SIMONE GONÇALVES

Reações transfusionais após a administração de concentrados de plaquetas em cães

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Departamento:
Cirurgia

Área de concentração:
Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:
Prof.^a Dra. Denise Tabacchi Fantoni

SÃO PAULO
2006

DEDALUS - Acervo - FMVZ

11300028903

N.º CLASSIFICAÇÃO
T. 1702
FMVZ
N.º TOMBO
025787

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1702
FMVZ

Gonçalves, Simone

Reações transfusionais após a administração de concentrados de plaquetas em cães / Simone Gonçalves.- São Paulo: S. Gonçalves, 2006.
94 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2006.

Programa de Pós-graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Profª. Dra. Denise Tabacchi Fantoni.

1. Reação transfusional. 2. Transfusão. 3. Concentrado de plaquetas. 4. Cães. 5. Homem. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Banco de Sangue do Hospital Veterinário da Universidade de São Paulo (HOVET-USP): Técnicas de fracionamento do sangue total, avaliação das reações transfusionais plaquetárias e determinação "in vitro" do fator de necrose tumoral (TNF) dos concentrados de plaquetas", Protocolo nº 178/2002, sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a Denise Tabacchi Fantoni, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 10/07/2002.

(We certify that the Research "Blood Bank of Veterinary Hospital of University of São Paulo: Total blood fractionation technics, transfusion platelet reaction avaliation and determination "in vitro" of tumor necrosis factor (TNF) of concentrates platelets" protocol number 178/2002, under the responsibility of Prof^aDr^a Denise Tabacchi Fantoni, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commision of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in 07/10/2002 meeting.)

São Paulo, 11 de julho de 2002

Prof^a Dr^a Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: GONÇALVES, Simone

Título: Reações transfusionais após a administração de concentrados de plaquetas em cães

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção de título de doutor em Medicina Veterinária

Data: 29 / 06 / 06

Banca Examinadora

Prof. Dr CYRILLO CAVALHEIRO FILHO Instituição: FACULDADE DE MEDICINA USP

Assinatura: [assinatura]

Julgamento: APROVADO

Prof. Dr João F. F. F. F.

Instituição: FMVZ-USP

Assinatura: [assinatura]

Julgamento: aprovado

Prof. Dr Silvia R. Lucas

Instituição: FMVZ-USP

Assinatura: [assinatura]

Julgamento: aprovado

Prof. Dr Daniel A. Chuli

Instituição: FmVSP

Assinatura: [assinatura]

Julgamento: aprovado

Prof. Dr Silvia R. G. Cortez

Instituição: FMVZ-USP

Assinatura: [assinatura]

Julgamento: aprovado

DEDICATÓRIA

A Deus por me iluminar sempre em todos os momentos, sinto a sua presença em tudo o que eu faço.

Aos meus pais José e Sônia que apesar da humildade sempre foram guerreiros para educar os seus filhos.

Ao meu marido Leandro por todo amor, paciência e companheirismo.

À minha irmã, Sílvia, amiga de todas as horas inclusive na profissão.

AGRADECIMENTOS

À professora Doutora Denise Tabacchi Fantoni por ter acreditado neste projeto desde os tempos da residência...enfim concretizado graças ao seu apoio incondicional. Nunca irei esquecer esta oportunidade única cedida por você desde o dia em que me aceitou orientar, pois me sinto privilegiada pelo fato de conseguir estender a tese para a minha vida profissional na área de hemoterapia a qual sempre quis atuar. Admiro muito você profissionalmente entretanto grande parte deste sucesso é extensão, em primeiro lugar, da pessoa maravilhosa que você é.

Dedico e agradeço aos meus pais e à minha irmã pelo apoio e por sempre me incentivar em alcançar os meus objetivos.

Dedico e agradeço ao meu marido, Leandro, pelas palavras de incentivo nas horas mais difíceis, pela sinceridade sempre presente que me norteia nos momentos em que me sinto confusa e desanimada. Você é fundamental em minha vida.

Em especial à FAPESP por ter financiado e viabilizado o projeto que engloba este estudo abrindo porta para novas pesquisas nesta área.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP pelos votos depositados e por ter concedido um espaço no hospital veterinário para a implantação do banco de sangue.

Ao professor Dr. Cyrillo Cavalheiro Filho pela co-orientação imprescindível na execução e delineamento deste estudo dando-me a oportunidade de estagiar no HEMOCENTRO Hospital das Clínicas.

À equipe do banco de sangue do Hospital das Clínicas pela paciência e pelo aprendizado proporcionado em especial para a Patrícia do controle de qualidade pela receptividade em tirar as minhas dúvidas.

Silvia Ulata, obrigada pela parceria e amizade, sem a sua ajuda talvez não estaria escrevendo estes agradecimentos hoje...

AGRADECIMENTOS

Ao canil da Marinha e canil Golden Trip, por colaborarem com seus queridos cães doadores...sem eles nada estaria concretizado. Obrigado a todos: Sadan Jr, Infanti, Poseydon, Léo, Cowboy, Hagen e vários outros. E claro, a todos os soldados da marinha que sempre nos auxiliaram: Martins, Teixeira, Monteiro, além de Marco e Carol do Golden Trip.

À todos os professores da FMVZ-USP que apoiaram este estudo ajudando a solucionar vários problemas no caminho: Stopiglia, Silvia Cortopassi, Márcia Mery, Silvia Ricci.

À toda a equipe da UNISA que sempre me apoiou com total flexibilidade, fundamental para o cumprimento das disciplinas sem que eu precisasse me afastar da instituição. Agradeço de coração: Cínthia, Márcia Jericó, Ronaldo, Wagner, Sandra, professor Antônio, Dangelino, Mary (sentirei muito a sua ausência) e demais professores e veterinários. Em especial, aos professores Márcia Jericó e Ronaldo que me incentivaram a não desistir da área de hemoterapia além, é claro, das oportunidades profissionais que vocês me deram, fundamentais para minha carreira.

Ao veterinário Márcio pelo auxílio no diagnóstico de Leishmaniose nos doadores e à veterinária Ana por me ajudar nos momentos de aperto.

Rafinha e Vivi, estagiárias do banco de sangue, obrigada por toda a ajuda na etapa mais difícil que foi a implantação e padronização do banco de sangue.

À professora Adriana Novais, atuante na área de hemoterapia veterinária, por ter aceito o convite para compor a banca.

A todos os médicos veterinários e funcionários do HOVET-USP que me ajudaram na viabilização deste estudo. Em especial, Mau e Maria Helena do laboratório, sempre me salvando com a contagem de plaquetas...

Agradeço a todos meus amigos pela amizade fundamental para atingir as várias etapas que a vida me proporciona.

Enfim, agradeço a Deus por eu ter a honra de dizer que sou uma pessoa feliz e realizada tanto na minha vida pessoal como profissional.

RESUMO

GONÇALVES, S. **Reações transfusionais após a administração de concentrados de plaquetas em cães.** [Transfusion reactions after administration platelet concentrates in dogs]. 2006. 94 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

A transfusão de plaquetas pode ser terapêutica quando indicada para interrupção de sangramento ativo ou profilática com o objetivo de prevenir hemorragias. Os concentrados de plaquetas apresentam um volume menor quando comparado ao sangue fresco total e ao plasma rico em plaquetas elevando a contagem plaquetária rapidamente minimizando, assim, a transfusão de componentes desnecessários e o risco de reações transfusionais o que no entanto podem ocorrer. Em cães, a literatura é escassa em relação à ocorrência de reações transfusionais frente ao emprego de concentrados de plaquetas. Sendo assim, este estudo tem como objetivo documentar a ocorrência de efeitos adversos em relação à administração de concentrados de plaquetas em cães em caráter clínico. Realizou-se a transfusão de concentrados de plaquetas em vinte e oito cães trombocitopênicos com manifestações clínicas de diáteses hemorrágicas ou antes de procedimentos cirúrgicos. Estes hemocomponentes foram preparados por centrifugação diferencial seriada do sangue total padronizando-se o fracionamento sanguíneo para cães. Determinou-se um controle de qualidade destes concentrados monitorando-se o pH, níveis de glicose, temperatura de armazenamento, rendimento plaquetário, contaminação bacteriana e *swirling*. Adotou-se uma proporção de 1 concentrado de plaquetas para cada 10 Kg. Dentre os vinte e oito cães transfundidos, presenciou-se a ocorrência de reações adversas em dez pacientes (35,7%) caracterizadas por manifestações gastrintestinais (6/28), seguidas das alérgicas (5/28) e inflamatórias (2/28). A hipertermia, principal reação relatada em seres humanos, foi constatada apenas em um paciente. O incremento plaquetário observado em 1 e 24 horas foi considerado satisfatório na maioria dos cães transfundidos sendo, em média, de 38.000 e 31.000 plaquetas/ μ L, respectivamente.

Palavras-chaves: Reação Transfusional. Transfusão. Concentrado de plaquetas. Cães.
Homem

ABSTRACT

GONÇALVES, S. **Transfusion reactions after administration of platelet concentrates in dogs.** [Reações transfusionais após a administração de concentrados de plaquetas em cães]. 2006. 94 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Platelet transfusion may be either therapeutic or prophylactic when used to interrupt active bleeding or to avoid it, respectively. Platelet concentrates have a smaller volume when compared to fresh whole blood and to platelet-rich plasma. Their use quickly increases platelet counts and, therefore, minimizes unnecessary transfusion of blood components and subsequent transfusion reactions. Literature is scarce concerning transfusion reactions after the administration of platelet concentrates in dogs. Therefore, the objective of this study was to record clinical adverse effects after its administration in dogs. Platelet concentrates were administered in twenty-eight thrombocytopenic dogs with clinical signs of hemorrhage or before surgical procedures. These hemocomponents were prepared by serial differential centrifugation of the whole blood standardizing the whole blood fractionation method to dogs. Quality control of platelet concentrates was performed by monitoring pH, glucose, storage temperature, platelet count, bacterial contamination and *swirling*. The dose administered was one unit per 10 kg. Transfusion reactions occurred in ten dogs (35.7%), characterized by gastrointestinal manifestations (6/28), followed by allergic (5/28) and inflammatory reactions (2/28). Hyperthermia, the most frequently reported reaction in humans, was observed in only one dog. The platelet increment observed 1 and 24 hours post-transfusion was considered satisfactory in the majority of the transfused dogs, being, on the average, 38,000 and 31,000 platelets/ μL , respectively.

Keys – words: Reaction Transfusion. Platelet Concentrates. Dogs. Human.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Separação do plasma e do concentrado de hemácias com o auxílio do extrator de plasma.....	43
Figura 2 - Concentrado de hemácias	43
Figura 3 – Concentrado de plaquetas no agitador de plaquetas	43
Figura 4 - Valores da temperatura corpórea mensurada no cão 13 durante os 120 minutos de monitoração	59
Figura 5 - Angioedema em face (cão 10) após 40 minutos em relação à interrupção da transfusão	61
Figura 6 - Eritema abdominal (cão 10) após 40 minutos em relação à interrupção da transfusão	61
Figura 7 - Reação urticariforme acentuada, acompanhada de angioedema, observada no cão 15 ao término da transfusão	62
Figura 8 - Reação urticariforme acentuada, acompanhada de angioedema, observada no cão 15 ao término da transfusão (visão lateral)	62
Figura 9 - Valores percentuais do número de cães com e sem reação, segundo o tempo de armazenamento dos concentrados plaquetários transfundidos	63
Figura 10 - Valores de média e desvio-padrão da temperatura dos 28 cães ao longo dos momentos avaliados	64
Figura 11 - Valores de média e desvio-padrão da Frequência Cardíaca ao longo dos momentos avaliados	65

Figura 12 - Valores de média e desvio-padrão da PAS ao longo dos momentos avaliados	65
Figura 13 - Valores de média e desvio-padrão dos valores de contagem plaquetária nos momentos pré, 1 hora e 24 horas pós transfusional	66
Figura 14 - Média e desvio-padrão dos valores de incremento plaquetário observado e esperado no momento 24 horas	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos receptores dos concentrados plaquetários.....	55
Tabela 2 – Características das reações transfusionais e o tempo de armazenamento dos concentrados plaquetários administrados	58
Tabela 3 - Correlação entre a ocorrência de reações transfusionais e o tempo de armazenamento dos concentrados transfundidos.....	63
Tabela 4 - Valores médios e desvios-padrão ($\pm$) dos parâmetros temperatura corpórea ($T^{\circ}\text{C}$), frequência cardíaca (FC) e pressão arterial sistólica nos momentos avaliados	64
Tabela 5 – Comparação da contagem plaquetária entre os momentos pré transfusional, 1 e 24 horas após a transfusão	66
Tabela 6 – Comparação entre os incrementos plaquetários observado e esperado em 1 hora	67
Tabela 7 – Comparação entre os incrementos plaquetários observado e esperado em 24 horas	67
Tabela 8 – Incremento plaquetário observado, esperado e índice do incremento plaquetário dos cães transfundidos com concentrados de plaquetas.....	69

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação das reações transfusionais	33
---	----

Comece fazendo o necessário,
depois o que é possível
e de repente...
você estará fazendo o impossível.

