

LESÕES DE ARMAZENAMENTO DURANTE A CONSERVAÇÃO DE SANGUE NAS DIFERENTES ESPÉCIES: UMA REVISÃO

[Storage lesions caused during blood conservation in the different species: Review]

Rejane dos Santos Sousa¹, Isabella de Oliveira Barros¹, Marcondes Dias Tavares¹, Isadora Karolina Freitas de Sousa², Gleidson Benevides de Oliveira¹, Antonio Humberto Hamad Minervino³, Raimundo Alves Barrêto Júnior^{1*}

¹ Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Departamento de Ciência Animal.

² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Clínica (FMVZ- USP)

³ Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas - (IBEF-UFOPA)

RESUMO - O sangue armazenado em bolsas plásticas sofre alterações graduais ao longo do período de conservação, sendo essas lesões conhecidas em conjunto como lesões de armazenamento. Tais alterações podem inviabilizar a utilização do sangue ou diminuir sua eficácia pós-transfusão. Dessa forma, a presente revisão tem por objetivos relatar as principais alterações hematológicas, morfológicas, hemogasométricas e bioquímicas ocorridas durante o armazenamento de sangue total em bolsas plásticas refrigeradas em temperaturas de 1 a 6° C, em diferentes espécies animais.

Palavras-Chave: bolsas de sangue; citrato; transfusão.

ABSTRACT - Blood stored in plastic bags undergoes gradual changes throughout the conservation period; these lesions are known collectively as the storage lesion. Such changes may prevent the use of blood or decrease their efficacy after transfusion. Thus, this review aims to report the main hematological, morphological, blood gas and biochemical alterations that occur during storage of whole blood in plastic bags, refrigerated at 1-6° C in different animal species.

Keywords: blood bags; citrate; transfusion.

INTRODUÇÃO

A medicina transfusional veterinária tem evoluído muito nos últimos tempos, acompanhando os avanços vivenciados pela medicina humana, através da adaptação de diversas tecnologias para pacientes veterinários, sendo importante para essa evolução o desenvolvimento das bolsas plásticas e substâncias preservativas que possibilitaram maior vida útil dos componentes sanguíneos (Lacerda, 2005; Costa Junior et al., 2008). Embora se conheçam as técnicas de fracionamento do sangue para obtenção de seus componentes, a conservação e utilização de sangue total ainda é a forma mais difundida e utilizada nos centros veterinários (Lucas et al., 2004; Costa Júnior, 2006; Sousa et al. 2012a).

No mercado, existem diversas bolsas plásticas com diferentes soluções preservativas, as quais são utilizadas para o armazenamento do sangue total ou de hemocomponentes. Apesar da presença destas

soluções que ajudam a conservar o sangue durante o período de armazenamento, o fluido ainda sofre várias alterações que em conjunto são conhecidas como lesões de armazenamento.

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). Portanto é de extrema importância que o sangue armazenado passe por um controle de qualidade para avaliação de sua viabilidade.

Na medicina humana, os parâmetros de qualidade estão bem estabelecidos e são rigorosamente seguidos enquanto na medicina veterinária, apesar de se conhecerem as alterações ocorridas durante o

* Autor para correspondência: barreto@ufersa.edu.br

armazenamento nas diferentes espécies, os mesmos não estão bem instituídos.

Dessa forma, a presente revisão tem por objetivos relatar as principais alterações hematológicas, morfológicas, hemogasométricas e bioquímicas ocorridas durante o armazenamento de sangue total em bolsas plásticas refrigeradas de 1 a 6 °C, em diferentes espécies animais.

HISTÓRICO

No século XX, a medicina transfusional vivenciou grandes avanços com a descoberta dos diferentes tipos sanguíneos, com a utilização dos anticoagulantes durante a coleta, o conhecimento das técnicas de esterilização, o fracionamento do sangue e identificação das doenças transmissíveis (Lacerda, 2005). Essas descobertas permitiram a difusão da transfusão na medicina humana e serviram como base para a medicina veterinária.

O desenvolvimento de meios e soluções preservativas possibilitou o armazenamento dos eritrócitos, prolongando sua vida útil. No século XX, Rous e Turner verificaram que uma solução com citrato de sódio poderia ser utilizada como preservativo do sangue e que a lise *in vitro* era retardada por adição de açúcares, tal constatação permitiu a conservação do sangue em citrato e glicose, por até 26 dias (Mollison et al., 1997; Hashimoto, 1997). A adição de ácido cítrico à mistura de glicose e citrato possibilitou o desenvolvimento de uma solução com melhor capacidade de preservação, mantendo a viabilidade de 70% dos eritrócitos (Massouredis, 1983).

A introdução do citrato como anticoagulante permitiu que o doador e o receptor fossem separados no espaço, já que o sangue poderia ser transportado de um local para outro sem coagular, enquanto a adição de glicose possibilitou a nutrição das hemácias por maior período de tempo (Mollison, 2000). Isso tornou possível a coleta de sangue de vários indivíduos e armazenamento por um tempo razoável, até encontrar um receptor, estabelecendo a possibilidade da criação dos bancos de sangue (Hess, 2006).

Outras descobertas foram importantes para melhor conservação das hemácias, como a adição de fosfato na década de 50, que aumentou a viabilidade de 80% das células, e incorporação de adenina à solução de citrato/dextrose na década de 70, que permitiu o aumento dos níveis de adenosina-5-trifosfato (ATP). Desde então, o conservante mais utilizado vem sendo a solução contendo citrato, fosfato, dextrose e

adenina (CPDA-1) (Gibson et al., 1957; Nakão et al., 1960).

Na medicina veterinária, as primeiras bolsas utilizadas para se armazenar o sangue coletado foram as contendo citrato ácido e dextrose (ACD). Entretanto, a preservação do sangue conservado nesta solução era, no máximo, três semanas (Eisenbrand & Smith, 1973).

A partir de 1980 foram criadas as soluções aditivas que vieram para aumentar o tempo de prateleira das hemácias. Na década de 90, novos conhecimentos contribuíram para melhoria da qualidade das células armazenadas, como a leucorredução (Hess, 2006). Cada vez mais, o empenho dos pesquisadores tem sido o aprimoramento de soluções preservativas, no intuito de se reduzir as lesões de armazenamento e promover maior tempo de conservação (Hess, 2006).

BOLSAS DE SANGUE E REFRIGERAÇÃO

Inicialmente, a coleta e armazenamento de sangue para transfusão eram realizados mediante utilização de frascos de vidro a vácuo contendo anticoagulante. Tais recipientes são menos adequados por provocarem hemólise, agregação plaquetária e inativação dos fatores de coagulação VIII e XIII (Hunt & Moore, 1990).

