (2006) ao estudarem o sangue canino. Nos dois tipos de bolsa não houve variação ($p>0,05$) na pCO_2 , ao se comparar o T0 com os momentos seguintes. Na solução de armazenamento, o bicarbonato se combina com os prótons produzidos pelo ácido carbônico, que é convertido a CO_2 e água. Em seguida o CO_2 se difunde para fora do plástico da bolsa (HESS, 2006). Portanto, é possível que a pCO_2 , se mantenha estável em função deste fenômeno de escape através da bolsa plástica.

O aumento na pressão parcial de oxigênio, que ocorreu nas duas bolsas a partir do T21, pode ser atribuído à passagem do oxigênio do meio externo para o interior das bolsas. Esta permeabilidade foi descrita por Ribeiro et al., (1994) em estudos com sangue bovino armazenado em CPDA-1.

O aumento do lactato plasmático tanto na CPDA-1 como na CPD/SAG-M é um achado muito frequente em estudos com outras espécies (BERTOLETTI et al., 2011; SOUSA et al., 2013; BARROS, 2011). Esse acréscimo pode se dar em função da utilização da glicose pelas hemácias. Durante a glicólise anaeróbica, duas moléculas de lactato são produzidas para cada molécula de glicose metabolizada (KANEKO, 2008).

Observou-se semelhança entre o comportamento do bicarbonato plasmático (HCO_3^-) e o do Dióxido de Carbono Total (TCO_2), com diferença significativa em relação ao T0

observada no final do período de armazenamento. Nos distúrbios respiratórios o bicarbonato é geralmente estimado pela determinação do dióxido de carbono total (TCO_2), pois é responsável por aproximadamente 95% do TCO_2 mensurado (KANEKO, 2008). Segundo Luna (2002), o bicarbonato é uma base fraca responsável por mais de 50% da capacidade tamponante do meio extracelular. Portanto, a redução nos valores sanguíneos do HCO_3^- pode ser em virtude de seu consumo para controlar a acidez estabelecida no meio armazenado. Provavelmente o consumo do bicarbonato foi equivalente à produção de ácido metabólico no interior das bolsas. Este declínio do bicarbonato também foi encontrado por Ribeiro Filho et al. (1994), em estudo com sangue bovino conservado em bolsas CPDA-1.

Nos dois tipos de bolsa foi possível observar um aumento na saturação de oxigênio a partir do T14. A afinidade do oxigênio com a hemoglobina pode ser representada por uma curva de dissociação da hemoglobina em que quanto maiores os valores da pressão parcial de oxigênio, maiores serão os valores da saturação de oxigênio (HARVEY, 2008). A elevação da pO_2 observada no interior das bolsas pode explicar esse aumento na saturação de oxigênio.

Durante o armazenamento o déficit de base aumentou, acompanhando a redução do pH e dos níveis de bicarbonato. Isto sugere que a alteração no equilíbrio acidobase implica mudança nos valores desta variável. Este valor obtido é muitas vezes fornecido na avaliação de rotina do equilíbrio acidobase e é tido como um indicador do desvio de bicarbonato do normal. Em um animal com acidose metabólica, por exemplo, o déficit de base calculado fornece um meio de estimar a quantidade de bicarbonato requerida para corrigir o balanço acidobase para o normal (CARLSON, 2008).

A avaliação microbiológica é importante para garantir a qualidade do sangue a ser transfundido, sendo um dos parâmetros rigorosamente avaliados e seguidos pelos bancos de sangue humano (ANVISA, 2004). Essa avaliação também é importante para confirmar que a redução do pH ocorrida ao longo do tempo não seja em decorrência de contaminação bacteriana.

A solução aditiva presente nas bolsas do tipo CPD/SAG-M, misturada diretamente na bolsa contendo sangue total, ocasionou sua diluição, reduzindo significativamente variáveis como hemoglobina total e VG, além de redução sutil no número de eritrócitos, quando comparados aos resultados encontrados nas bolsas do tipo CPDA-1. Presume-se que, quanto melhores os valores apresentados para essas variáveis, mais útil será o sangue armazenado. Associado a isso, observou-se também na CPD/SAG-M maiores valores do grau de hemólise,

acompanhado de mais hemoglobina e menos sódio no plasma do que na CPDA-1. Com base nisso, seria preferível o uso da CPDA-1 para a conservação de sangue total caprino, já que, originalmente, a solução aditiva presente na CPD/SAG-M é adicionada apenas ao concentrado de hemácias, após a centrifugação do sangue total e separação do plasma.