São Francisco de Assis

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1 TROMBOCITOPENIA	21
2.2 INDICAÇÕES DA TRANSFUSÃO DE PLAQUETAS	24
2.3 HEMOCOMPONENTES	27
2.4 REAÇÕES TRANSFUSIONAIS	32
2.4.1 Classificação	32
2.4.2 Reações transfusionais não hemolíticas febris	33
2.5 INCREMENTO PLAQUETÁRIO	36
3 OBJETIVOS	39
3.1 GERAL	39
3.2 ESPECÍFICOS	39
4 MATERIAL E MÉTODO	40
4.1 DOADORES	40
4.2 COLETA DE SANGUE	41
4.3 PADRONIZAÇÃO DO FRACIONAMENTO PARA OBTENÇÃO DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS	41
4.4 CONTROLE DE QUALIDADE DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS	44
4.4.1 Volume e número de plaquetas por unidade	44
4.4.2 Avaliação do swirling	44
4.4.3 Número de leucócitos por unidade	45
4.4.4 Número de hemácias por unidade	46
4.4.5 Avaliação microbiológica	46
4.4.6 Mensuração de pH e glicose	46
4.5 CÃES RECEPTORES DOS CONCENTRADOS DE PLAQUETAS	47

4.6 AVALIAÇÃO DAS REAÇÕES TRANSFUSIONAIS NÃO HEMOLÍTICAS FEBRIS.....	48
4.7 INCREMENTO PLAQUETÁRIO	49
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
6 RESULTADOS	52
6.1 CONTROLE DE QUALIDADE DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS	52
6.1.1 Volume e número de plaquetas por concentrado	52
6.1.2 Número de leucócitos por unidade.....	53
6.1.3 Número de hemácias por unidade.....	53
6.1.4 Avaliação microbiológica	53
6.1.5 Mensuração de pH.....	53
6.1.6 Determinação de glicose	53
6.2 RECEPTORES DOS CONCENTRADOS DE PLAQUETAS	54
6.2.1 Reações transfusionais	57
6.2.2 Avaliação da temperatura corpórea	64
6.2.3 Avaliação da Frequência cardíaca	65
6.2.4 Avaliação da Pressão Arterial Sistólica	65
6.3 INCREMENTO PLAQUETÁRIO (IP).....	66
6.3.1 Índice de incremento plaquetário (Índice IP)	67
7 DISCUSSÃO	71
7.1 CONTROLE DE QUALIDADE DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS	71
7.2 REAÇÕES TRANSFUSIONAIS	72
7.3 INCREMENTO PLAQUETÁRIO	79
8 CONCLUSÃO.....	83
9 PERSPECTIVAS FUTURAS	88
REFERÊNCIAS	89

1 INTRODUÇÃO

A Medicina Transfusional é uma especialidade recente na Veterinária principalmente no que se refere ao processamento e fracionamento do sangue total. Seu início data da década de 50 quando ocorreu a implantação de bancos de sangue que se assemelhavam aos moldes humanos além de ser fundada a Associação para a Medicina Transfusional Veterinária (KRISTENSEN; FELDMAN, 1996). No Brasil, porém, os estudos na área de hemoterapia veterinária são escassos apesar das evidências cada vez mais frequentes de enfermidades clínicas e cirúrgicas que necessitam de transfusão sanguínea a qual ainda é praticada, muitas vezes, sem critérios apropriados e sem a importância devida quando comparada à Medicina humana uma vez que o procedimento e os riscos de efeitos adversos são muito semelhantes.

Nacionalmente, destacam-se os estudos em relação à tipagem sanguínea em cães (NOVAIS, 1996, 2003; SOUZA, 2005) fundamentais para otimização da prática transfusional além da padronização do fracionamento do sangue total canino com a implantação do primeiro hemocentro universitário que emprega o processamento sanguíneo possibilitando a utilização dos seus hemocomponentes: concentrado de hemácias, concentrado de plaquetas e plasma fresco congelado (ULATA, 2005).

Existe um consenso de que o benefício da utilização dos hemocomponentes prevalece em relação ao do sangue total uma vez que muitos pacientes necessitam apenas da reposição de uma fração do sangue com exceção dos anêmicos ou pancitopênicos hipovolêmicos. Desta forma, com os hemocomponentes há um melhor aproveitamento do sangue total cujas vantagens incluem maior eficácia e minimização das reações transfusionais (CALLAN, 2000).

A transfusão de plaquetas é definida como a administração de hemocomponentes ricos em plaquetas sendo indicada no tratamento de hemorragias causadas por trombocitopenia ou trombocitopatia. Ao contrário da Medicina, a transfusão plaquetária não é empregada de forma rotineira na clínica de pequenos animais com escassos estudos relatados experimentalmente em transplante de medula óssea (ABRAMS-OGG et al., 1993). Sendo assim, há uma restrita utilização de produtos sanguíneos ricos em plaquetas em pacientes trombocitopênicos de diferentes etiologias que apresentam sangramento ativo ou pré- operatório.

A transfusão de concentrados de plaquetas pode ser acompanhada de efeitos colaterais desfavoráveis em considerável porcentagem de casos relatados especialmente na Medicina (BORDIN et al., 1994; HEDDLE, 1999). Em medicina veterinária existe apenas um estudo realizado por Abrams-Ogg et al. (1993) relatando estas reações após transfusão de concentrados de plaquetas em cães que receberam transplante de medula óssea. Estas reações são conhecidas como reações transfusionais não hemolíticas febris (RTNHF). As RTNHF podem variar desde urticária ou hipertermia, que é a principal ocorrência, até choque anafilático grave, sendo que estes sintomas são relatados tanto no homem (HEDDLE, 1999; HOISSA et al., 2003) como em cães (ABRAMS-OGG et al., 1993). Há estimativa que as RTNHF ocorram em aproximadamente 1% das transfusões de células sanguíneas vermelhas e, em torno de 30% das transfusões de concentrados de plaquetas no homem (BORDIN et al., 1994).

Na Medicina, existem diversas hipóteses que tentam explicar a ocorrência das RTNHF durante a realização de transfusão de produtos plaquetários uma vez que o fator de incompatibilidade sanguínea não está envolvido na gênese do processo. A maioria dos estudos atribui o acúmulo de citocinas, provenientes de leucócitos ou mesmo das plaquetas, nos

concentrados plaquetários como responsáveis pela ocorrência das RTNHF mas o mecanismo pelo qual isso ocorre ainda é desconhecido (HEDDLE et al., 1999; HOISSA et al., 2003).

Há diversos trabalhos demonstrando que a redução de leucócitos dos concentrados plaquetários, através de diversas técnicas como centrifugação, filtração e por aférese, podem prevenir ou diminuir de forma significativa a incidência destas reações (LANE et al., 1992; PATTERSON et al., 2000).

Em contrapartida, vários autores afirmam que apenas a redução do número de leucócitos, ameniza, porém não é o suficiente para evitar completamente a ocorrência de reações transfusionais (PATTERSON et al., 2000). Estudos demonstram que o acúmulo de citocinas derivadas de leucócitos aumenta gradativamente conforme o período de estocagem. Sendo assim, efeitos adversos ocasionados por componentes sanguíneos transfundidos não dependem apenas do número de leucócitos residuais mas sim do momento em que ocorre a leucodepleção (FEDEROWICZ et al., 1996). Pesquisas demonstraram que as RTNHF ocorreram com menor frequência em pacientes que receberam concentrados de plaquetas leucodepletados antes da estocagem quando comparados ao grupo de pacientes nos quais foram transfundidos os concentrados plaquetários leucodepletados após a estocagem (FEDEROWICZ et al., 1996; MUYLLE et al., 1994).

Entretanto, outros autores sugerem que citocinas pró-inflamatórias derivadas de plaquetas, denominadas quemocinas, podem ser a chave para o entendimento das RTNHF demonstrando que as citocinas inflamatórias liberadas por leucócitos são menos relevantes no que tange ao processo desencadeante das RTNHF (BUBEL et al., 1996; KLUTER et al., 1999). Sendo assim, há controvérsias entre os pesquisadores a respeito de quais são exatamente os fatores desencadeantes das RTNHF, sendo necessárias mais investigações a respeito dos mediadores

derivados plaquetários para determinação de sua real contribuição para a ocorrência destas reações além da elucidação da função do acúmulo de citocinas associadas à estocagem como causa primária das reações plaquetárias agudas.

Em relação à Medicina Veterinária, não há estudos que abordem a causa das RTNHF. No entanto, acredita-se que seja possível a relação entre contaminação de leucócitos nos concentrados de plaquetas e a incidência de RTNHFs uma vez que verifica-se significativa correlação entre a quantidade de leucócitos nos concentrados plaquetários e reações febris, fato demonstrado por Abrams-Ogg et al. (1993).

Face à escassez de relatos de natureza clínica na literatura veterinária, este estudo teve como objetivo documentar a ocorrência de reações transfusionais após administração de concentrados de plaquetas em cães trombocitopênicos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

As enfermidades relacionadas à hemostasia primária são comuns em cães principalmente as trombocitopenias de diversas etiologias. Entretanto, o tratamento emergencial específico com hemocomponentes sanguíneos ricos em plaquetas carecem de estudos na Medicina Veterinária.

2.1 TROMBOCITOPENIA

A trombocitopenia é a enfermidade hemostática adquirida mais comum em cães correspondendo a aproximadamente 5% dos 987 casos atendidos segundo estudo em hospital veterinário universitário (GRINDEM et al., 1991).

Os valores de referência para contagem plaquetária em cães variam entre 200.000 a 500.000 / μ L (MEINKOTH; CLINKENBEARD, 2000).

O número reduzido de plaquetas circulantes pode ser resultante de uma ou mais das seguintes alterações: produção diminuída, consumo ou aumento da destruição ou sequestro de plaquetas.

A diminuição da produção de plaquetas em cães normalmente está associada a distúrbios da medula óssea (FELDMAN et al., 1988; LEWIS, 2000) e é caracterizada por pancitopenia, bicitopenia (trombocitopenia em associação com anemia não regenerativa ou neutropenia) ou presença de células sanguíneas com morfologia anormal no esfregaço sanguíneo. As causas são múltiplas e variadas, e entre elas pode-se citar as drogas, como por exemplo, a ciclofosfamida, azatioprina, doxorubicina, sulfonamidas, estrógeno e fenobarbital, mielofitose em consequência

de neoplasia metastática, doença linfóica ou mieloproliferativa, infecciosas como a parvovirose, cinomose, erliquiose e até mesmo os quadros de sepse.

O aumento da destruição ou consumo plaquetário representa a causa mais comum de trombocitopenia em cães (NELSON; COUTO, 1998). Pode ser dividido em duas categorias: imunológicas e não imunológicas (LEWIS, 2000). As principais causas imunológicas são: trombocitopenia imunomediada primária (TIP), lupus eritematoso sistêmico (LES), erliquiose, dirofilariose, neoplasia e sulfonamidas. Em relação às não imunológicas, as enfermidades mais envolvidas são: coagulação intravascular disseminada (CID), vasculite (*Ehrlichia canis*, *E. platys*, septicemia, LES), hemorragia devido a rodenticida anticoagulante, síndrome urêmica hemolítica, *Hepatozoon canis* e leishmaniose.

O seqüestro plaquetário, citado como terceira causa de trombocitopenia, ocorre devido à esplenomegalia geralmente secundária a outras enfermidades como neoplasias mielo ou linfoproliferativas, congestão (torsão esplênica primária ou associada com dilatação volvológica), hematoma, hiperplasia linfóide (lupus eritematoso sistêmico, anemia hemolítica imunomediada, infecções por riquetsias) e esplenites (LEWIS, 2000).

Alguns estudos sugerem que cães com trombocitopenia imunomediada primária normalmente apresentam marcante trombocitopenia, com contagem de plaquetas em geral menor que 30.000/ μ L (GRINDEM et al., 1991; NORTHERN; TVEDTEN, 1992). Por outro lado, a contagem de plaquetas de 50.000 a 75.000/ μ L são mais comuns em cães com erliquiose, hiperesplenismo ou intoxicação por rodenticida (NELSON; COUTO, 1998). Apesar de alguns autores sugerirem uma correlação entre a gravidade da trombocitopenia com a provável etiologia outros são categóricos em afirmar que o grau da trombocitopenia isoladamente não deve ser

considerado como indicador de diagnóstico (LEWIS, 2000) pois a trombocitopenia associada a CID ou infecções por riquetsias também podem ser marcantes (WADDLE; LITTMAN, 1988; WANER et al., 1997). Um estudo realizado por Bulla et al. (2004) demonstrou uma estreita correlação entre o grau de trombocitopenia (< 100.000 plaquetas / μL) com cães infectados por *Ehrlichia canis*.

Em decorrência do número crescente dos pacientes oncológicos na medicina veterinária, crescem as documentações dos distúrbios de coagulação associados às neoplasias em cães, sendo a trombocitopenia a alteração hemostática mais comum (GRINDEM et al., 1994; HELFAND, 1988; O'KEEFE; COUTO, 1988).