A partir da Segunda Guerra Mundial, bolsas de policloreto de vinila (PVC) são utilizadas para o armazenamento, em substituição aos frascos de vidro, que são impermeáveis à troca de gases. (Genetet & Mannoni, 1980). A introdução do PVC na confecção de bolsas de sangue veio minimizar a adesão celular, a formação de coágulos e a hemólise durante a estocagem. Isto facilitou o transporte e centrifugação do sangue, bem como possibilitou a sobrevida de vários componentes sanguíneos pós-transfusão (Pierre, 1981).

As bolsas possuem também propriedades especiais de permeabilidade ao CO₂, pois durante a estocagem do sangue, a glicose consumida para produzir ATP gera uma série de metabólitos, dentre eles o lactato e prótons que, na presença da anidrase carbônica, são convertidos em água e CO₂. Por sua vez, o dióxido de carbono resultante dessa reação difunde-se para o meio externo devido à permeabilidade da bolsa a esse gás, evitando a reversão da reação (Hess & Greenwalt, 2002).

As bolsas para conservação de sangue total utilizadas na medicina veterinária são as mesmas utilizadas na medicina humana, as quais possuem solução conservadora na proporção de 63 mL para

450 mL ou 70 mL para 500 mL de sangue total, enquanto as bolsas com soluções aditivas possuem ainda solução de 100 mL a serem adicionados após a coleta (Feldam & Sink, 2007).

Os sistemas para coleta de sangue podem ser usados para humanos, caninos e animais de grande porte. No entanto, não são apropriados para coleta de sangue felino, já que o volume de anticoagulante utilizado na bolsa é planejado para 450 mL de sangue e uma típica doação felina é de aproximadamente 50 mL. Nesses casos são realizadas adaptações com uso de seringa de 60 mL acopladas a bolsas, sendo a quantidade de anticoagulante reduzida (Bertoletti, 2011). Em outros países existem sistemas fechados de coleta de sangue específico para felinos (Feldam & Sink, 2007).

As bolsas para coleta de sangue podem ser encontradas na forma de bolsa única, ou acopladas formando sistemas duplo (bolsa primária e outra satélite), triplo (bolsa primária, mais duas satélites) ou quádruplo (uma primária e três satélites). As bolsas satélites são utilizadas para armazenar os componentes sanguíneos após a centrifugação do sangue total, como concentrado de hemácias, plasma e plaquetas (Feldam & Sink, 2007).

São utilizadas para coleta e armazenamento de sangue três principais tipos de soluções preservativas: ACD (Citrato Dextrose), CPD (Citrato Fosfato Dextrose) e CPDA-1 (Citrato Fosfato Dextrose e Adenina). Ainda, existem as bolsas que contêm soluções aditivas as quais possuem na bolsa primária CPD ou CPD2 e na bolsa satélite SAG-M, ADSOL (AS-1), NUTRICEL (AS-3) ou OPTISOL (AS-5) (Holme, 2005).

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., 2008; Bertoletti, 2011; Barros, 2011). Cada constituinte da solução preservativa possui funções específicas que ajudam a manter a viabilidade do sangue por mais tempo. O citrato é um anticoagulante que age quelando o cálcio e impedindo a coagulação sanguínea, bem como promove a estabilização da membrana eritrocitária auxiliando na manutenção do pH intracelular (Authement et al., 1986; Högman et al., 2002).

Já a dextrose é adicionada à solução como fonte de energia, sendo este carboidrato consumido lentamente pela célula quando as mesmas são submetidas a condições de baixas temperaturas (1 a 6°C) contribuindo, inclusive, com a manutenção de níveis adequados de ATP. A adenina promove um aumento do adenilato, que é importante para a síntese de ATP, aumentando as reservas desses nucleotídeos no interior das células estocadas, reduzindo a fragilidade osmótica e garantindo maior sobrevida das hemácias (Authement et al., 1986).

O fosfato é substrato para a produção do 2,3 difosfoglicerato (DPG) no interior das hemácias, que é um componente orgânico responsável pela captura e liberação de O₂ pela hemoglobina aos tecidos (Eisenbrandt & Smith, 1973; Wardrop et al., 1994a). O quadro 1 apresenta a concentração das principais substâncias utilizadas nas soluções preservativas de uso em medicina veterinária, enquanto que o quadro 2 apresenta a composição das diferentes soluções aditivas.

Quadro 1- Composição de diferentes soluções conservadoras utilizadas no armazenamento de sangue total ou hemocomponentes.

Anticoagulante	ACD ¹	CPD ²	CPDA-1 ³
Citrato de sódio (g)	1,48	1,66	1,66
Ácido cítrico (mg)	493	188	188
Fosfato de sódio (mg)	-	140	140
Dextrose (g)	1,65	1,61	2,00
Adenina (mg)	-	-	17,3

Fonte: Mudge et al., 2004.

¹Citrato dextrose; ²Citrato fosfato dextrose; ³Citrato fosfato dextrose e adenina.

A primeira solução aditiva desenvolvida foi a SAG-M, sendo as soluções aditivas subsequentes variações da mesma, como AS-1, AS-3 e AS-5 (Hess, 2006). A solução AS-3 não possui manitol na sua composição, entretanto tem citrato, que substitui a ação estabilizadora de membrana do manitol e também é enriquecida de fosfato na solução

anticoagulante (CP2D) e na solução aditiva (fosfato de sódio monobásico) (Hess, 2006).

As bolsas contendo CPDA-1 são as mais utilizadas na medicina veterinária (Lanevski & Wardrop, 2001), sendo que a CPD/SAG-M aos poucos vem ganhando espaço.

Quadro 2- Composição de diferentes soluções aditivas utilizadas no armazenamento de sangue total ou hemocomponentes.

Componentes	SAG-M	ADSOL (AS-1)	NUTRICEL (AS-3)	OPTISOL (AS-5)
Cloreto de sódio (mg)	877	900	410	877
Manitol (mg)	525	750	-	525
Adenina (mg)	17	27	30	30
Dextrose (g)	-	2,2	1,1	900
Ácido Cítrico (mg)	-	-	42	-
Citrato de sódio (mg)	-	-	588	-
Fosfato de sódio monobásico (mg)	-	-	276	-
Tipo de anticoagulante na bolsa primária	CPD ¹	CPD	CPD ²	CPD

Fonte: Holme (2005).

¹Citrato, fosfato e dextrose; ²Citrato, fosfato de sódio monobásico e dextrose.