7 CONCLUSÃO

As bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M foram capazes de evitar a redução significativa nos níveis da maioria das variáveis hematológicas, bioquímicas e hemogasométricas.

As alterações observadas no sangue caprino armazenado durante 42 dias em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M não foram suficientes para invalidar seu uso como recurso terapêutico.

As bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M são indicadas para a conservação de sangue caprino durante 42 dias de armazenamento, sob-refrigeração entre 1° e 6° C.

É preferível o uso de bolsas CPDA-1 para a conservação de sangue total caprino durante 42 dias de armazenamento, sob-refrigeração entre 1° e 6°C, em relação às bolsas CPD/SAG-M.

8 REFERÊNCIAS

- ALMAC, E.; INCE, C. The impact of storage on red cell function in blood transfusion. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 21, n. 2, p. 195-208, 2007.
- ALMOSNY, N. **Equilíbrio ácido-básico em medicina veterinária**. In: Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil.. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. P. 5-16, 2003.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada, nº 306, de 07 de dezembro de 2004. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde**. Publicada no Diário Oficial da União de 10/12/2004.
- AUTHEMENT, J. M.; WOLFSHEIMER, K. J.; CATCHINGS, S. Canine blood component therapy: product preparation, storage and administration. **Journal of American Animal Hospital Association**, v.23, p. 483-493, 1986.
- BANSAL, I.; CALHOUN, B. W.; JOSEPH, C.; POTHIAWALA, M.; BARON, B. W.; A comparative study of reducing the extracellular potassium concentration in red blood cells by washing and by reduction of additive solution. **Transfusion.**; 47:248–50, 2007.
- BARKER, L. M. et al. Multiple pH measurement during storage may detect bacterially contaminated platelet concentrates. **Transfusion**, v. 50, n. 12, p. 2731-2737, 2010.
- BARROS, I. O. **Avaliação da conservação do sangue total de asininos (*Equus asinus*) acondicionado em bolsas CPDA-1 e CPD/SAG-M**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal Rural do Semiárido. 76f. 2011.
- BARTHEL, B. Functional changes in red blood cells during storage in units of whole blood or erythrocyte concentrates of the horse. **Dissertation Journal** No. 2298, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany, 1999.
- BERTOLETTI, B. **Peroxidação lipídica e parâmetros bioquímicos do sangue total felino armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria. 42 f. 2011.
- CARLSON, G. P. Fluid, electrolyte and acid-base balance. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 4 ed. San Diego: Academic Press USA, p.529-560, 2008.

CHIARAMONTE, D. Blood-Component therapy: selection, administration and monitoring. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 19, n. 2, p. 63-67, 2004.

CHIN-YEE, I.; ARYA, N.; D'ALMEIDA, M. S. The red cell storage lesion and its implication for transfusion. **Transfusion science**, v. 18, n. 3, p. 447-458, 1997.

COLLATOS, C. Blood and blood component therapy. In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine 4**. Philadelphia, W.B. Saunders Company, a. p. 290-292, 1997.

CORDEIRO, P. R. C. et al. **O Negócio do Leite de Cabra no Brasil e sua Cadeia Produtiva**. p 1 – Anais da XII Seminário Nordestino de Pecuária –23-26 de Junho-PecNordeste, 2008.

COSTA JÚNIOR, J. et al.; **Parâmetros bioquímicos e hemogasométricos do sangue total canino armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, MG, 2006.

DURHAM, A. E. Blood and plasma transfusion in the horse. **Equine Veterinary Education**, v.8, n.1, p.8-12, 1996.

EDER, A. F.; CHAMBERS, L. A. Noninfectious complications of blood transfusion. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, 131:708–718, 2007.

EMPARN, Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte. **Manejo sanitário de caprinos e ovinos**. (Circuito de tecnologias adaptadas para a agricultura familiar), EMPARN - Natal, RN: v.3, 32 p., 2006.