Em estudo realizado por Grindem et al. (1991) 987 cães trombocitopênicos foram classificados segundo sua etiologia, revelando as seguintes porcentagens: 5% (48/987) trombocitopenia imunomediada, 13% (130/987) trombocitopenia associada à neoplasia, 23% (224/987) trombocitopenia infecciosa ou inflamatória e 59% (585/987) em trombocitopenia mista.

Os sinais e sintomas clínicos presentes em cães trombocitopênicos podem ser inespecíficos como anorexia e letargia, estarem relacionados com a doença primária (febre, linfadenomegalia, tosse) ou conseqüentes da trombocitopenia em si. As manifestações mais freqüentes são: epistaxe, hematoquesia, melena, hematúria, hematoemese e hemorragias cutâneas (petéquias e equimoses). Os cães podem apresentar, ainda, cegueira e manifestações neurológicas em decorrência de hemorragia nestes órgãos (LEWIS, 2000). Normalmente, cães trombocitopênicos com sinais de hemorragia crítica apresentam manifestações gastrintestinais (ABRAMS-OGG, 2003).

2.2 INDICAÇÕES DA TRANSFUSÃO DE PLAQUETAS

A transfusão de concentrados de plaquetas tornou-se rotineira a partir de 1950 no homem. Antes disso, muitos pacientes vinham a óbito em consequência de hemorragias incontroláveis decorrentes de várias enfermidades. O benefício da transfusão de plaquetas foi rapidamente evidenciado em 1966 com a diminuição do número de mortes em decorrência de sangramentos que foi da ordem de 63% para 15% a qual foi atribuída principalmente pela adoção de programas de transfusão plaquetária profilática, reduzindo, posteriormente este índice para 3% na década de 80 (SCHIFFER, 1992).

A transfusão de plaquetas pode ser terapêutica quando a intenção é interromper o sangramento ativo ou profilática. Esta última modalidade é difundida principalmente na Medicina com o objetivo de prevenir o sangramento principalmente quando antecede procedimentos cirúrgicos (ABRAMS-OGG, 2003; REBULLA, 2000).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica o sangramento, em humanos, em quatro graus (PATTERN, 1992):

I – Sangramento menor: petéquias.

II – Sangramento leve: petéquias, equimoses ou epistaxe desde que não resultem em perda sanguínea suficiente que requirite transfusão de concentrados de hemácias e hemorragia retiniana sem comprometimento da visão.

III - Sangramento maior. Definido como:

- epistaxe ou sangramentos em tecidos moles (vaginal, junções mucocutâneas, subcutâneo) que necessitem de transfusão de concentrados de hemácias.

- Hemoptise, hematoemese, melena e hematúria.

- Hemorragia retiniana com diminuição da acuidade visual ou sinais de hemorragia no sistema nervoso central incluindo cefaléia.

IV - Sangramento debilitante.

A associação de trombocitopenia e sangramento ativo é a base da decisão para a transfusão de plaquetas tanto no homem (ROSSI et al., 1996) quanto em animais (ABRAMS-OGG, 2000; LEWIS, 2000) em relação ao tratamento terapêutico. As manifestações clínicas de sangramento normalmente ocorrem quando a contagem de plaquetas é, pelo menos, inferior a 50.000/ μ l sendo mais comum em contagens menores que 30.000/ μ l (LEE et al., 1988; LEWIS, 2000). Em contagens menores que 5.000/ μ l, 90 % dos pacientes demonstram alguma forma de sangramento, sendo que 60 % apresentam hemorragias tais como epistaxe, hemorragia em pele ou mucosa e 30 % apresentam hemorragia abundante (ROSSI et al., 1996).

É praticamente improvável que os sangramentos espontâneos ocorram devido à trombocitopenia quando a contagem é superior a 50.000/ μ l ou mais (LEWIS, 2000). Pacientes com diminuição da trombocitopoiese e contagem de plaquetas inferior a 5000/ μ l, apresentam maior probabilidade de sangramentos que comprometem a vida. Entre 5.000 e 10.000/ μ l há um risco maior de hemorragias espontâneas, ao passo que entre 10.000 a 50.000/ μ l há uma probabilidade maior de sangramento na presença de alguma injúria tecidual (cirurgia, trauma, ulceração no trato gastrointestinal, etc.).

Estas manifestações clínicas de hemorragia associadas exclusivamente à plaquetopenia podem variar na presença de outras alterações hemostáticas concomitantes que são considerados fatores de risco agravando o sangramento. Distúrbios hemostáticos primários como vasculite, defeitos na função plaquetária (uremia, erliquiose, medicamentos) e a doença de von Willebrand

são causas relevantes e devem sempre ser suspeitadas diante de marcante hemorragia com contagem plaquetária superior a 20.000/ μ L (SLICHTER, 1990).

O “gatilho” transfusional refere-se ao valor hematológico o qual associado aos sinais e sintomas clínicos indica a imediata administração de um componente sanguíneo baseado em consequências adversas para o paciente caso a transfusão não seja realizada. O gatilho para a transfusão terapêutica de plaquetas é o sangramento crítico (ABRAMS-OGG, 2003). Entretanto, este valor é controverso e amplamente discutido na Medicina no que se refere à transfusão de concentrados de plaquetas de forma profilática diferindo no paciente clínico e cirúrgico.

Há uma discussão na literatura em relação à contagem plaquetária em que se deve realizar a transfusão profilática no paciente clínico mesmo na ausência de sinais de sangramento ativo. Mollison et al. (1993) e, mais recentemente, Freireich (2000), este último em estudo retrospectivo no homem, consideraram 20.000 plaquetas/ μ L como gatilho transfusional, ou seja, a contagem plaquetária que representa um risco eminente de hemorragias havendo indicação da administração profilática de concentrados plaquetários. Entretanto, a tendência atual, baseada em demonstrações mais recentes, é diminuir ainda mais este valor. Heal e Blumberg (2004), constatarem resultados semelhantes entre transfusões profiláticas de plaquetas comparando-se pacientes transfundidos com 20.000 plaquetas/ μ L e 10.000 plaquetas/ μ L. Há muitos benefícios diante das evidências em relação à diminuição do gatilho transfusional, pois desta forma, evita-se a transfusão desnecessária do hemocomponente, minimizando a ocorrência de reações adversas, sensibilização prévia do receptor, transmissão de doenças infecciosas além de otimizar e priorizar o destino dos componentes sanguíneos que são escassos. Em cães, as publicações referentes a este assunto são escassas porém alguns autores indicam a transfusão profilática em pacientes com contagem plaquetária inferior a 20.000 plaquetas/ μ L com presença de outros fatores de risco para

hemorragias e 10.000 plaquetas/ μ L na ausência destes (ABRAMS-OGG, 2003; HACKNER, 1995).

Os estudos mais atuais propõem a manutenção do paciente cirúrgico em torno de 50.000-100.000 plaquetas / μ L no período perioperatório (REBULLA, 2000). Na veterinária, não há relatos a este respeito já que as transfusões são basicamente terapêuticas (ABRAMS-OGG, 2000). Entretanto, segundo experiência do autor Abrams-ogg (2003) a maioria dos procedimentos cirúrgicos em cães apresentam razoável controle da hemorragia na presença de contagens plaquetárias entre 20.000 a 30.000/ μ L incluindo nefrectomia, ovariectomia e esplenectomia apesar desse relato o autor afirmar que contagens plaquetárias acima de 50.000/ μ L no pré operatório são desejáveis.

Segundo as recomendações da OMS, a transfusão profilática de plaquetas é indicada para o Grau I de sangramento sendo a terapêutica estabelecida para os demais (REBULLA et al., 1997).

2.3 HEMOCOMPONENTES

Os produtos sanguíneos considerados ricos em plaquetas são: sangue total fresco, plasma rico em plaquetas e concentrado de plaquetas sendo esta a ordem utilizada atualmente na medicina veterinária (ABRAMS-OGG, 2003) em contraste com a humana que utiliza, quase que exclusivamente, os concentrados plaquetários.

O sangue total fresco é a designação atribuída ao sangue total transfundido até 8 horas após a coleta. A bolsa de sangue deve ser mantida em temperatura ambiente antes da transfusão devido aos efeitos deletérios da refrigeração na viabilidade plaquetária já bem documentados

(ALLYSON et al., 1997; FILIP; ASTER, 1978). Na Medicina, o sangue total fresco foi utilizado antes da implantação das técnicas de fracionamento e estocagem dos componentes plaquetários, porém em desuso devido às dificuldades de sua obtenção diante dos episódios de sangramento grave, situação ainda existente na medicina veterinária. Pode ser administrado para cães trombocitopênicos porém grandes volumes são necessários para ocasionar modestos aumentos na contagem plaquetária sendo contraindicado para pacientes sem anemia concomitante. Um aumento de 13.000 plaquetas / μ l pode ser obtido da transfusão de 12,5 ml/Kg de sangue fresco total de um doador com contagem plaquetária de 200.000/ μ l (GOPEGUI; FELDMAN, 1995). Este incremento poderá ser ainda menor se existirem fatores concomitantes como febre, sepsis, coagulação intravascular disseminada, sangramento, esplenomegalia ou trombocitopenia imunomediada as quais proporcionam o consumo de plaquetas. Além disso, o sangue total fresco é ineficaz para transfusões plaquetárias profiláticas a fim de obter um adequado incremento plaquetário propiciando efeitos adversos como hipervolemia e policitemia além de aumentar a probabilidade de reação transfusional hemolítica aguda (ABRAMS-OGG, 2003; LEWIS, 2000).

Os produtos sanguíneos de escolha para o tratamento de pacientes trombocitopênicos e não anêmicos são os concentrados de plaquetas seguidos do plasma rico em plaquetas em detrimento do sangue total fresco pelos vários motivos citados anteriormente (ABRAMS-OGG, 2003).

O plasma rico em plaquetas é obtido de uma centrifugação com uma força gravitacional mais leve do sangue total em que há a separação do concentrado de hemácias e do plasma com as plaquetas suspensas o qual é transferido para uma bolsa satélite com o auxílio do extrator de plasma (ABRAMS-OGG, 2000; MOONEY, 1992). Uma unidade de sangue total (450 mL) origina uma de plasma rico em plaquetas com volume correspondente de 200 mL. É mais

indicado para correção da trombocitopenia que o sangue total fresco embora há um risco de expansão de volume excessiva e reações transfusionais em consequência do plasma desnecessário (ABRAMS-OGG, 2003).

Os concentrados de plaquetas podem ser preparados por centrifugação ou por aférese.

Os concentrados de plaquetas, denominados de randomizados, são preparados a partir da centrifugação do plasma rico em plaquetas com uma força gravitacional mais pesada resultando em um precipitado que engloba todas as plaquetas. Separa-se, então, o concentrado de plaquetas do plasma que é transferido para uma bolsa satélite. Os concentrados plaquetários permanecem em repouso durante 60 a 90 minutos para promover a desagregação sendo posteriormente armazenados durante 5 dias, a temperatura de 20 – 25°C, sob agitação leve constante (ABRAMS-OGG, 2000). As unidades individuais de concentrados plaquetários devem conter pelo menos $5,5 \times 10^{10}$ plaquetas em quantidades de plasma suficientes para manter o pH maior que 6,0 durante o período de estocagem sendo este volume usualmente de 50 a 70 mL. (ABRAMS-OGG et al., 1993).

A plaquetofereze também pode ser utilizada para obtenção de concentrados de plaquetas, sendo técnica rotineira nos principais hemocentros humanos. Trata-se de um processo automatizado de centrifugação, que promove a separação dos componentes, de forma que as plaquetas sejam coletadas em uma bolsa e que o restante do sangue retorne ao doador. O produto final tem aproximadamente 200 mL e deve ser estocado a 22°C, durante 5 dias, sob agitação contínua. Cada bolsa em média contém $3 - 5 \times 10^{11}$ plaquetas o que corresponde à 6 a 7 unidades de plaquetas randomizadas (BRECHER, 2002). Há descrição desta técnica com cães da raça Beagle com peso variando entre 10-24 kg, em que os concentrados de plaquetas obtidos por

aférese apresentavam volume entre 148-322 mL e contagem plaquetária de $1,26-2,95 \times 10^{11}$ plaquetas/concentrado (ADAMIK¹ et al., 1997 apud ABRAMS-OGG, 2000 p.845).

Os concentrados de plaquetas são utilizados como tratamento suporte em casos de trombocitopenia crônica em detrimento ao plasma rico em plaquetas porque poderá ocorrer hiperproteinemia caso múltiplas transfusões deste último componente sejam realizadas (ABRAMS-OGG et al., 1993).

No homem, utiliza-se uma proporção de 6 unidades de concentrados de plaquetas randomizados ou 1 unidade de aférese em média para um adulto. Em pacientes pediátricos, sugere-se a dosagem de 1 unidade de plaquetas ($5-6 \times 10^{10}$ plaquetas) para cada 10 kg de peso (ROSSI et al., 1996). Em Medicina Veterinária, indica-se esta última proporção segundo Abrams-Ogg (2000).