Novas soluções aditivas vêm sendo desenvolvidas na medicina humana, no intuito de diminuir as lesões de armazenamento e aumentar o tempo de conservação. A produção de ATP para manutenção do metabolismo energético dos eritrócitos tem sido um grande desafio para a medicina transfusional, mas recentemente foi criada uma nova solução aditiva, a PAGGS-M, que possui em sua composição cloreto de sódio, fosfato, glicose, adenina, manitol e guanósina (Walker et al., 1990; Hess, 2006). A guanósina foi adicionada como fonte de ribose, com objetivo de conduzir a via Embden-Meyerhof da glicólise e aumentar o aporte de ATP, sendo que essa solução proporcionou aumento do período de armazenamento que antes era de 42, para 49 dias (Walker et al., 1990). Outra solução desenvolvida foi a ½ CPD ErythroSol (½ CPD/RAS2), onde tentou-se aumentar o pH da solução conservadora através da redução do anticoagulante CPD, e usando solução aditiva neutra com glicose autoclavada em uma bolsa separada (Hogman et al., 1997), a qual conserva os eritrócitos humanos por até sete semanas.

Hess et al. (2003) criaram uma solução preservativa (CPD/EAS-81) capaz de armazenar as hemácias por oito semanas, na qual promoveram a alcalinização da

solução aditiva, que abranda a queda do pH e, conseqüentemente, conserva o ATP e DPG.

Independente do tipo de solução utilizada para conservação do sangue, após a coleta as bolsas devem ser armazenadas em geladeiras com temperatura de 1 a 6°C, pois as reações bioquímicas e moleculares das hemácias são retardadas pela redução da temperatura (Scott et al., 2005). As hemácias humanas mantidas sob refrigeração entre 2 a 8°C diminuem em até 40% o metabolismo, retardando o processo de envelhecimento normal (Högman, 1998).

CONSERVAÇÃO DE SANGUE TOTAL NAS DIFERENTES ESPÉCIES

A separação dos hemocomponentes sanguíneos não é uma prática rotineira na medicina veterinária, como ocorre na medicina humana (Lacerda, 2005). No entanto, o fracionamento do sangue permite que mais de um paciente possa se beneficiar de apenas um doador, pois muitas vezes o paciente que requer uma transfusão, precisa de apenas um componente sanguíneo específico.

O tempo de armazenamento do sangue na espécie humana depende da solução utilizada na bolsa de coleta: ACD e CPD são de 21 dias, CPDA-1 é de 35 dias e bolsas contendo solução aditiva varia de 42 a 49 dias (Razouk & Reich 2004). Na medicina veterinária, pesquisas tem mostrado que utilizando as mesmas soluções para a conservação do sangue, o

tempo de armazenamento é diferente entre as espécies, não sendo indicado usar como referência o tempo de conservação do sangue humano (Bertoletti, 2011; Durham, 1996). O quadro 3 apresenta o tempo de conservação dos hemocomponentes em diferentes soluções conservadoras e diferentes espécies.

Quadro 3 - Tempo de conservação dos hemocomponentes em diferentes soluções conservadoras de acordo com a espécie animal.

Espécie	Solução Conservadora	Componente	Tempo de Preservação	Autor
Canino	CPDA-1	Sangue total	35 dias	Authement, 1986
Canino	CPDA-1 CPD/SAGM	Sangue total Sangue total	41 dias 41 dias	Costa Júnior et al. 2008
Canino	CPDA-1 CPD/Adsol	Concentrado de hemácias Concentrado de hemácias	20 dias 37 dias	Wardrop et al. 1994b
Canino	CPD/Nutricel	Concentrado de hemácias	35 dias	Wardrop et al. 1997
Felino	CPAD-1 CPD/SAGM	Sangue total Sangue total	28 dias 28 dias	Bertoletti, 2011
Equino	CPDA-1	Sangue total	21 a 28 dias	Durham, 1996
Equino	CPD/SAGM	Concentrado de hemácias	35 dias	Niinistö et al. 2008
Bovino	CPDA-1	Sangue total	35 dias	Ribeiro Filho et al. 1994
Ovino	CPDA-1	Sangue total	35 dias	Sousa et al. 2012b
Asinino	CPDA-1 CPD/SAGM	Sangue total Sangue total	42 dias 42 dias	Barros, 2011

LESÕES DE ARMAZENAMENTO E CONTROLE DE QUALIDADE DO SANGUE ARMAZENADO

A retirada do sangue da circulação para conservação *in vitro*, transfere os eritrócitos para um ambiente diferente do encontrado no organismo vivo, o que promove uma série de alterações hematológicas, morfológicas, hemogasométricas e bioquímicas, que em conjunto são conhecidas como lesões de armazenamento (Chin-Yee et al., 1997; Bertoletti, 2011).

Na medicina humana, existem parâmetros hematológicos e bioquímicos de referência que precisam ser seguidos para que o sangue e seus componentes sejam considerados de boa qualidade para a realização da transfusão. Na medicina veterinária, os parâmetros de qualidade não estão bem estabelecidos para cada espécie animal, sendo

observado em alguns estudos a utilização de parâmetros humanos para avaliar a qualidade do sangue animal armazenado (Mudge et al., 2004; Niinistö et al., 2008; Barros, 2011).

A utilização dos hemocomponentes é uma realidade na clínica de pequenos animais, em especial na canina, sendo conhecidas as formas de fracionamento, tempo de conservação dos hemocomponentes e sobrevivência pós-transfusional das hemácias transfundidas, enquanto na clínica de grandes animais o sangue total ainda é a forma mais utilizada, embora alguns estudos em equinos têm sido conduzidos, no intuito de possibilitar a utilização dos hemocomponentes. Posteriormente são descritas as principais alterações hematológicas, morfológicas, bioquímica e hemogasométricas ocorridas no armazenamento de sangue total nas diferentes espécies animais.

Alterações Hematológicas e Morfológicas

Os eritrócitos dos mamíferos são células anucleadas que não possuem mitocôndrias, o que diminui a capacidade sintética e impede realização do ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa, sendo necessário que as soluções conservadoras forneçam nutrientes para a manutenção do metabolismo energético através da glicólise. Nesse contexto, a concentração de adenosina trifosfato (ATP) durante o armazenamento desempenha papel fundamental, principalmente por estar envolvida em funções importantes como o controle da bomba de sódio e potássio e na manutenção da forma dos eritrócitos (Korte & Verhoeven, 2004).

Apesar das soluções conservadoras possuírem fontes de energia para a manutenção do metabolismo eritrocitário, a sobrevivência dos eritrócitos é limitada tanto pela redução da fonte energética ao longo do armazenamento como pelo envelhecimento natural das hemácias. O período de armazenamento promove uma série de alterações na membrana plasmática dos eritrócitos como redução do tamanho e esferocitose progressiva, surgimento de microvesículas e aumento gradual da fragilidade osmótica, sendo que algumas sofrem lise, levando à diminuição no número de hemácias, diminuição do volume globular e aumento da hemoglobina plasmática (Wardrop et al., 1994a).