FINK N. E.; ALBERT, A. F.; CRISPINI, I.; CABUTTI, N. V.; MAZIOTTA, D. Evaluation and additional recommendations for preparing a whole blood control material. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 32, nº2, , p.107-111, 1998.

FRIDEY, J. L. Standards for blood banks and transfusion services. **Bethesda, MD: American Association of Blood Banks**, 2003.

GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de hematologia veterinária**. São Paulo: Varela,. p. 21, 2005.

GINGERICH, D. A. Fluid, shock and blood therapy. In: HOWARD, J.L. **Current veterinary therapy. Food animal practice 2**. Philadelphia, W.B. Saunders Company,. p. 1-8, 1986.

GONZÁLEZ, F. H. D.; DA SILVA, S. C. (Ed.). **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

HARVEY, J. W. The Erythrocyte: Physiology, Metabolism, and Biochemical Disorders. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th Edition, USA, ACADEMIC PRESS, Chapter 7, p. 198, 2008.

HASHIMOTO, M. C. T. **Estudo da preservação de hemácias em diferentes bolsas de coleta com di-octil-ftalato e anticoagulante citrato-fosfato-dextrose-adenina**. Dissertação (Mestrado em farmacologia). Universidade Estadual de Campinas. 95f. 1997.

HEATON, A.; M. J.; A. R., et al. Use of Adsol preservation solution for prolonged storage of low viscosity AS-1 red blood cells. **British Journal of Haematology**, 57:467-78, 1984.

HENDRIX, C. M. **Procedimentos Laboratoriais para Técnicos Veterinários**. 4ª ed., São Paulo: Roca, 576p, 2005.

HESS, J. R. An update on solutions for red cell storage. **Vox sanguinis**, v. 91, n. 1, p. 13-19, 2006.

HESS, J. R.; GREENWALT, T. J.: Storage of Red Blood Cells: New approaches. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 16, n. 4, p. 283-295, 2002.

HESS, J. R.; HILL H. R.; OLIVER, C. K. *et al*: The effect of two different additive solutions on the post-thaw storage of RBCs. **Transfusion** 41:923-927, 2001.

HESS, J. R. Red cell storage. **Journal of proteomics**, v. 73, n. 3, p. 368-373, 2010.

HÖGMAN, C. F.; MERYMAN, H. T. Storage parameters affecting red blood cell survival and function after transfusion. **Transfusion Medicine Review**, 13, pp. 275–296, 1999.

HÖGMAN, C. F. Preparation and preservation of red cells. **Vox sanguinis**, v. 74, n. S2, p. 177-187, 1998.

HÖGMAN, C. F.; KNUSTSON, F.; LÖÖF, H. et al. Improved maintenance of 2,3 DPG and ATP in RBCs stored in a modified additive solution. **Transfusion**, 42: 824-829, 2002.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 6th ed. San Diego : Elsevier , 2008.

KERR, G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematologia**. 2ª edição, Roca, 2003.

KOR, D. J.; VAN BUSKIRK, C. M.; GAJIC, O. Red blood cell storage lesion. **Bosn J Basic Med Sci**, v. 9, n. Suppl 1, p. 21-27, 2009.

KORTE, D.; VERHOEVEN, A. J. quality Determinants of erythrocyte destined for transfusion. **Cellular and Molecular Biology**. V. 50, n.2, , p. 187-195, 2004.

LANEVSKI, A.; WARDROP, K. J. N. Principles of transfusion medicine in small animals. **Canadian Veterinary Journal**, 42:447-454, 2001.

LAPOSY, C. B.; NOGUEIRA, R. M. B. Avaliação bioquímica e hemogasométrica de bolsas de sangue (CPDA-1) caninas mantidas sob refrigeração. **Colloquium Agrariae**, v. 7, n.2 Jul-Dez., p. 08-13, 2011.

LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; DANTAS FILHO, J.; FERREIRA, A. M; CURI, P. R. Alterações hematológicas e bioquímicas em sangue total de equino, conservado para transfusão, em bolsas plásticas contendo ACD-F. **Revista Universidade Rural. Ciências da Vida**, v. 17, n. 2, p. 91-95, 1995.