O uso de concentrado de plaquetas permite a transfusão de grandes quantidades de plaquetas sem a transfusão simultânea de eritrócitos ou plasma. Assim, são minimizados efeitos colaterais associados com transfusão de outros componentes sanguíneos desnecessários e, portanto diminuindo os riscos de reações transfusionais hemolíticas (ABRAMS-OGG et al., 2003).

Existem poucos estudos na Medicina Veterinária investigando a estocagem de produtos plaquetários. Os concentrados de plaquetas caninos estocados à temperatura ambiente (20 a 24° C) durante 5 dias, mantidos sob agitação constante, preservaram as mesmas características encontradas nos concentrados plaquetários humanos estocados sob as mesmas condições

¹ADAMIK, von A; KLEIN, A.; MISCHKE.R. Technische Aspekte bei der Gewinnung von Thrombozytenkonzentraten vom Hund mit einem automatische Zeliseparator. *Dtsch tierarztl Wschr*, v. 104, p. 523-526, 1997.

mantendo uma boa viabilidade das plaquetas, esterilidade microbiológica e um pH acima de 6,0 sendo, portanto recomendados para tratamento (ALLYSON et al., 1997).

Todos os concentrados plaquetários transfundidos devem seguir padrões de controle de qualidade estabelecidos por estudos prévios (ABRAMS-OGG et al., 1993; ALLYSON et al., 1997) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que normatiza os bancos de sangue no homem no Brasil. As especificações são as seguintes para concentrados de plaquetas randomizados: volume entre 50 a 70 mL, contagem de plaquetas/ unidade $\geq 5 \times 10^{10}$, contagem de leucócitos/unidade $\leq 1,0 \times 10^8$, pH $> 6,0$, hematócrito $< 1\%$ e escore de *swirling* ≥ 1 . O *swirling* é um método visual simples e sem custo, comumente utilizado para avaliação das lesões de armazenamento (ABREU; MOEREIRA, 2003; GOLLECHON et al., 1998). O teste é utilizado como controle de qualidade dos bancos de sangue humanos. Segundo Rebullá (1998), este teste possui correlação positiva com a capacidade das plaquetas em manter sua forma discóide e, portanto, com sua viabilidade transfusional.

Para a administração de concentrados de plaquetas são utilizados equipos com filtros de 170 μm , sendo confeccionados sem latex, pois este material aglutina plaquetas. Os concentrados de plaquetas são transfundidos em torno de 1 hora e o plasma rico em plaquetas numa taxa de 10 mL/Kg/h a menos que uma administração mais lenta seja indicada (ABRAMS-OGG, 2000).

No homem, os estudos são divergentes quanto à importância da compatibilidade do sistema ABO na transfusão plaquetária. Bishop et al. (1988) e Murphy (1988) afirmam que a incompatibilidade do sistema ABO pode desempenhar alguma função na redução da eficácia da transfusão de plaquetas. Entretanto, outros estudos recentes demonstram que a hemólise no receptor é rara após a transfusão de concentrados de plaquetas (MAIR; BENSON, 1998)

indicando que a incompatibilidade do sistema ABO não é um fator que interfere para o sucesso da terapia (LIN et al., 2002; PISCIOTTO et al., 1998). Em Medicina Veterinária, não há relatos a esse respeito, porém, Abrams-Ogg et al. (1993) em estudo investigando preparação e transfusão de concentrados plaquetários de cães, realizou a tipagem sanguínea dos doadores para DEA (antigen erythrocyte dog) 1.1 e 1.2 que são os que apresentam uma probabilidade maior de causar uma reação hemolítica aguda, realizando, também, o teste de compatibilidade sanguínea com os receptores antes das transfusões.

2.4 REAÇÕES TRANSFUSIONAIS

A transfusão é um evento irreversível que acarreta benefícios e riscos em potencial para o receptor. Denomina-se reação qualquer efeito colateral em decorrência da transfusão, durante ou após a sua administração.

2.4.1 Classificação

As reações transfusionais podem ser classificadas em imunológicas e não imunológicas, agudas ou crônicas (HALDANE et al., 2004; HARREL; KRISTENSEN, 1995) conforme demonstradas na quadro 1.

Uma reação transfusional aguda ocorre dentro de minutos do início da transfusão até 48 horas em relação ao seu término. Após este período, elas são classificadas como tardias ou crônicas (HARREL et al., 1997a).

	IMUNE	NÃO IMUNE
AGUDA	Reação hemolítica aguda	Contaminação bacteriana
	Reação transfusional não hemolítica febril (RTNHF)	Sobrecarga de volume
	Reação alérgica: leve, moderada, grave	Hemólise não imune
	*TRALI	Embolia aérea
		Hipotermia
		Hipocalcemia
CRÔNICA	Aloimunização eritrocitária	Hemossiderose
	Aloimunização HLA	Doenças infecciosas
	Reação enxerto x hospedeiro	
	Púrpura pós transfusional	
	Imunomodulação	

Fonte: American Association of Blood Banks. Technical manual. 14. ed. Maryland: Bethesda, 2002. cap. 27, p. 585-609 (modificado).

*TRALI: injúria pulmonar aguda relacionada à transfusão

Quadro 1 – Classificação das reações transfusionais

2.4.2 Reações transfusionais não hemolíticas febris

Há aproximadamente duas décadas, iniciaram-se na Medicina estudos com o objetivo de avaliar as reações transfusionais não hemolíticas (CHAMPION; CARMEN, 1984; SCHIFFER et al., 1986) proporcionadas pela transfusão de componentes sanguíneos principalmente referentes à administração de concentrados plaquetários, porém com registros de ocorrência em 1 a 2 % das

transfusões de concentrados de hemácias (BORDIN et al., 1994). Estas reações são denominadas reações transfusionais não hemolíticas febris (RTNHF), tradicionalmente definidas como a elevação de 1 °C ou mais da temperatura corpórea associadas com a transfusão e não atribuída à enfermidade ou terapia concomitante (HEDDLE et al., 1993).

No homem, as reações adversas em transfusões com concentrados de plaquetas ocorrem em 20 a 30 % dos casos (CHAMBERS et al., 1990; HEDDLE et al., 1993) sendo a reação febril a mais comum complicação, sem sinais de hemólise. Há relatos, também, de calafrios, reações alérgicas caracterizadas por urticária, prurido, eritema e rubor, hipotensão, e, mais raramente, complicações de hemólise, injúria pulmonar aguda relacionada à transfusão (TRALI), sepse devido à contaminação bacteriana, anafilaxia, sobrecarga circulatória e complicações metabólicas. (HEDDLE, 1999). A terminologia RTNHF é adotada de forma geral mesmo nos casos de reações em que a pirexia não é evidenciada.

Reações transfusionais são encontradas em 17% dos cães que receberam concentrados plaquetários incluindo pirexia, urticária, anafilaxia e vômito segundo único estudo experimental realizado por Abrams-Ogg, et al. (1993). A febre foi a manifestação mais freqüente segundo este mesmo estudo. Praticamente inexistem relatos de transfusões de plaquetas em pacientes clínicos na área veterinária. Abrams-Ogg (2003), em uma revisão da literatura referente às transfusões de plaquetas, cita suas experiências práticas revelando que das 581 transfusões realizadas em 2001, 40 (7%) corresponderam a transfusões de concentrados plaquetários enfatizando que as observações não foram publicadas e, portanto, não há detalhes quanto à ocorrência ou não de efeitos colaterais.

Em virtude do conteúdo de plasma nos concentrados de plaquetas, as transfusões de unidades ABO incompatíveis podem ocasionar hemólise, porém muito raramente (PIERCE et al.,

1985). A infusão rápida pode causar sobrecarga circulatória, bem como outras complicações relacionadas ao aumento do volume intravascular. Há riscos de transmissão de doenças semelhantes ao que ocorre com sangue total ou concentrado de hemácias. A contaminação bacteriana das plaquetas deve gerar preocupação especial, pois este componente é estocado em temperatura ambiente.

Uma série de pesquisas na Medicina sugere que a maioria das RTNHF ligadas às transfusões de plaquetas são causadas por citocinas as quais possuem propriedades pirógenas e vasoativas, que são liberadas de células que se acumulam nos produtos sanguíneos durante a estocagem (BORDIN et al., 1994; BUBEL et al., 1996; HEEDLE, 1999; MUYLLE et al., 1994). Estes estudos têm demonstrado altas concentrações de leucócitos e citocinas derivadas de plaquetas em produtos plaquetários estocados. O mecanismo de acúmulo de citocinas não é totalmente esclarecido, contudo, algumas pesquisas sugerem que a apoptose dos leucócitos e/ou ativação do monócito durante o processamento pode desempenhar alguma função (HEDDLE et al., 1999). Porém, há autores que sugerem que as próprias plaquetas contêm um número considerável de substâncias imunologicamente ativas, semelhantes às várias outras citocinas, e que são chamadas de quemocinas (BUBEL et al., 1996; KLÜTER et al., 1999).

Alguns, mas não todos os estudos, acreditam que apenas a redução do número de leucócitos seja suficiente como medida adequada para diminuição das reações transfusionais (SCHIFFER et al., 1987); contudo, pesquisas mais recentes verificaram que a leucodepleção exclusiva pode amenizar a ocorrência destas reações mas não pode evitar que elas ocorram (MANGANO et al., 1991; PATTERSON et al., 2000).

É bem conhecido que alfa citocinas como as interleucinas (IL) 1 β , IL-6, IL-8 e o fator de necrose tumoral (TNF-alfa) são liberados pelas células brancas contaminantes durante o intervalo

entre sua colheita e transfusão e que a filtração imediatamente após sua coleta pode prevenir o acúmulo destas citocinas (FEDEROWICZ et al., 1996; MUYLLE et al., 1994). Estes mediadores podem se acumular em altas quantidades nos concentrados de plaquetas estocados porém seus níveis são muito dependentes da contaminação leucocitária (KLUTER et al., 1999). Há relatos que o aumento dos níveis de citocinas em concentrados de plaquetas estocados poderia ser evitado por uma contagem de leucócitos abaixo de $3 \times 10^9/L$ (MUYLLE et al., 1994). Porém, há controvérsias, como no estudo realizado por Kluter et al. (1999), no qual não houve redução da incidência de RTNHF em pacientes em que foram transfundidos concentrados de plaquetas leucodepletados pré – estocagem, sendo que as citocinas inflamatórias citadas acima foram de menor relevância, enfatizando o predomínio de quemocinas pró-inflamatórias derivadas das plaquetas contradizendo, assim, a maioria dos experimentos até então.

Os mecanismos fisiopatológicos que explicam as RTNHF ainda não foram totalmente esclarecidos (HOISSA et al., 2003) uma vez que a leucodepleção pré estocagem minimiza a ocorrência de RTNHF mas não suprime totalmente as reações alérgicas conforme estudos recentes realizados por Patterson et al. (2000) e Pruss et al. (2004).

2.5 INCREMENTO PLAQUETÁRIO

Na medicina, a refratariedade plaquetária é um dos maiores problemas frente à utilização de produtos plaquetários (SNYDER et al., 1991). Um estado de refratariedade plaquetária significa a não resposta hemostática ou o baixo incremento plaquetário após a transfusão, e pode estar associada à formação de anticorpos anti-HLA e contra outros antígenos plaquetários, esplenomegalia, coagulação intravascular disseminada, sepsis, transplante de medula óssea e

transusão maciça. Segundo estudo realizado por Bishop et al. (1988), os seguintes fatores não influenciam o incremento plaquetário: transfusões prévias de granulócitos e eritrócitos, infecção, idade, grupo sanguíneo, sexo, contagem plaquetária pré transfusional, gestação prévia e drogas antineoplásicas concomitantes. O aparecimento da destruição plaquetária mediada por anticorpos deve ser suspeitado quando ocorrer resposta clínica pobre às transfusões plaquetárias ou ainda quando ocorrer baixo incremento plaquetário pós transfusional (DALY; SCHIFFER, 1980; HEDDLE et al., 2002; PISCIOTTO et al., 1998).

Um IC maior que $7,5 \times 10^9/L$ de uma amostra colhida 10 minutos a 1 hora após transfusão, ou IC maior que $4,5 \times 10^9$ de uma amostra colhida 18 a 24 horas após a transfusão, são consideráveis aceitáveis, ou seja, não indicam refratariedade (CONNELL et al., 1988). De forma ideal, contagens plaquetárias devem ser obtidas entre 1 e 18 horas após as transfusões, entretanto, a mais precoce fornece mais informações relativas à presença de anticorpos antiplaquetas e do estado refratário. O valor do incremento corrigido de uma hora pode estar diminuído, primariamente, por anticorpos antiplaquetas e por esplenomegalia, enquanto que o IC de 18 a 24 horas pode estar diminuído por febre, infecção, sepsis, coagulação intravascular disseminada, tempo de estocagem e outros fatores (BISHOP et al., 1988; DALY; SCHIFFER, 1980). Pacientes que repetidamente têm respostas clínicas ou IC de 1 hora pobre, apresentam estado refratário às transfusões plaquetárias. Pacientes que são refratários em decorrência do aparecimento de aloanticorpos antiplaquetas são denominados aloimunizados. O'Connell et al. (1988) compararam a contagem plaquetária 10 minutos e 60 minutos pós transfusão concluindo que, ambos os períodos, são equivalentes para a determinação do incremento plaquetário.