O aumento da hemoglobina plasmática (hemoglobina livre) é resultante da ruptura das hemácias ou liberação da hemoglobina presente em microvesículas presente na membrana, o que pode ocasionar danos à função renal e ao sistema de coagulação quando o sangue é transfundido (Hess e Greenwalt, 2002; Korte e Verhoeven, 2004). Nos bancos de sangue humanos, a percentagem de hemólise durante o armazenamento não deve ser superior a 1%. Nos países da União Européia e no Brasil esse parâmetro é mais rígido, não podendo ultrapassar 0,8% (Korte e Verhoeven, 2004; RDC, 2004). O cálculo da porcentagem de hemólise segue a fórmula de Wardrop et al. (1997):

% Hemólise = $(100 - VG^*) \times \text{hemoglobina plasmática (g/dL)} / \text{Hemoglobina total (g/dL)}$

* Volume Globular

Pelas normas brasileiras o nível de hemoglobina plasmática do concentrado de hemácias humano não deve ser superior a 0,8 g/dL ao final do tempo de armazenamento (RDC, 2004). 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 (Niinisto et al., 2008; Mudge, 2004; Barros, 2011).

Em algumas espécies, o armazenamento tem promovido variações no volume corpuscular médio das hemácias (VCM), sendo observado que hemácias de ovinos e humanos aumentam esse índice hematimétrico (Sousa et al., 2012b; Wolfe, 1985), entretanto na espécie equina tal alteração não foi observada (Mudge et al., 2004; Lopes et al., 1994). A variação no VCM está relacionada à falência da bomba de sódio e potássio, que é afetada pela diminuição dos níveis de ATP, levando ao acúmulo de substâncias osmóticas e à perda progressiva da área de superfície das hemácias (Valeri, 1994).

A conservação de sangue total em bolsas CPDA-1 em ovinos (Sousa et al., 2012b) e ACD em equinos (Lopes et al., 1994; Barthel, 1999) mostrou redução na leucometria global. Salib e Dawson (1985) sugeriram que a diminuição dos leucócitos ao longo do armazenamento ocorre devido à rápida degeneração dos neutrófilos, quando comparada aos linfócitos.

Ao longo dos anos, estudos tem mostrado que os leucócitos podem exercer efeitos deletérios indiretos sobre as hemácias armazenadas 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 (Eder e Chambers, 2007; Sheppard et al., 2007). 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).

A contaminação de hemácias por leucócitos acelera a hemólise e aumenta o potássio extracelular, portanto a conservação é melhor quando se elimina a camada leucoplaquetária (Hogman et al., 2002). Portanto, a redução de 80 a 90% dos leucócitos tem demonstrado redução dos riscos de reação pós-

transfusional (Högman, 1998). Existem no mercado bolsas que reduzem a camada leucoplaquetária (buffy coat) do sangue total, denominadas bolsas Top Bottom, que possuem filtros especiais que separam as hemácias e o plasma, dos leucócitos e das plaquetas. A leucorredução realizada por essas bolsas não é completa, sendo recomendado que os produtos das células vermelhas não tenham mais que $1,2 \times 10^9$ leucócitos/unidade (Hogman et al., 1978).

Durante o armazenamento, as hemácias também sofrem uma sequência previsível de alterações na forma. Inicialmente tais células apresentam forma normal de disco bicôncavo (discócitos), sofrem crenação formando equinócitos e posteriormente ficam “ingurgitadas” formando uma esfera crenada com múltiplas espículas (esferoquinócitos), as quais são eventualmente perdidas por meio de vesículas lipídicas, produzindo esferócitos (Greenwalt et al., 1990).

A formação dos equinócitos ocorre quando há diminuição na concentração de ATP, excesso de Ca^{2+} , presença de agentes químicos, expansão da porção externa ou interna da bicamada lipídica dos eritrócitos, sendo que equinócitos são reversíveis e interconvertíveis à forma de discócito (Chailley et al., 1973). Entretanto, se houver perda de fragmentos da membrana pela continuidade da lesão, com aumento da viscosidade e rigidez do eritrócito, forma-se o esferócito, irreversível e altamente suscetível à hemólise (Chabanel et al., 1987).

No entanto, Hess et al. (2000) mostraram que existe uma correlação entre a morfologia e a concentração de ATP e a sobrevivência das hemácias pós-transfusional, mas não existe correlação entre a morfologia e o grau de hemólise, sugerindo que a manutenção da forma das hemácias é uma característica desejável, porém não necessária para manutenção da qualidade das hemácias. Experimentos *in vitro* mostraram que as hemácias retornam a sua forma normal após serem ressuspendidas, desde que estas não estejam no estágio de esferócito (Hess et al., 2000).

Para Scott et al. (2005) as alterações morfológicas podem influenciar o transporte dos eritrócitos pelos minúsculos capilares sanguíneos e reduzir a sobrevivência pós-transfusional, já que as células com alterações morfológicas são eliminadas mais rapidamente pelo sistema fagocítico macrocítico.

Alterações Hemogasométricas

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 básico (Almosny, 2003). Quando o sangue coletado é armazenado em soluções conservadoras, uma das principais alterações que ocorre é a redução do pH, visto que as células continuam seu metabolismo.

Nas diferentes espécies observa-se a redução do pH logo no primeiro dia de armazenamento, decorrente da presença de ácido cítrico na solução conservadora, sendo que este pH tende a decrescer ainda mais ao longo do tempo, devido ao metabolismo anaeróbico das hemácias em que a glicose é metabolizada a lactato, levando ao acúmulo de íons H^+ (Authement et al., 1986; Ribeiro Filho et al., 1993).

O poder tampão do plasma também produz efeitos na conservação. Em concentrados de hemácias, a diminuição do pH é mais rápida do que no sangue total. A retirada de plasma elimina parte da solução de conservação utilizada e, sobretudo, os substratos, como glicose e fosfatos (Genetet & Mannoni, 1980). Entretanto, a relação solução de conservação/volume de sangue deve ser respeitada, pois, se o volume de sangue coletado for pequeno em relação ao anticoagulante, a diminuição do pH será mais acentuada, devido à acidez da solução (Ribeiro Filho et al., 1994).

A captação e liberação de oxigênio pela hemoglobina são mediadas pelo 2,3 DPG, sendo que as concentrações desse elemento estão relacionados a variações do pH, que quando menor que 7,0 há degeneração do DPG aumentando a afinidade da hemoglobina pelo O_2 , enquanto pH acima de 7,0 promove regeneração do DPG e menor afinidade da hemoglobina pelo O_2 (Kurup et al., 2003).