LUNA, S. P. L. Equilíbrio Ácido-básico In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. ed. **Anestesia em Cães e Gatos**. Roca. p. 120-129, 2002.

LUTEN, M. et al. Survival of red blood cells after transfusion: a comparison between red cells concentrates of different storage periods. **Transfusion**, v. 48, n. 7, p. 1478-1485, 2008.

MARIK, P. E.; SIBBALD, W. J. Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, v. 269, n. 23, p. 3024-3029, 1993.

MATOS, M. S.; DE MATOS, P. F. **Laboratório clínico médico-veterinário**. Atheneu, 1995.

MCMICHAEL, M. A.; SMITH, S. A.; GALLIGAN, A., et al. Effect of leukoreduction on transfusion-induced inflammation in dogs. **Journal Veterinary Internal Medicine**, 24:1131–1137, 2010.

MISETA, A.; BOGNER, P.; BERENYI, E., KELLERMAYER, M., GALAMBOS, C., WHEATLEY, D. N.; CAMERON, I. L. Relationship between cellular ATP, potassium, sodium and magnesium concentrations in mammalian and avian erythrocytes . **Biochimica et Biophysica Acta**. 1175, p. 133 – 139, 1993.

MOORE, G. L.; P., C. C.; S., P. R. et al. Some properties of blood stored in anticoagulant CPDA-1 solution: a brief summary. **Transfusion**; 21 : 135-7, 1981.

MORAES NETO, O. T.; RODRIGUES, A. C. A; ALBUQUERQUE, S. M. **Manual de capacitação de agentes de desenvolvimento rural (ADRs) para a Caprinovinocultura**. SEBRAE/PB. João Pessoa. 114 p, 2003.

MORRIS, D. D. Therapy in hemolymphatic diseases. In: COLAHAN, P.T. et al. **Equine medicine and surgery**. 5ª ed. St. Louis, Mosby. p. 2003-2007, 1999.

MOTTA, V. T.: **Bioquímica clínica: princípios e interpretações**. 3 ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau,. 388 p. Cap. 12, 2000.

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

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

POOMCOKRAK, J.; NEATPISARNVANIT, C. Red Blood Cells Extraction and Counting. In: **The 3rd International Symposium on Biomedical Engineering (ISBME 2008)**. 2008.

REBAR, A. H. et al. **Guia de hematologia para cães e gatos**. Roca, 2003.

REICHMANN, P.; DEARO, A. C. O. Transfusão de sangue e seus derivados em grandes animais. Semina: **Ciências Agrárias**. Londrina. V. 22, n. 2, p. 223-228, 2001.

REIS, R. O. et al. **Alterações hematológicas e bioquímicas em sangue bovino obtido de animais saudáveis e parasitados com babesia bigemina conservado em bolsas plásticas em CPDA-1 durante 21 dias**. IX Congresso Brasileiro Buiatria. Goiânia - Goiás, Brasil. (4 Supl. 3) p. 420 – 425. 2011.

RIBEIRO FILHO, J.D.; ALMEIDA, C.T.; GONÇALVES, R.C.; KOHAYAGAWA, A.; CURY, P.R. Alterações hemogasométricas de sangue bovino durante a conservação em frascos de vidro com ACD e bolsas plásticas com CPDA-1, por 35 dias. **Veterinary Zootecnic**, v.6, p.77-84, 1994.

ROTHER, R. P. et al. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, v. 293, n. 13, p. 1653-1662, 2005.

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

SOUSA, R. S. et al. Evaluation of hematologic, blood gas, and select biochemical variables in ovine whole blood stored in CPDA-1 bags. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 42, n. 1, p. 27-30, 2013.

SOWEMIMO-COKER, S. O. Red blood cell hemolysis during processing. **Transfusion medicine reviews**, v. 16, n. 1, p. 46-60, 2002.

STONEHAM, S. Collection and administration of plasma to a newborn foal. **In Practice**, v.19, n.7, p.384-385, 1997.

VAN DE WATERING, L. Red cell storage and prognosis. **Vox sanguinis**, v. 100, n. 1, p. 36-45, 2011.

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