Em Medicina Veterinária, segundo Abrams-Ogg, et al. (1993), o sucesso da transfusão plaquetária é determinado pelo controle da hemorragia e comparando-se o incremento plaquetário

esperado e o mensurado após uma hora e 24 horas após a transfusão. Se a transfusão for benéfica, a hemorragia ativa será reduzida. O incremento plaquetário de 1 hora refere-se à diferença entre a contagem plaquetária do receptor antes e após 1 hora de transfusão. A contagem plaquetária esperada após 1 hora de transfusão no cão é calculada da seguinte forma (ABRAMS-OGG, 2003):

Incremento plaquetário esperado de 1 hora = (nº total de plaquetas transfundidas) x 0,51/volume sanguíneo, onde:

- 0,51 corresponde à porcentagem de plaquetas recuperadas após transfusão plaquetária autóloga em cães (SLICHTER et al., 1986).
- Volume sanguíneo é uma estimativa média no cão sendo considerada igual a 85 mL/kg.

O incremento plaquetário de 24 horas pode ser calculado da seguinte forma (ABRAMS-OGG et al., 1993):

Incremento plaquetário esperado em 24 horas = (contagem plaquetária antes da transfusão + incremento esperado de 1 hora) x 0,67.

onde, 0,67 corresponde às plaquetas seqüestradas pelo baço.

Se a contagem de plaquetas mensurada é muito abaixo da contagem esperada, significa que há uma acelerada perda plaquetária (destruição ou consumo) ou sequestro. Se as unidades plaquetárias apresentarem uma média de 6×10^{10} plaquetas, o incremento plaquetário deverá ser de 30.000 a 35.000/ μ L caso não haja perda plaquetária ativa. Se há uma mínima produção plaquetária mas sem acelerada perda ou sequestro, a contagem plaquetária do receptor deverá declinar em torno de 33% a cada dia após a transfusão (ABRAMS-OGG, 2000).

3 OBJETIVOS

Este estudo apresenta como objetivos:

3.1 GERAL

Observar ocorrências de reações transfusionais após a administração de concentrados de plaquetas em cães trombocitopênicos.

3.2 ESPECÍFICOS

1. Padronizar as técnicas de fracionamento do sangue total de cães para obtenção dos concentrados de plaquetas.
2. Quantificar e qualificar a ocorrência das reações transfusionais.
3. Documentar o incremento plaquetário proporcionado pela administração dos concentrados de plaquetas.

4 MATERIAL E MÉTODO

O presente projeto está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal tendo sido aprovada pela Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo em reunião de 10 de julho de 2002 (Protocolo nº 178/2002).

4.1 DOADORES

Foram utilizados cães, com peso mínimo de 27 Kg provenientes do canil CTMS da Marinha e canis privados, situados em São Paulo, machos ou fêmeas, idade entre um e oito anos, de diversas raças, que foram previamente avaliados quanto à sua condição de higiene através da realização de hemograma e exames bioquímicos (uréia, creatinina, ALT, FA, proteínas totais e albumina) sendo incluídos apenas aqueles sem quaisquer alterações. Os animais possuíam vacinação e vermifugação regularizadas, bem como, controle de ectoparasitas. Os animais foram avaliados em relação à presença de Brucelose², Dirofilariose³, Erliquiose⁴, Lyme⁵ e Leishmaniose⁶. A contagem plaquetária pré doação deveria ser, no mínimo, de 200.000 μ /L. Realizou-se tipagem sanguínea para os tipos sanguíneos DEA 1.1, DEA 1.2 e DEA 7 por hemaglutinação em tubo com anticorpos monoclonais. Estes grupos sanguíneos foram escolhidos por serem considerados os mais antigênicos.

² Soroaglutinação rápida com mercaptanol e PCR realizado pelo Dpto de Preventiva e Saúde Animal da FMVZ-USP.

³ Diagnóstico Snap® Combo Dirofilariose, *Ehrlichia.canis* e Lyme (IDEXX)

⁴ Diagnóstico Snap® Combo Dirofilariose, *Ehrlichia.canis* e Lyme (IDEXX)

⁵ Diagnóstico Snap® Combo Dirofilariose, *Ehrlichia.canis* e Lyme (IDEXX)

Animais que não atendiam as especificações acima mencionadas ou portadores de doenças infecciosas foram excluídos do estudo.

4.2 COLETA DE SANGUE

A coleta do sangue foi realizada pela venopunção da veia jugular, após tricotomia e antissepsia local, utilizando-se o método gravitacional, com homogenização mecânica⁷ suave do sangue durante o procedimento. O tempo de colheita variou entre 5 e 10 minutos.

Foram utilizadas bolsas sanguíneas de plástico com anticoagulante CPDA-1 com capacidade para 450 mL de sangue total, com duas bolsas satélites⁸. Foram coletados, em média, 450 mL de sangue de cada doador, a cada dois meses.

4.3 PADRONIZAÇÃO DO FRACIONAMENTO PARA OBTENÇÃO DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS

As bolsas de sangue total deveriam apresentar volume médio entre 425 a 521 mL para a obtenção de todos os hemocomponentes segundo as normas da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

Os concentrados plaquetários foram obtidos por centrifugação seriada⁹ do sangue total fresco obtido até seis horas em relação à coleta. O sangue total foi centrifugado em temperatura estabelecida entre 20 a 24 ° C por quatro minutos a 2500 rpm (tempo de desaceleração = cinco

⁶ Sorologia ELISA. Faculdade de Medicina Veterinária - UNESP - Araçatuba

⁷ Homogenizador de sangue

⁸ Bolsa tripla Baxter

⁹ Centrífuga refrigerada, modelo RC-3BP SORVALL, USA, Kendro Laboratory Products-L.P

minutos) para obtenção do plasma rico em plaquetas caracterizando a centrifugação leve. O plasma rico em plaquetas foi então separado do concentrado de hemácias utilizando-se o extrator de plasma¹⁰ (Figura 1). Desta forma, obteve-se o concentrado de hemácias o qual foi armazenado entre 4 e 6 ° C durante 21 dias (Figura 2). Em seguida, realizou-se uma segunda centrifugação a partir do plasma rico em plaquetas durante 12 minutos a 3000 rpm (tempo de desaceleração = cinco minutos) para obtenção do concentrado plaquetário o qual foi por sua vez separado do plasma com o auxílio do extrator de plasma. O concentrado de plaquetas foi mantido em repouso durante 60 minutos para promover a desagregação plaquetária e, em seguida armazenado em temperatura de 20 a 24 ° C, com agitação suave e constante realizada por um agitador de plaquetas¹¹ (Figura 3). Os concentrados plaquetários foram mantidos por 5 dias sendo, posteriormente, descartados.

¹⁰ Extrator de plasma Fanem®

¹¹ Agitador de plaquetas Plaquetamix®

Figura 1 – Separação do plasma e do concentrado de hemácias com o auxílio do extrator de plasma

Figura 2 – Concentrado de hemácias

Figura 3 – Concentrados de plaquetas no agitador de plaquetas

4.4 CONTROLE DE QUALIDADE DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS

Os concentrados de plaquetas seguiram as especificações de controle de qualidade recomendadas pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Humana) para os bancos de sangue humanos.

4.4.1 Volume e número de plaquetas por unidade

A contagem de plaquetas foi feita em câmara de *Neubauer*, sendo a diluição de 1: 200, ou seja, 10 µL de concentrado de plaquetas para 1990 µL de oxalato de amônio a 1%.

A mensuração do volume foi determinado pela pesagem dos concentrados plaquetários, adotando-se a conversão de que 1,03 corresponderia a 1 mL do concentrado de plaquetas (ALLYSON et al., 1997).

4.4.2 Avaliação do swirling

Realizou-se a agitação manual da bolsa, com o auxílio do dedo indicador, à altura dos olhos e contra a luz, avaliando-se, assim, o aspecto visual do concentrado plaquetário quanto à homogeneidade ou heterogeneidade e “turbilhonamento” das partículas, que correspondem às plaquetas ativas, suspensas no plasma de acordo com metodologia proposta pelo manual da American Association Blood Bank (AABB).

Para classificar o teste de *swirling*, o seguinte score foi empregado:

(3) = Aspecto muito bem heterogêneo por toda a bolsa com contraste e definição observados em finos detalhes.

(2) = Aspecto bem heterogêneo com bom contraste e definição através da bolsa.

(1) = Aspecto pouco heterogêneo e contraste e definição pobres, observados em apenas alguns pontos da bolsa.

(0) = Aspecto homogêneo e sem contraste ou definição, descartando-se a bolsa para transfusão.

4.4.3 Número de leucócitos por unidade

A contagem de leucócitos foi realizada em câmara de *Neubauer*, sendo a diluição de 1:10, ou seja, 100 μL de concentrado de plaquetas (onde se encontra o sobrenadante contendo os granulócitos) para 900 μl de solução de *Turk*; ou em câmara de *Nageotte*, sendo a diluição de 1:50, 10 μl de concentrado de plaquetas em 490 μl de solução de *Turk*. Esta segunda contagem foi realizada apenas quando a contagem em câmara de *Neubauer* era inferior a 10 leucócitos por quadrante.

4.4.4 Número de hemácias por unidade

O número de hemácias por unidade foi determinado pelo contador automático de células¹².

4.4.5 Avaliação microbiológica

Uma amostra de cada concentrado de plaquetas foi submetida à cultura aeróbica e anaeróbica bacteriana¹³ semeada nos seguintes meios de cultura:

- *Brain and heart infusion broth* – caldo BHI (Difco®).
- *Sabouraud dextrose broth* – caldo *Sabouraud* dextrose (Difco®).
- *Blood agar base* – Ágar sangue (Difco®).
- *Mac Conkey agar* – Agar Mac Conkey (Difco®).
- *Sabouraud dextrose agar*- Ágar *Sabouraud* dextrose (Difco®).

Utilizou-se também um gerador de anaerobiose (Difco®) e uma incubadora (37°C).

4.4.6 Mensuração de pH e glicose

A mensuração do pH foi realizada por meio de pH - metro (Fisher Scientific®) e a glicose por meio de analisador bioquímico automático (RS – 100, Technicon®).

¹² ABX

4.5 CÃES RECEPTORES DOS CONCENTRADOS DE PLAQUETAS

Realizou-se a transfusão em 28 cães trombocitopênicos de etiologias variadas em que foram administrados concentrados de plaquetas de forma terapêutica (presença de sintomas clínicos como discrasias sanguíneas) ou profilaticamente (antes de procedimentos cirúrgicos em animais que apresentavam valores inferiores a 100.000 plaquetas/ μ L), atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Transfundiu-se a proporção de 1 concentrado de plaqueta para cada 10 Kg de peso. O tempo médio de transfusão foi de aproximadamente 60 minutos. Para a administração dos concentrados de plaquetas foi utilizado um equipo de transfusão com um filtro de 170 μ m, livre de látex¹⁴, para não promover a agregação plaquetária. Os cães receptores foram tipados para DEA 1.1, 1.2 e 7 sendo transfundidos apenas concentrados de plaquetas de doadores de sangue compatíveis ou que o teste de compatibilidade fosse positivo.

Os critérios de exclusão dos receptores foram os seguintes:

1. Terapia prévia com corticóides ou antiinflamatórios pela possibilidade de minimizar a ocorrência de reações adversas.
2. Animais em anestesia devido à dificuldade de se avaliar os detalhes das reações transfusionais no paciente anestesiado principalmente em relação à temperatura corpórea.

¹³ Laboratório de Doenças Infecciosas (Bacteriologia e Micologia) do Dpto de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal – FMVZ-USP

¹⁴ Sangoflex - Baxter

3. Nefropatia: oligúricos ou anúricos, apresentando níveis de creatinina maior ou igual a 4 pois poderiam ter o quadro agravado em caso de reação transfusional.
4. Insuficiência cardíaca congestiva direita ou esquerda devido à possibilidade de ocasionar hipervolemia nestes pacientes.
5. Portadores de neoplasias em estágio terminal devido à síndrome paraneoplásica ou metástases pois não proporcionaria melhor qualidade de vida.
6. Choque estabelecido pelos seguintes parâmetros: pressão arterial sistólica menor que 110 mmHg, temperatura menor que 36,5°C, mucosas hipocoradas ou pálidas pela dificuldade em qualificar as reações adequadamente.