A redução na afinidade da hemoglobina pelo oxigênio é conhecida como efeito Bohr, ou desvio Bohr. O aumento na pCO_2 é outro fator que também causa redução na afinidade da hemoglobina através de dois mecanismos: por diminuição do pH sanguíneo e por promover combinação direta do CO_2 com a hemoglobina formando compostos carbamínicos (Randall et al., 2008).

Não é bem conhecido o pH onde as células sanguíneas podem ser submetidas e continuam a metabolizar, mas Hess e Greenwalt (2002) em trabalho com sangue humano sugeriram que o pH de 6,2 seja o máximo.

A pressão de CO_2 é uma variável hemogasométrica que tende a aumentar no interior das bolsas de

sangue ao longo do período de armazenamento, devido principalmente à neutralização do ácido láctico produzido pelo metabolismo celular, resultando na produção de CO₂. A pO₂ também tende a aumentar no interior das bolsas, sendo observado aumento dessas variáveis no armazenamento de sangue canino, bovino, ovino e asinino (Costa Junior et al., 2008; Ribeiro Filho et al., 1994; Sousa et al., 2012b; Barros, 2011). Comprovando que as bolsas plásticas utilizadas para o armazenamento do sangue são permeáveis ao CO₂ e ao O₂ (Ribeiro Filho et al., 1994). Altos níveis de pCO₂ também promovem maior degradação do 2,3 DPG (Högman et al., 2002).

O metabolismo anaeróbico das hemácias produz ácidos, entre eles o ácido láctico, que é neutralizado pela ação do HCO₃⁻ plasmático, que tem papel tamponante no meio extracelular (Randall et al., 2008). Ribeiro Filho et al. (1994) mencionam aumento nos níveis de lactato ao longo do período de armazenamento, enquanto ocorre redução gradual nos níveis de bicarbonato plasmático, de modo a neutralizar esses ácidos (Ribeiro Filho et al., 1994).

Alterações Bioquímicas

Entre os padrões bioquímicos utilizados para avaliar a conservação de sangue total estão às concentrações de ATP, 2,3 DPG, sódio, potássio e glicose, entretanto, a determinação desses dois últimos parâmetros são práticos e normalmente utilizados na rotina dos bancos de sangue para avaliar a qualidade do sangue armazenado (Tomczak, 2008).

O potássio é um íon predominante intracelular, sendo encontrado apenas cerca de 2% no meio extracelular, enquanto o sódio é um íon extracelular. A manutenção do equilíbrio desse gradiente de concentração nas hemácias é realizada pela bomba de sódio e potássio encontrada na membrana plasmática. A atividade da bomba Na⁺/K⁺ é dependente dos níveis de ATP, sendo também influenciada pela diminuição do pH e da temperatura (Meyer et al., 1995; Högman et al., 1997; Högman, 1998).

Ao longo do período de armazenamento ocorre diminuição das concentrações de ATP, queda do pH e diminuição da atividade da bomba de Na⁺/K⁺, ocorrendo aumento do potássio extracelular e diminuição do sódio extracelular (Meyer et al., 1995). A inversão do gradiente de concentração promove aumento de soluções osmóticas e conseqüentemente aumento da hipertonicidade do meio intracelular (Hashimoto, 1997; Valeri, 1994).

Altos valores de potássio no sangue armazenado estão na dependência da hemólise, e das concentrações de potássio intra-eritrocitários entre as espécies, sendo encontradas altas concentrações nas hemácias de humanos (102±3,9mmol/L), equinos (120±1,1mmol/L), suínos (105,9±12,7), caprinos (76,1mmol/L) e bovinos (22±2,5mmol/L) e baixos valores para cães (5,7±1mmol/L) e gatos (5,9±1,9mmol/L), de acordo com Harvey (2010).

Com relação aos ovinos e asininos tem-se observado variações intraespécies, existindo animais com hemácias possuindo altos valores de potássio (HK⁺ - ovinos 98,7mmol/L, asininos 114mmol/L) e com baixos valores deste íon (LK⁺ - ovinos 39,4mmol/L, asininos 100mmol/L), conforme citado na literatura (Turcker e Ellory, 1971; Miseta et al., 1993).

Portanto, as concentrações de potássio do sangue canino armazenado, não podem ser comparadas com as concentrações do sangue equino, por exemplo, mesmo levando em consideração o mesmo tempo de armazenamento e o grau de hemólise, já que as concentrações de potássio serão diferentes devido à diferença individual na concentração intraeritrocitária desse eletrólito.

O sangue armazenado e hemolisado de animais que possuem altos valores de potássio intraeritrocitário quando transfundido possui maiores chances de provocar hipercalemia, enquanto sangue armazenado de animais que possuem pouco potássio intracelular tem menores chances de provocar hipercalemia, mas podem agravar quadros de pacientes com problemas renais ou pacientes que recebam grandes volumes transfusionais (Hohenhaus, 2007). O quadro 4 apresenta a concentração de potássio em estudos realizados em diferentes espécies animais.

Assim como a hemoglobina, o aumento da concentração de potássio extracelular indica um dos primeiros eventos que se relacionam com a redução da qualidade das células vermelhas (Korte & Verhoeven, 2004). Para a espécie humana são aceitáveis níveis menores que 100mmol/L (Tomczak, 2008) de potássio ao final do período de armazenamento de concentrado de hemácias. Porém, esse valor não pode ser estendido a todas as espécies, necessitando ainda de estudos que determinem os valores para cada espécie.

Determinações dos valores de ATP e 2,3 DPG, que tendem a diminuir no decorrer do período de armazenamento, vêm sendo incluídas nas pesquisas para se avaliar a qualidade do sangue armazenado, porém na prática esses parâmetros não são utilizados rotineiramente nos bancos de sangue, devido à

onerosidade (Niinisto et al., 2008; Mudge et al., 2004; Costa Júnior et al.; 2008; Högman, 1998).

A redução da concentração de ATP durante o armazenamento é responsável principalmente pelas lesões de armazenamento ligadas a membrana celular dos eritrócitos, como esferocitose progressiva, endocitoses anormais, aumento da fragilidade, redução do tamanho e surgimento de microvesículas, além de interferir no bom funcionamento da bomba de sódio e potássio (Eisenbrant & Smith, 1973; Högman et al., 2002).