4.6 AVALIAÇÃO DAS REAÇÕES TRANSFUSIONAIS NÃO HEMOLÍTICAS FEBRIS

As reações adversas foram documentadas acompanhando-se o animal durante 120 minutos a partir do início da transfusão de plaquetas. Os valores de temperatura corpórea, frequência cardíaca e pressão arterial foram avaliados no tempo 0 (imediatamente antes da transfusão), 30, 60 e 120 minutos após a transfusão.

As reações foram classificadas segundo os seguintes critérios:

- 1- Hipertermia – caracterizada pelo aumento da temperatura corpórea em 1° C em relação ao valor pré-transfusional mensurada por via retal com termômetro digital.
- 2- Inflamatórias: caracterizadas pela presença de tremores os quais foram classificados pela intensidade em leves, moderados ou intensos.
- 3- Alérgicas – caracterizadas pela presença de urticária, eritema, erupções na pele, angioedema, dispnéia grave ou presença de broncoespasmo.

- 4- Circulatória – caracterizada pela presença de taquicardia considerando-se para tal o aumento da frequência cardíaca em torno de 20% do valor basal e presença de hipotensão que foi diagnosticada quando foram detectados valores de pressão arterial sistólica menor ou igual 110 mmHg.
- 5- Outras reações: manifestações clínicas gastrintestinais tais como emese, náusea e diarreia.

Os cães que apresentaram reações transfusionais foram medicados conforme a necessidade com antihistamínicos (difenidramina: 2 mg/kg/SC) ou corticosteróides (dexametasona: 0,5 – 1,0 mg/kg/SC) a fim de interromper a progressão do quadro reacional .

4.7 INCREMENTO PLAQUETÁRIO

O sucesso da terapia foi analisado pelo controle do sangramento ativo e avaliação do incremento plaquetário 1 hora e 24 horas os quais se referem à diferença entre as contagens plaquetárias antes, 1 hora e 24 horas após a transfusão.

O incremento plaquetário esperado de 1 hora (IP 1h) é calculado da seguinte forma (ABRAMS-OGG, 2003):

$$IP\ 1h = \frac{(n^{\circ}\ \text{total de plaquetas transfundidas}) \times 0,51}{85\ \text{mL/kg}}$$

Onde, 0,51 corresponde à porcentagem de plaquetas recuperadas após transfusão plaquetária autóloga em cães (SLICHTER et al., 1986)

85 mL/kg é uma estimativa média do volume sanguíneo no cão

O incremento plaquetário esperado de 24 horas (IP 24 h) é calculado segundo Abrams-Ogg, 1993:

$$\text{IP 24 h} = (\text{contagem plaquetária antes da transfusão} + \text{IP 1 h}) \times 0,67$$

onde, 0,67 corresponde às plaquetas seqüestradas pelo baço.

Adicionalmente, o índice de incremento plaquetário 1 e 24 horas pós transfusional pode ser também calculado por fórmula descrita por Daly et al. (1980); Heddle et al. (2002) e Pisciotto et al. (1998):

$$\text{IC} = \frac{(\text{Ct plaq pós}) - (\text{Ct plaq pré}) \times \text{SC}}{\text{N}^\circ \text{ plaquetas transfundidas (x } 10^{11})}$$

Onde: IC = incremento plaquetário

Ct plaq pós = contagem plaquetária pós transfusional (x $10^9/\text{L}$)

Ct plaq pré = contagem plaquetária pré transfusional (x $10^9/\text{L}$)

SC = superfície corpórea em m^2

Um índice IC de 1 hora maior que 7,5 a $10 \times 10^9/\text{L}$ e IC de 24 horas maior que $4,5 \times 10^9/\text{L}$ são consideráveis aceitáveis, ou seja, não indicam refratariedade.

Para o cálculo do incremento plaquetário, adotou-se como contagem plaquetária média dos concentrados um valor em torno de $6,6 \times 10^{10}$.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis quantitativas esta análise foi feita através da observação dos valores mínimos e máximos, e do cálculo de médias e desvios-padrão e medianas. Para as variáveis qualitativas calculou-se frequências absolutas e relativas.

Para a análise da hipótese de igualdade de médias entre os momentos de avaliação utilizou-se a Análise de Variância com medidas repetidas (ROSNER, 1986), quando a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada utilizou-se o teste não-paramétrico de Friedman (TIMM, 1975).

Para a análise da hipótese de igualdade de médias entre em dois momentos utilizou-se o teste não-paramétrico de Wilcoxon (ROSNER, 1986), pois a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada.

Para se testar a homogeneidade dos grupos em relação as proporções foi utilizado o teste exato de Fisher (TIMM, 1975) quando ocorreram frequências esperadas abaixo de 5.

Para se avaliar a correlação entre duas variáveis foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman (TIMM, 1975).

O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

6 RESULTADOS

Realizou-se a padronização da técnica de fracionamento do sangue total canino para obtenção dos concentrados plaquetários que foram transfundidos para os pacientes trombocitopênicos. Estes concentrados de plaquetas seguiram um controle rigoroso de qualidade atendendo as especificações da ANVISA.

6.1 CONTROLE DE QUALIDADE DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS

Foram necessárias a utilização de 37 bolsas de sangue total fracionadas para estabelecimento da padronização e o controle de qualidade pré determinados dos concentrados plaquetários.

6.1.1 Volume e número de plaquetas por concentrado

Cada unidade de concentrado plaquetário apresentou um volume variável entre 60 a 67 mL, contagem plaquetária média de $7,4 \times 10^{10}$ / unidade no 1 ° dia (n = 12) e $5,7 \times 10^{10}$ / unidade no 3°dia (n = 13) e $6,0 \times 10^{10}$ / unidade no 5 ° dia (n = 12). O *Swirling* correspondeu aos escores 2 e 3 em todos os concentrados de plaquetas.

6.1.2 Número de leucócitos por unidade

O número de leucócitos por unidade plaquetária correspondeu a menos de $5 \times 10^8/\text{mL}$ variando entre $4,5 \pm 3,0 \times 10^7/\text{mL}$, $3,2 \pm 1,1 \times 10^7/\text{mL}$ e $2,8 \pm 2,8 \times 10^7/\text{mL}$, respectivamente no 1º, 3º e 5º dias de armazenamento.

6.1.3 Número de hemácias por unidade

O hematócrito dos concentrados plaquetários variou entre 0,1 a 0,8 % .

6.1.4 Avaliação microbiológica

Não houve crescimento de microorganismos em nenhuma das amostras submetidas à cultura.

6.1.5 Mensuração de pH

O pH dos concentrados plaquetários variou entre 6,6 a 7,4 atendendo as exigências de controle de qualidade, ou seja, pH maior que 6,0 durante o período de estocagem.

6.1.6 Determinação de glicose

Os níveis médio de glicose dos concentrados plaquetários foram de $523 \pm 9 \text{ mg/dL}$, $498 \pm 13 \text{ mg/dL}$ e $395 \pm 23 \text{ mg/dL}$, respectivamente, nos dias 1, 3 e 5 de armazenagem.

6.2 RECEPTORES DOS CONCENTRADOS DE PLAQUETAS

Dentre os vinte e oito pacientes transfundidos, 21 apresentavam manifestações clínicas de sangramento ativo, cinco (3, 24, 26, 27, 28) receberam a transfusão de forma profilática antes de procedimentos cirúrgicos e em três cães (10, 12, 21) os concentrados foram administrados devido à trombocitopenia acentuada porém sem sinais ou sintomas de diáteses hemorrágicas.

Dentre os prováveis diagnósticos dos receptores estão: aplasia de medula (1), hemoparasitose (9), plasmocitoma esplênico (1), trombocitopenia imunomediada primária (5), erliquiose (7), hepatopatia (1), hepatite infecciosa (1), hemometra (2), neoplasia mamária (1) e corpo estranho (1).

As características principais e a contagem plaquetária dos cães que receberam as transfusões estão demonstrados na Tabela 1.

(Continua)

Tabela 1 – Características dos receptores dos concentrados plaquetários

Cão	Sexo (M/F)	Raça	Idade (anos)	Diagnóstico provável	Manifestações clínicas de hemorragia	CP pré transfusional (/μL)	Tempo de armazenamento dos conc.plaq.
1	F	Poodle	9	Hemoparasitose	Secreção vaginal sanguinolenta	46.000	1 dia
2	F	Maltês	8	Hemoparasitose	Ausente	47.000	1 dia
3	F	SRD	8	Plasmocitoma esplênico	Ausente	94.000	3 dias
4	M	Pit Bull	2,5	Trombocitopenia imunomediada primária	Petéquias, equimoses, sintomas neuroológicos	9.000	1 dia
5	M	SRD	9	Aplasia medular	Sangramento excessivo em membro	5.000	1 dia
6	M	Dálmata	2	Erliquiose	Hematoma	4.000	1 dia
7	F	Maltês	3	Erliquiose	Hematoquesia Petéquias e equimoses	22.000	5 dias
8	M	Cocker Spaniel	14	Hemoparasitose	Melena	10.000	2 dias
9	M	SRD	6	Hemoparasitose	Petéquias e Equimoses	43.000	2 dias
10	F	SRD	15	Hemoparasitose	Ausentes	6.000	1 dia
*11	F	Poodle	9	Trombocitopenia imunomediada	Petéquias e sufusões	23.000	1 dia
*12	F	Poodle	9	Trombocitopenia imunomediada	Ausentes	10.000	2 dias
13	F	Poodle	11	Erliquiose	Petéquias	24.000	5 dias
14	M	Poodle	4	Hepatopatia	Petéquias	32.000	1 dia
15	M	Dachshund	3	Hemoparasitose	Sangramento peniano	66.000	3 dias
16	M	Schnauzer	0,4	Hepatite infecciosa	Petéquias Hematoquesia	32.000	3 dias

Tabela 1 – Características dos receptores dos concentrados plaquetários

Cão	Sexo (M/F)	Raça	Idade (anos)	Diagnóstico provável	Manifestações clínicas de hemorragia	CP pré transfusional (/μL)	Tempo de armazenamento dos conc.plaq.
17	F	Poodle	5	Erliquiose Trombocitopenia imunomediada	Petéquias	10.000	1 dia
18	M	Poodle	4	Erliquiose	Sangramento intestinal	9.000	1 dia
19	M	Poodle	4	Erliquiose Trombocitopenia imunomediada	Hematoma Hematúria Hematoquesia	20.000	1 dia
20	F	Poodle	2	Hemoparasitose	Petéquias e sufusões Sangramento gengival Hematoquesia	18.000	1 dia
21	M	SRD	4	Anemia e trombocitopenia imunomediada	Ausentes	18.000	1 dia
22	M	Dachshund	7	Hemoparasitose	Sufusões Sangramento gengival	24.000	1 dia
23	M	Poodle	10	Erliquiose Trombocitopenia imunomediada	Melena Petéquias Hematoma	22.000	2 dias
24	M	Cocker Spaniel	3	Corpo estranho em estômago	Ausentes	100.000	2 dias
25	F	SRD	9	Hemoparasitose	Hematoemese Hematoma	15.000	1 dia
26	F	SRD	10	Hemometra	Secreção vaginal sanguinolenta	72.000	1 dia
27	F	Pinscher	8	Hemometra	Secreção vaginal sanguinolenta	59.000	1 dia
28	F	Dachshund	11	Neoplasia mamária	Ausentes	56.000	1 dia

CP: contagem plaquetária

Conc. plaq.: concentrado plaquetário

M/F: M : Macho/ F: Fêmea. SRD: sem raça definida

* mesmo paciente

Realizou-se a tipagem sanguínea dos doadores e dos receptores. Todos são positivos para DEA 1.1 (receptores e doadores) com exceção do cão nº 4 que é DEA 1.1 negativo assim como os seus doadores. Todas as transfusões foram realizadas mediante resultado positivo do teste de compatibilidade.

6.2.1 Reações transfusionais

Documentou-se a ocorrência de reações transfusionais em 10 cães (1, 5, 6, 10, 13,15, 17, 19, 22 e 28), correspondendo a 35,7% do total de casos transfundidos. As reações foram verificadas durante 120 minutos os quais foram estipulados para o acompanhamento do animal.

As principais manifestações adversas foram gastrintestinais (6/28) , seguidas das alérgicas (5/28) e inflamatórias (2/28). As características das reações transfusionais e o tempo de armazenamento dos concentrados plaquetários administrados estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Características das reações transfusionais e o tempo de armazenamento dos concentrados plaquetários administrados

Cão	T de armazenamento dos Concentrados plaquetários	Reações transfusionais	Transfusão prévia de sangue total e números de transfusões
1	1 dia	Edema periorbitário	Não
5	1 dia	Edema periorbitário	Sim (40)
6	1 dia	1 episódio emético	Não
10	2 dias	Prurido, episódios eméticos incoersíveis, eritema abdominal, angioedema	Sim (1)
13	2 dias	Hipertermia, tremores moderados, sonolência, náusea, edema perilabial discreto	Sim (1)
15	3 dias	Reação urticariforme acentuada, angioedema grave	Não
17	3 dias	Tremores de média intensidade	Não
19	1 dia	1 episódio emético	Não
22	1 dia	1 episódio emético, sonolência	Não
28	1 dia	2 episódios eméticos	Não

T = tempo

Os cães 1 e 5 apresentaram reações de natureza alérgica caracterizadas por edema periorbitário suave no paciente 1 porém mais grave no paciente 5. Houve necessidade de medicar o cão 5 com corticóide (dexametasona na dose de 0,5 mg/kg por via subcutânea) devido à evolução rápida do quadro reacional caracterizada pelo edema da face.

Reação caracterizada por hipertermia foi observada apenas no cão 13 (Figura 4) verificando-se a elevação de 1°C da temperatura em relação ao valor basal, após 45 minutos de

administração do concentrado plaquetário. Observou-se, também, edema perilabial discreto, tremores moderados, sonolência e dois episódios eméticos.

Figura 4 – Valores da temperatura corpórea mensurada no cão 13 durante os 120 minutos de monitoração

O cão 10 demonstrou reação adversa grave nos primeiros cinco minutos de infusão manifestada com prurido no local da venopunção e episódios eméticos incoersíveis. Interrompeu-se a administração do concentrado imediatamente. Após 40 minutos, evidenciou-se um angioedema em face (Figura 5) e eritema no abdômen (Figura 6).

Houve necessidade de medicar os cães 5 e 10 com dexametasona na dose de 0,5 mg/kg, por via subcutânea, devido à evolução rápida do quadro reacional caracterizada pelo edema da face.

Há relato de transfusão prévia de sangue total nos cães referidos anteriormente com exceção do animal 1. Destaca-se o cão 5 que apresentava um histórico de 40 transfusões, administradas a cada 2 semanas porém sem a ocorrência de reações transfusionais anteriores. O cão 10 foi transfundido com sangue total há 7 dias e o animal 13 há 5 dias.

O cão 15, ao término da transfusão, manifestou uma reação urticariforme acentuada (Figuras 7 e 8), generalizada além de angioedema, prurido intenso e tremores. Instituiu-se a terapia com difenidramina (0,5 mg/kg/SC) e dexametasona (0,5 – 1,0 mg/kg/SC) com remissão do quadro após 60 minutos. Neste caso, não há relatos de transfusão sanguínea prévia.

Os cães 5, 6 e 19 apresentaram 1 episódio emético ocorrido durante a transfusão. O cão 22 apresentou sonolência e um vômito 15 minutos após o término do procedimento e o 28 manifestou 2 episódios eméticos biliosos durante a administração do concentrado.

Os pacientes 5, 13 e 22 eram pancitopênicos destacando-se as contagens leucocitárias bastante reduzidas com 700, 1000 e 400 leucócitos/ μ L respectivamente (valores de referência: 6.000-16.000 leucócitos/ μ L).

O cão 14 veio a óbito em vinte e quatro horas em relação à transfusão em consequência da hepatopatia grave que o acometia porém sem evidências clínicas de complicações em decorrência da administração de plaquetas.

Figura 5 – Angioedema em face (cão 10) após 40 minutos em relação à interrupção da transfusão

Figura 6 – Eritema abdominal (cão 10) após 40 minutos em relação à interrupção da transfusão

Figura 7 - Reação urticariforme acentuada, acompanhada de angioedema, observada no cão 15 ao término da transfusão.

Figura 8 - Reação urticariforme acentuada, acompanhada de angioedema, observada no cão 15 ao término da transfusão (visão lateral)

Não houve correlação significativa entre o tempo de armazenamento dos concentrados plaquetários e a ocorrência de reações transfusionais (Tabela 3 e Figura 9).

Tabela 3 - Correlação entre a ocorrência de reações transfusionais e o tempo de armazenamento dos concentrados plaquetários transfundidos

Dia	Sem reação		Com reação		p*
	n	%	N	%	
1	10	55,6	8	80,0	0,289
2	5	27,8	0	0,0	
3	2	11,1	1	10,0	
5	1	5,6	1	10,0	

(*) nível descritivo do teste exato de Fisher.

Figura 9 Valores percentuais do número de cães com e sem reação, segundo o tempo de armazenamento dos concentrados plaquetários transfundidos.

Observou-se o controle clínico dos sinais de hemorragia nos pacientes com discrasias sanguíneas. Naqueles submetidos, posteriormente, a procedimentos cirúrgicos também verificou-se o controle de sangramentos com exceção do cão 27 que apresentou sangramento difuso acima do habitual segundo informações do cirurgião responsável porém não houve alteração significativa no hematócrito e concentrações de hemoglobina no pós-operatório imediato.

6.2.2 Avaliação da temperatura corpórea

Não houve alterações significativas em relação aos valores médios da temperatura corpórea dos cães avaliados com exceção do cão 13 que apresentou hipertermia caracterizada pela elevação de 1°C após 45 minutos de transfusão em relação ao momento 0 (Tabela 4 e Figura 10)

Tabela 4 – Valores médios e desvios padrão ($\pm$) dos parâmetros temperatura corpórea ($T^{\circ}\text{C}$), frequência cardíaca (FC) e pressão arterial sistólica (PAS) nos momentos avaliados

Variável			
Tempo	$T^{\circ}\text{C}$	FC (bpm)	PAS (mmHg)
0h	38,62 (0,70)	136,00 (34,86)	13,48 (1,70)
15 min	38,55 (0,74)	130,93 (32,54)	13,39 (1,62)
30 min	38,56 (0,65)	129,25 (25,05)	13,35(1,64)
45 min	38,58 (0,70)	133,07 (27,27)	13,26 (1,66)
60 min	38,50 (0,68)	134,57 (30,74)	13,17 (1,56)
120 min	38,51 (0,69)	131,68 (30,57)	13,17 (1,53)

Figura 10 Valores de média e desvio-padrão da temperatura dos 28 cães ao longo dos momentos avaliados.

6.2.3 Avaliação da Frequência cardíaca

Não houve alteração significativa nos valores médios da frequência cardíaca ao longo dos momentos analisados (Tabela 4 e Figura 11).

Figura 11 Valores de média e desvio-padrão da Frequência Cardíaca ao longo dos momentos avaliados.

6.2.4 Avaliação da Pressão Arterial Sistólica

Não houve alteração significativa nos valores mensurados de pressão arterial sistólica ao longo dos momentos avaliados (Tabela 4 e Figura 12).

Figura 12 Valores de média e desvio-padrão da PAS ao longo dos momentos avaliados.

6.3 INCREMENTO PLAQUETÁRIO (IP)

Houve elevação significativa da contagem plaquetária 1 ($p < 0,05$) e 24 horas ($p < 0,05$) após a transfusão quando comparada com o valor pré transfusional (Tabela 5). As contagens plaquetárias 1 e 24 horas após a transfusão não apresentaram diferença significativa entre si (Figura 13). Não foi possível obter a amostra para realização do incremento plaquetário em 1 hora e 24 horas do cão 10 pois a transfusão foi interrompida nos primeiros cinco minutos de administração. Além disso, não foi possível determinar o incremento plaquetário em 24 horas do cão 14 pois veio à óbito no dia seguinte, antes da coleta da amostra.

Tabela 5 - Comparação da contagem plaquetária entre os momentos pré transfusional, 1 e 24 horas após a transfusão

Momento	N	Média	DP	p*
Pré	26	30428,57	26936,17	<0,001
1 hora	26	68619,05	37076,24	
24 horas	26	62047,62	46806,49	

(*) nível descritivo do teste não-paramétrico de Friedman.

Figura 13: Valores de média e desvio-padrão dos valores de contagem plaquetária nos momentos pré, 1 hora e 24 horas pós transfusional

(*) diferença significativa do momento pré ($p < 0,05$)

Os incrementos plaquetários observado e esperado em 1 hora foram correspondentes, ou seja, não apresentam diferença significativa (Tabela 6). Entretanto, o incremento plaquetário observado em 24 horas foi menor que o esperado (Tabela 7 e Figura 14).

Tabela 6 - Comparação entre os incrementos plaquetários observado e esperado em 1 hora

P	n	Média	dp	P*
Observado	27	39738,46	26677,08	0,166
Esperado	27	44501,08	7273,11	

(*) nível descritivo do teste não-paramétrico de Wilcoxon.

Tabela 7 - Comparação entre os incrementos plaquetários observado e esperado em 24 horas

IP	n	Média	dp	P*
Observado	26	31619,05	30864,99	0,006
Esperado	26	50078,95	18395,54	

(*) nível descritivo do teste não-paramétrico de Wilcoxon.

Figura 14 Média e desvio-padrão dos valores de incremento plaquetário observado e esperado no momento 24 horas

6.3.1 Índice de incremento plaquetário (Índice IP)

Apenas 5 cães (5/26) (1,3,4,11 e 19) apresentaram um índice IP de 1 hora insatisfatórios, ou seja, menor que $7,5 \times 10^9/L$ e 4 cães (4/26) (11,13,19 e 22) apresentaram índices IP de 24

horas menores que $4,5 \times 10^9/L$ sendo que apenas 2 animais apresentaram os dois índices (1 e 24 h) abaixo do desejado simultaneamente (Tabela 8).

Dos 5 cães com índice IP abaixo de 7.5 em 1 hora, 2 (40,0%) permaneceram abaixo de 4.5 no momento 24 horas e 3 (60,0%) passaram para acima de 4.5 em 24 horas.

Dos 16 cães com índice IP acima de 7,5 em 1 hora, 14 (87,5%) permaneceram acima de 4.5 e 2 (12,5%) abaixo de 4.5 em 24 horas.

Assim em 1 hora tínhamos 16 (76,2%) dos cães com índice acima de 7,5 e no momento 24 horas, 17 (81,0%) com índice acima de 4,5. Portanto não há alteração significativa do momento 1 para 24 horas no índice IP (teste não-paramétrico de McNemar, $p=0,655$).

Segundo o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p=0,6686$ verifica-se que há associação entre o incremento plaquetário esperado e o índice IP em 1 hora e 24 horas o mesmo ocorrendo para o incremento plaquetário observado e o índice IP em 1 hora e 24 horas (teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p< 0,001$)

(Continua)

Tabela 8 – Incremento plaquetário observado, esperado e índice do incremento plaquetário dos cães transfundidos com concentrados de plaquetas

Cão	CP pré	CP pós		IP observado		IP esperado		Índice IP	
	transfusional (μL)	transfusional (μL)		(μL)		(μL)		(x 10 ⁹ /L)	
Tempo									
		1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h
1	46.000	53.000	128.000	6.000	82.000	41.250	58.457	4,43	52
2	47.000	108.000	120.000	61.000	73.000	56.570	63.391	44,36	53
3	94.000	95.000	110.000	1.000	16.000	39.600	89.512	0,60	9,69
4	9.000	19.000	29.000	10.000	20.000	33.690	28.602	6,21	12,42
5	5.000	117.000	41.000	112.000	36.000	41.600	31.222	60,24	19,36
6	4.000	32.000	22.000	28.000	18.000	43.040	31.516	14,93	9,6
7	22.000	72.000	59.000	50.000	37.000	52.940	41.272	43,9	32,5
8	10.000	46.000	42.000	36.000	32.000	36.000	30.820	26,72	23,75
9	43.000	72.000	75.000	29.000	32.000	39.600	55.342	25,48	28,12
10	37.000	-	-	-	-	-	-	-	-
11	23.000	33.000	28.000	10.000	5.000	49.500	48.575	6,0	3,0
12	10.000	50.000	24.000	40.000	14.000	49.500	39.865	24,24	8,48
13	24.000	49.000	25.000	25.000	1.000	39.600	42.612	32,96	1,0
14	32.000	43.200	...	11.200	...	35.300	...	9,84	...
15	66.000	100.000	120.000	34.000	54.000	46.500	75.375	21,12	33,54
16	32.000	84.000	130.000	52.000	98.000	39.600	47.972	45,69	86,12
17	10.000	42.000	20.000	32.000	10.000	39.600	33.232	22,30	6,96
18	9.000	83.000	80.000	74.000	71.000	38.076	31.540	76,24	73,15
19	20.000	30.000	13.000	10.000	- 7.000	49.500	46.565	6,06	4,24
20	18.000	49.000	34.000	31.000	16.000	39.600	38.592	21,60	11,15
21	18.000	40.000	32.000	22.000	14.000	49.500	45.225	13,33	8,48
22	24.000	80.000	33.000	56.000	9.000	66.000	60.300	28	4,5
23	23.000	90.000	147.000	67.000	124.000	45.690	48.032	53,3	68,88

Tabela 9 – Incremento plaquetário observado, esperado e índice do incremento plaquetário dos cães transfundidos com concentrados de plaquetas

Cão	CP pré	CP pós		IP observado		IP esperado		Índice IP	
	transfusional (μL)	transfusional (μL)		(μL)		(μL)		(x 10 ⁹ /L)	
Tempo									
		1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h
24	90.000	140.000	140.000	50.000	50.000	41.772	88.287	25,15	25,15
25	15.000	76.000	44.000	61.000	29000	49.500	43.215	36,9	17,50
26	72.000	157.000	141.000	85.000	69.000	44.000	77.720	44,43	36,0
27	59.000	99.000	116.000	40.000	57.000	49.500	72.695	24,24	34,54
28	53.000	105.000	140.000	52.000	87.000	49.500	68.675	31,50	52,72

CP = contagem plaquetária

IP = incremento plaquetário

IP observado 1 h = CP pós transfusional de 1 hora – CP pré transfusional

IP observado 24 horas = CP pós transfusional de 24 horas – CP pré transfusional

IP esperado de 1h = (n° total de plaquetas transfundidas) $\times$ 0,51/85 ml/kgIP esperado de 24 h = (contagem plaquetária antes da transfusão + IP 1 h) $\times$ 0,67

$$\text{Índice IP} = \frac{(\text{Ct plaq pós} \times 10^9) - (\text{Ct plaq pré} \times 10^9) \times \text{SC} (\text{m}^2)}{n^\circ \text{ plaquetas transfundidas} (\times 10^{11})}$$

- = não realizada a transfusão devido à reação adversa grave

... = não disponível, pois não foi possível a obtenção da amostra

7 DISCUSSÃO

A transfusão de concentrados de plaquetas, empregada em larga escala na Medicina, não é uma prática habitual na Medicina Veterinária mesmo havendo um consenso entre os autores da necessidade crescente de hemocomponentes ricos em plaquetas diante da emergência de terapias oncológicas agressivas, aumento da casuística das neoplasias em cães e tratamento de enfermidades hematológicas complexas não pancitopênicas. Diante disso, tornam-se relevantes os estudos como este em relação à padronização e administração dos concentrados plaquetários a fim de aumentar a disponibilidade destes hemocomponentes diante de circunstâncias clínicas e cirúrgicas cujas indicações são soberanas.