O 2,3 DPG como já mencionado anteriormente é importante na liberação do oxigênio ligado à hemoglobina, para os tecidos. Apesar de o armazenamento promover depleção dos níveis de 2,3 DPG, os eritrócitos retornam a síntese normal de 2,3 DPG, sendo necessárias 24 a 48 horas após a

transusão para que ele se normalize. Contudo, este é um fator limitante para a utilização de sangue armazenado por longo período em pacientes críticos que necessitam de entrega rápida de O₂, e agravado ainda mais, pois os pacientes críticos necessitam de tempo superior a 24 e 48 horas pós-transusão para recuperarem os níveis de 2,3 DPG (Scott et al., 2005; Kristensen & Feldam, 1997).

As concentrações de 2,3 DPG assim como as de potássio são variáveis entre as espécies. Ruminantes e felinos diferentemente das outras espécies animais, inclusive o homem apresentam quantidades menores de 2,3-DPG, sendo este mediador menos importante para essas espécies devido a mecanismos adaptativos que permitem a esses animais terem liberação rápida de oxigênio aos tecidos (Bunn & Forget, 1986).

Quadro 4 - Concentração de potássio plasmático (mmol/L) em componentes sanguíneos armazenados em diferentes soluções conservadoras.

Espécie	Componente	Tempo de Armazenamento	Tipo de bolsa	Potássio (mmol/L)	Autor
Humano	Concentrado	42 dias	CPD-SAM	60	Tomczak, 2008
Canino	Sangue total	41 dias	CPDA-1 CPD-SAGM	5,1 3,8	Costa Júnior, 2006
Felino	Sangue total	28 dias	CPDA-1 CPD-SAGM	4,8 2,76	Bertoletti, 2011
Equino	Sangue total	32 dias	CPDA-1	17,3	Mudge et al. 2004
Equino	Concentrado	35 dias	CPD-SAGM	28,5	Niinisto et al. 2008
Asinino	Sangue total	42 dias	CPDA-1 CPD-SAGM	6,73 5,78	Barros, 2011
Bovino	Sangue total	35 dias	CPDA-1	9,96	Ribeiro Filho et al. 1993
Ovino	Sangue total	35 dias	CPDA-1	22,85	Sousa et al. 2012b

Kay (1977) atribui essa adaptação, ao fato de ruminantes e felinos serem animais que requerem liberação rápida de energia, na execução de saltos e corridas repentinas. Nos momentos de exigências físicas os animais, apresentam aumento da temperatura corpórea, o pH sanguíneo diminui, e a demanda de O₂ aumenta. Nessa situação a afinidade diminuída pelo oxigênio pode facilitar a sua liberação para os tecidos (Bunn & Forget, 1986).

A glicose tem sido utilizada como um marcador da qualidade do sangue humano armazenado, onde ao final do período de conservação os níveis desse carboidrato devem ser superiores a 50mg/dL (Tomczak, 2008). A glicose é o substrato utilizado para produção de energia através da glicólise, sendo

que no início do período de conservação observam-se elevados valores decorrentes da presença de glicose na solução preservativa. Entretanto, os níveis deste carboidrato tendem a diminuir durante o armazenamento, devido à sua utilização como fonte energética para produção de ATP (Ribeiro Filho et al., 1994).

O consumo de glicose pelos eritrócitos varia de acordo com as diferentes espécies animais, sendo que os eritrócitos humanos apresentam maior taxa de consumo deste carboidrato ($1,48 \pm 1,1 \mu\text{mmol/h/mL}$) quando comparado com outros mamíferos. Como as bolsas de conservação de sangue foram projetadas para essa espécie, a quantidade de glicose não é um

empecilho para a conservação de sangue em outras espécies (Harvey, 2010).

Ao final de 32 dias de conservação de sangue total equino em diferentes soluções, observaram-se valores de glicose acima de 300mg/dL (Mudge et al., 2004). No sangue canino e felino, valores acima de 500mg/dL durante 42 dias e 28 dias de conservação respectivamente, em bolsas CPD/SAGM (Costa Júnior et al., 2008; Bertoletti, 2011). As bolsas tipo CPD/SAG possuem na solução preservativa maior quantidade de glicose quando comparada às bolsas tipo CPDA-1.

A atividade da enzima lactato desidrogenase (LDH) também tem sido utilizada em estudos com sangue equino armazenado, para auxiliar na avaliação de hemólise, já que essa enzima está presente em grande quantidade nos eritrócitos (Mudge et al., 2004).

Avaliação Microbiológica

Um dos objetivos da conservação de sangue além de manter a qualidade e viabilidade das células armazenadas é evitar a proliferação bacteriana (Högman et al., 2002; Smith et al., 1978), em virtude dos eritrócitos armazenados servirem como meio de cultura para bactérias (Hess, 2010). Há de se ressaltar que apesar das bolsas para a coleta e armazenamento de sangue apresentar um sistema fechado, pode ocorrer contaminação no momento da coleta por bactérias presentes na pele, no sangue dos animais ou ainda durante o armazenamento se as bolsas não forem seladas corretamente. Segundo Hess (2010) a maioria das bactérias não sobrevive às baixas temperaturas de armazenamento (1 a 6°C), no entanto existem algumas tolerantes, como *Aeromonas* e algumas espécies de *Serratia*. Nesses casos de contaminação, o crescimento bacteriano é lento, cerca de uma divisão por dia, levando pelo menos 19 dias para uma bactéria multiplicar-se cerca de 10^8 , podendo provocar sepse (Wagner, 2004).

A avaliação microbiológica nos bancos de sangue humano é um parâmetro de avaliação obrigatória pela legislação brasileira (RDC, 2004), sendo que normalmente não é realizada em todas as bolsas, mas em uma amostra representativa do total.

CONCLUSÕES

O armazenamento produz alterações graduais na qualidade do sangue devido à alterações hematológicas, morfológicas, hemogasométricas e bioquímicas, podendo inviabilizar a utilização ou diminuir sua eficácia pós-transfusão.

Os padrões de controle de qualidade do sangue armazenado nos bancos de sangue humano estão bem estabelecidos, existindo leis nacionais que normatizam esse processo no intuito de detectar erros ao acaso ou erros sistemáticos. No entanto, na medicina veterinária os parâmetros de qualidade não estão bem estabelecidos para as diferentes espécies, sendo importante o desenvolvimento de estudos que possam determinar os padrões de qualidade para as diferentes espécies, assim como avaliar os efeitos e respostas do receptor ao recebimento do sangue armazenado e a capacidade das hemácias de funcionar pós-transfusão.

REFERÊNCIAS

- Almosny, N. Equilíbrio ácido-básico em Medicina Veterinária. In: Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. 2003. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. P. 5-16.
- Authement, J.M., Wolfsheimer, K.J. & Catchings, S. 1986. Canine blood component therapy: product preparation, storage and administration. *Journal of American Animal Hospital Association*, 23: 483-493.
- Barros, I. O. *Avaliação da conservação do sangue total de jumentos (equus asinus) acondicionado em bolsas de sangue do tipo CPDA-1 e CPD/SAG-M*. 2011. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Rural do Semi-Árido. 79p.
- Barthel, B. *Functionell changes in red blood cells during storage in units of full blood or erythrocyte concentrates of the horse*. 1999. Dissertation Journal, n. 2298, Freie Universita Berlin, Berlin, Germany. 208p.
- Bertoletti, B. *Peroxidação lipídica e parâmetros bioquímicos do sangue total felino armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M*. 2011. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Santa Maria. 42p.
- Brasil. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Determina o Regulamento Técnico para os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue, e seus componentes, obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea*. Resolução RDC nº 153, de 24 de junho de 2004. Disponível em :<<http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=11662>>. Acesso em: 02 out. 2011.
- Bunn, H.F. & Forget, B.G. *Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects*. 1986. Editora Philadelphia, 690p.
- Chabanel, A., Reinhart, W. & Chien, S. 1987. Increased resistance to membrane deformation of shape-transformed human red blood cells. *Blood*. 69: 739-743.
- Chailley, B., Weed, R.I., Leblond, P.F. & Maigné, J. 1973. Echinocytic and stomatocytic forms of red cells; their reversibility and convertibility. *Nouvelle Revue Française D'Hématologie.*, 13:71-87.

- Chin-Yee, I., Arya, N. & D'Almeida, M.S. 1997. The red cell storage lesion and its implication for transfusion. *Transfusion Science*, 18:447-458.
- Costa Junior, J. D. *Avaliação do sangue total de cães armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M*. 2006. Viçosa. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. 48p.
- Costa-Júnior, J.D., Viana, J.A. & Ribeiro Filho, J.D. 2008. Parameter biochemical and hemogasometric of the total blood stored of dogs in plastic stock markets contend CPDA-1 and CPD/SAG-M. *Ciência Rural*, 38:378-383.
- Durham, A.E. 1996. Blood and plasma transfusion in the horse. *Equine Veterinary Education*, 8: 8-12.
- Eder, A.F. & Chambers, L.A. 2007. Noninfectious complications of blood transfusion. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 131:708-718.
- Eisenbrandt, D.L. & Smith, J.E. 1973. Use biochemical measures to estimate viability of red blood cells in canine blood storage in acid citrate dextrose solution, with na without added ascorbic acid. *Journal of American Animal Hospital Association*, 163:984-987.
- Feldman, B.F. & Sink, C.A. *Hemoterapia para o clínico de pequenos animais*. 2007. Editora Roca. 104p.
- Genetet, B. & Manonni, P. *Antecedentes históricos*. In: La transfusion ed em espanol. Habana, Ministério de Cultura Editorial; Científico Técnico, 1980.
- Gibson, J.P., Ress, S. B. & Manus, J.C. 1957. A citrate phosphate dextrose solution for the preservation of human blood. *American Journal of Clinical Pathology*, 28:569-578.
- Greenwalt, T.J., Sostok, C.Z. & Dumaswala, U.J. 1990. Studies in red blood cell preservation: Comparason of vesicle formation, morphology, and membrane lipids during storage in AS-1 and CPDA-1. *Vox Sanguinis*, 58: 90-93.
- Harvey, J. W. *The erythrocyte: Physiology, Metabolism and Biochemical disorders*. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W. & Bruss, M.L. (Eds.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 2010. 5ª ed. P. 175-240.
- Hashimoto, M.C.T. *Estudo da preservação de sangue em diferentes bolsas de coleta com di-octil-ftalato e anticoagulante citrato-fosfato-dextrose-adenina*. 1997. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. 111p.
- Hess, J.R. 2006. An update on solutions for red cell storage. *Vox Sanguinis*, 91:13-19.
- Hess, J.R., Hill, H.R., Oliver, C.K. & et al. 2003. 12-week red blood cell storage. *Transfusion*, 43:867-872.
- Hess, J.R.; Greenwalt, T.J. Storage of blood cells: new approaches. *Transfusion Medicine Review*, v.16, p. 283-295, 2002.
- Hess, J.R. 2010. Red cell storage. *Journal of proteomics*, 73:368-373.
- Hess, J.R., Rugg, N., Gormas, J.F. & et al. 2000. The meaning of RBC morphologic changes during blood storage. *Transfusion*, 60: 60-65.
- Hogman, C.F., Erickson L., Wallvik, J. & et al. 1997. Clinical and laboratory experience with erythrocyte and platelet preparations for 0.5 CPD ErythroSol opti systems. *Vox Sanguinis*, 73:212-219.
- Högman, C.F., Knustson, F., Löf, H. & et al. 2002. Improved maintenance of 2,3 DPG and ATP in RBCs stored in a modified additive solution. *Transfusion*, 42: 824-829.
- Högman, C.F., Hedlund, K. A. & Akerblom, O. 1978. Red blood cell preservation in protein-poor media. I. Leukocyte enzymes as a cause of haemolysis. *Transfusion*, 18:233-241.
- Högman, C.F. 1998. Preparation and preservation of red cells. *Vox Sanguinis*, 74:177-187.
- Hohenhaus, A. F. *Transfusão e substitutos do sangue*. In: Dibartola, S. P. Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais. Editora Roca. 2007. P. 549 - 565.
- Holme, S. 2005. Current issues related to the quality of stored RBCs. *Transfusion and Apheresis Science*, 33: 55-61.
- Hunt, E. & Moore, J.S. 1990. Use of blood and blood products. *Veterinary Clinical North American Food Animal Practice*, 6:133-147.
- Kay, F.R. 1977. 2,3 Diphosphoglycerate, blood oxygen dissociation and the biology of mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 57:309-316.
- Korte, D. & Verhoeven, A.J. 2004. Quality determinants of erythrocyte destined for transfusion. *Cell and Molecular Biology*, 50: 187-195.
- Kristensen, A.T. & Feldman, B.F. 1997. Bancos de sangue e medicina transfusional. In: Ettinger, E. J.; Feldman, E.C.ed. *Tratado de Medicina Interna de Pequenos Animais*. 4 ed. Ed Manole, 7ª ed. p. 497-517.
- Kurup, P. A.; Arun, P.; Gayathri, C.R. & et al. 2003. Modified formulation of CPDA for storage of whole, and f SAGM for storage of red blood cells, to maintain the concentration of 2,3-diphosphoglycerate. *Vox Sanguinis*, 85: 253-261.
- Lacerda, L. 2005. *Transfusão sangüínea em veterinária: desafios a vencer*. In: II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, Porto Alegre: Anais... Porto alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.62-81.
- Lanevski, A. & Wardrop, K.J.N. 2001. Principles of transfusion medicine in small animals. *Canadian Veterinary Journal*, 42:447-454.
- Lucas, R.L.; Lentz, K.D.& Hale, A.S. 2004. Collection and preparation of blood products. *Clinical techniques in small animal practice*, 19:55-62.
- Lopes, R.S., Kohayagawa, A. & Ribeiro Filho, J.D. 1995. Alterações hematológicas e bioquímicas em sangue total de equinos, conservado para transfusão em bolsas plásticas com ACD-F. *Revista Universidade Rural: Ciência da Vida*, 17:91-94.

- Massouredis, S.P. 1983. *Preservation and clinical use of erythrocytes and whole blood*. In: Williams, W. J., Beutler E., Erslev, A.J & Linchtman, M.A. *Hematology*. 3 ed. New York, Mac Graw: Hill Book Company, 1983.
- McMichael, M.A., Smith, S.A., Galligan, A. & et al. 2010. Effect of leukoreduction on transfusion-induced inflammation in dogs. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 24:1131-1137.
- Meyer, D.J., Coles, E.H. & Rich, L.J. 1995. *Homesostasia e distúrbios eletrolíticos e ácido-básicos*. In: _____ *Medicina de laboratório veterinário: interpretação e diagnóstico*. Roca. P.83-90.
- Miseta, A., Bogner, P., Kellermayer, M. & et al. 1993. Erythrocyte potassium and sodium polymorphisms in donkeys (*Equus asinus*). *Comparasion. Biochemycal. Physiology*, 106: 479-482.
- Mollison, P.L.; Engelfriet, C.P.; Contreras, M. The transfusion of red cells. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*. 9ed. Blackwell Scientific Publication, p.377-433, 1997.
- Mollison, P. L. 2000. The introduction of citrate as an anticoagulant and of glucose as a red cell preservative. *British Journal Haematology*, 108:13-18.
- Mudge, M.C., Macdonald, M.H., Owens, S.D. & et al. 2004. Comparison of 4 Blood Storage Methods in a Protocol for Equine Pre-operative Autologous Donation. *Veterinary Sugery*, 33:475-486.
- Nakão, M., Nakão, T., Arimatsu, Y. & et al. 1960. A new preservative medium maintaining the level of adenosine triphosphate and the osmotic resistance of erythrocytes. *Proceedings of the Japan Academy*. 36: 43.
- Niinistö, K., Raekallio, M. & Sankari, S. 2008. Storage of equine red blood cells as a concentrate. *The Veterinary Journal*, 176:227-231.
- Pierre, B. 1981. DEHP in blood bags medical plastic their limitations. *Canadian Research*, June/July:13-25.
- Randall, D., Burggren, W. & French, K. 2008. *Fisiologia animal: mecanismos e adaptações*. Editora Guanabara Koogan, 4ªed. p. 453-460.
- Razouk, F.H. & Reich, E.M.V. 2004. Caracterização, produção e indicação clínica dos principais hemocomponentes. *Revista Brasileira de Hematologia Hemoterapia*, 26: 126-134.
- Ribeiro Filho, J.D., Almeida, C.T., Gonçalves, R. C. & et al. 1993. Alterações bioquímicas de sangue bovino durante a conservação por 35 dias, em frascos de vidro com ACD e bolsas plásticas com CPDA-1. *Veterinária Zootecnia*, 5: 97-103.
- Ribeiro Filho, J.D., Almeida, C.T., Gonçalves, R.C. & et al. 1994. Alterações hemogasométricas de sangue bovino durante a conservação em frascos de vidro com ACD e bolsas plásticas com CPDA-1, por 35 dias. *Veterinária Zootecnia*, 6:77-84.
- Salib, A.A. & Dawson, R.B. 1985. Preservation of different types of buffalo leucocytes in ACD and CPD with metabolic additives. *Acta Veterinaria Biograd*, 35: 203-216.
- Scott, K.L., Lecak, J. & Acker, J.P. 2005. Biopreservation of blood cells: past, present and future. *Transfusion Medicine Review*, 19: 127-142.
- Sheppard, C.A.; Logdberg, L.E., Zimring, J.C. & et al. Transfusionrelated acute lung injury. *Hematology Oncology Clinical North American*, 21:163-176.
- Smith, J.E., Mahaffey, E. & Board, P. 1978. A new storage médium for canine blood. *American Veterinary Medicine Association*, 15: 701-703.
- Sousa, R. S., Chaves, D. F., Barrêto-Júnior, R. A. & et al. 2012a. Clinical, haematological and biochemical responses of sheep undergoing autologous blood transfusion. *BMC Veterinary Research*, 8:61.
- Sousa, R. S., Barrêto-Júnior, R. A., Sousa, I. K. F. & et al. 2012b. Evaluation of hematologic, blood gas and select biochemistry parameters in whole sheep blood stored in CPDA-1 bags. *Veterinary Clinical Pathology*, 41 (no prelo).
- Tomczack, A.C.T.Q. *Estudos sobre o controle de qualidade de unidades transfusionais eritrocitárias*. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná. 96p
- Tucker, E.M. & Ellory, J.C. 1971. The cation composition of the red cells of sheep with an inherited deficiency of reduced glutathione. *Research Veterinary Science*. 12:600-602.
- Valeri, CR. *Liquid and freeze preservation of human red blood cells*. In: The red blood cell. Surgenor, DM. 2ª ed. Academic Press, P. 511-574.
- Wagner, S.J. 2004. Transfusion-transmitted bacterial infection: risks, sources and interventions. *Vox Sanguinis*, 86:157-163.
- Walker, W.H., Netz, M. & Ganshirt, K.H. 1990. 49 day storage of erythrocyte concentrates in blood bags with the PAGGS-mannitol. *Beitr Infusionsther*, 26:55-59.
- Wardrop, K.J., Young, J. & Wilson, E. 1994a. Na in vitro evaluation of storage media for the preservation of canine packed red blood cells. *Veterinary Clinical Pathology*. 23:83-88.
- Wardrop, K.J., Owen, T.S. & Meyers, K.M. 1994b. Evaluation of an additive solution for preservation of canine red blood cells. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 8:253-257.
- Wardrop, K.J., Tucker, R.L. & Mugnai, K. 1997. Evaluation of Canine Red Blood Cells Stored in a Saline, Adenine, and Glucose Solution for 35 Days. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 11: 5-8.
- Wolfe, L. C. 1985. The membrane and the lesions of storage in preserved red cells. *Transfusion*, 25:185-202.