7.1 CONTROLE DE QUALIDADE DOS CONCENTRADOS PLAQUETÁRIOS

As investigações e informações em relação às especificações quanto ao controle de qualidade dos concentrados de plaquetas em cães são escassos (ABRAMS-OGG et al., 1993; ALLYSON et al., 1997; ULATA, 2005) porém estes estudos indicam similaridade aos padrões de qualidade estabelecidos pela *American Association of Blood Banks* e pela ANVISA (2004) para os concentrados plaquetários humanos.

Apesar das transfusões de concentrados de plaquetas caninas serem utilizadas como modelo de estudo para a transfusão de concentrados de plaquetas em humanos para esclarecimento da aloimunização (SLICHTER et al., 1986) as plaquetas dos cães diferem das humanas em diversos aspectos. Bioquimicamente, as plaquetas caninas contêm menos serotonina

e histamina que as plaquetas humanas e estruturalmente, as plaquetas caninas possuem menos glicoproteínas na membrana plasmática (JAIN ¹⁵ apud 1993 ALLYSON et al., 1997, p. 1338). Além disso, a vida média das plaquetas na circulação do cão é de apenas 5 a 7 dias quando comparada com a do homem que é de 8 a 11 dias (LEE et al., 1988).

Os concentrados plaquetários utilizados neste estudo seguiram as recomendações da ANVISA (2004): volume entre 50 a 70 mL, contagem de plaquetas/unidade $\geq 5 \times 10^{10}$, contagem de leucócitos/unidade $\leq 1,0 \times 10^8$, pH $> 6,0$, hematócrito $< 1 \%$ e escore de *swirling* ≥ 1 .

Não houve crescimento bacteriano em nenhuma amostra dos concentrados de plaquetas submetidos à cultura.

Ulata (2005) descreve em seu estudo a padronização de forma detalhada dos concentrados de plaquetas de cães do banco de sangue do hospital veterinário da FMVZ – USP que apresentaram as seguintes características ao 5º dia de armazenamento: volume médio de 65 mL, $6,1 \times 10^{10}$ plaquetas/unidade, $0,4 \times 10^8$ leucócitos /unidade, escores de *swirling* ≥ 2 e pH igual a 6,4.

7.2 REAÇÕES TRANFUSIONAIS

Documentou-se a ocorrência de RTNHF em 35,7% dos casos transfundidos correspondendo a uma proporção significativa em relação aos 28 cães transfundidos. Em humanos, esta percentagem varia de 17 % em estudos retrospectivos (GOODNOUGH et al., 1993) a 30% em estudos prospectivos (HEDDLE et al., 1993). Deve-se considerar que este

¹⁵ JAIN, N.C. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 105-132, 1993.

estudo é pioneiro na avaliação destas reações em cães em caráter clínico e não experimental. Desta forma, não há pesquisas na literatura veterinária que estimam esta incidência sendo possível compara-lo apenas com os ensaios clínicos em Medicina que descrevem percentagem semelhante (BORDIN et al., 1994; HEDDLE, 1999). A única descrição de efeitos adversos em medicina veterinária em relação à transfusão de concentrados de plaquetas é a de Abrams-Ogg et al. (1993) que relata a ocorrência de 17% de reações, porém em um estudo experimental de transplante de medula óssea em 5 cães com administrações sucessivas de plaquetas. Este mesmo estudo relatou a ocorrência de urticária, anafilaxia, emese e febre como principais reações. Slichter et al. (1986), descrevem cinco diferentes programas de transfusão de plaquetas em cães, em caráter experimental, destacando a aloimunização porém sem citação de outras reações adversas.

A principal manifestação clínica descrita neste estudo é a gastrointestinal caracterizada por emese (21,4%) sendo uma ocorrência documentada por Abrams-ogg et al. (1993) porém em uma proporção significativamente menor (2%) sendo também menos freqüente em seres humanos (SNYDER et al., 1991). Em cães, a associação de episódios eméticos com transfusão sanguínea ocorre em, aproximadamente, 1 % dos casos (HARRELL et al., 1997b). Acredita-se que a rápida administração do hemocomponente ou a ingestão de alimento previamente ou durante a transfusão seja a causa desta manifestação. Os vômitos geralmente cessam espontaneamente sendo facilmente prevenidos com o jejum além do controle da velocidade de administração (HOHENHAUS, 2000). Neste estudo, a velocidade de administração (1 CP/10kg/h) pode ter contribuído para esta reação nos receptores de pequeno porte devido a uma susceptibilidade maior à sobrecarga circulatória com exceção do cão 10 que apresentou episódios eméticos sucessivos nos primeiros cinco minutos de transfusão a qual foi interrompida imediatamente.

As reações de natureza alérgicas foram também frequentes (17,8%) variando de leves a graves porém sem registros de choque anafilático devido, provavelmente, à imediata intervenção terapêutica instituída na vigência da manifestação impedindo a evolução do quadro. Destaca-se o receptor 15 pela rapidez e gravidade das erupções cutâneas que no entanto apresentaram resolução completa após 24 horas respondendo efetivamente ao tratamento preconizado com corticóides e antihistamínicos. Abrams-Ogg et al. (1993), em seu experimento presenciaram apenas 2 reações transfusionais alérgicas (1 urticariforme (1/46) e 1 choque anafilático (1/46)) ao contrário deste estudo que registrou 5 casos (5/28). A incidência de urticária em transfusões de sangue canino é menor que 1% (HOHENHAUS, 2000; HARRELL et al., 1997b). Heedle et al. (1999) descrevem a ocorrência de 6,2% de reações transfusionais alérgicas em um estudo prospectivo realizado com 380 transfusões de plaquetas em 30 pacientes, em contrapartida, Hoissa et al. (2003) relatam 1,7 % desses efeitos em um estudo, também, prospectivo acompanhando-se 56 transfusões em 6 pacientes.

A hipertermia, principal complicação relatada em seres humanos e na veterinária segundo relato de Abrams-Ogg et al. (1993), foi presenciada em apenas 1 cão deste estudo (3,5%). Além desta manifestação, este cão apresentou tremores moderados sendo estes semelhantes às principais reações relatadas em transfusão de concentrados plaquetários no homem (HEEDLE, 1999). Ressalta-se que este animal apresentava imunossupressão em consequência de uma acentuada leucopenia com hipoplasia medular. Uma das explicações hipotéticas para esta divergência literária seria o perfil de pacientes no estudo em questão que difere da maioria das pesquisas randomizadas no homem que estudam a fisiopatologia e manifestações das RTNHF. Estas são realizadas principalmente com pacientes onco-hematológicos que necessitam de reposições plaquetárias constantes (HEDDLE et al., 1994; HEDDLE et al. 2002; SARKODEE-

ADOO et al., 1998) os quais são imunossuprimidos por várias razões, tanto pela enfermidade em si, ou em consequência da terapia intituída que pode incluir quimioterapia e transplantes de medula óssea. Inclusive, no estudo experimental descrito por Abrams-Ogg et al. (1993), os cães transfundidos eram mielossuprimidos sendo submetidos a transplante de medula óssea seguindo um perfil semelhante ao dos pacientes humanos.

Acredita-se que a febre nas RTNHF seja resultante de níveis elevados de citocinas pirogênicas transfundidas para o receptor (SNYDER et al., 1991). Quando estas citocinas pirogênicas, tais como IL-1 β , IL-6 e TNF-alfa, estão presentes em altas concentrações na circulação sistêmica, elas estimulam o centro termorregulatório o qual induz a síntese de ácido aracdônico e prostaglandinas, incluindo a prostaglandina E2 (PGE2) a qual faz o ponto de equilíbrio termostático do organismo se elevar. Em resposta a esta alteração, ocorre um aumento da conservação do calor através de vasoconstrição e de produção de calor por calafrios, e a temperatura corpórea se eleva até que alcance o novo ponto de equilíbrio (TIZARD, 2002). Por esta razão, calafrios e tremores são manifestações freqüentes descritas em seres humanos durante a transfusão de plaquetas sendo consideradas reações leves (HEDDLE, 1999; SNYDER et al., 1991). No presente estudo, presenciou-se dois cães com tremores moderados (cães 13 e 17) sendo que a hipertermia foi constatada apenas em um deles (cão 13). No homem, é bem documentado que os tremores e calafrios podem ou não ser acompanhados por febre (HEDDLE, 1999).

O cão 13 apresentou reações que englobam várias categorias: alérgicas, inflamatórias além da hipertermia. Em seres humanos, casos semelhantes são descritos em aproximadamente 4% dos efeitos adversos relatados com transfusões de plaquetas (HEDDLE et al. 1999).

A fisiopatologia das RTNHF não está totalmente elucidada em seres humanos (HEDDLE, et al., 1999; PATTERSON et al., 2000; PRUSS et al, 2004) e tão pouco em cães (ABRAMS-

OGG et al., 1993). A implicação das citocinas como a causa das reações em decorrência da transfusão de plaquetas surgiu de inúmeros relatos que demonstraram a existência de modificadores da resposta biológica derivados de leucócitos e plaquetas que se acumulam durante o período de estocagem dos concentrados de plaquetas (BOEHLEN; CLEMETSON, 2001; MUYLLE et al.; 1992; HEEDLE, et al., 1999; SNYDER et al., 1991). Embora haja evidência clínica e laboratorial que sugere que o acúmulo de citocinas durante a estocagem seja o principal fator desencadeante das reações agudas das transfusões de plaquetas, acredita-se que aproximadamente 6% das reações podem ser causadas por anticorpos contra leucócitos no plasma do paciente que interagem com leucócitos dos produtos plaquetários (HEDDLE, et al., 1999). São escassos os relatos na veterinária que quantificam ou qualificam as citocinas ou mesmo a concentração de leucócitos nos produtos plaquetários caninos. Dentre eles, destaca-se o estudo de Ulata (2005), que constatou um acúmulo TNF biologicamente ativo durante os períodos de estocagem de concentrados de plaquetas em cães porém dependente apenas do número de plaquetas sem correlação com o número de leucócitos conforme sugerem a maioria dos estudos em humanos. Abrams-Ogg et al. (1993) atribuem uma possível correlação entre o número de leucócitos nos concentrados plaquetários caninos e as reações febris porém não realizam uma determinação específica de nenhuma citocina.

Apesar da discussão em relação à fisiopatologia que esclareçam as reações transfusionais após a administração de plaquetas, vários autores já demonstraram que a leucorredução pré estocagem dos concentrados plaquetários randomizados ou a utilização de concentrados plaquetários obtidos por aférese, os quais possuem um número menor de leucócitos, contribuem para diminuição significativa de ocorrência de reações principalmente naqueles pacientes que

necessitam de transfusões múltiplas. (HEEDLE et al., 2002; LANE et al., 1992; PATTERSON et al., 2000; PRUSS et al.; 2004).

Ressalta-se que dos 10 cães que apresentaram reações transfusionais, 3 tinham o histórico de transfusão sanguínea prévia. O interessante é que 2 destes cães (10 e 13) apresentaram reações clínicas graves sendo que um deles (cão 10) manifestou os sintomas após 5 minutos de administração do concentrado que foi imediatamente interrompido. Suposições podem ser feitas em relação à pré sensibilização destes pacientes favorecendo a produção de anticorpos que podem interagir com leucócitos dos concentrados plaquetários transfundidos predispondo estes pacientes às reações porém são necessários mais estudos para investigar uma possível correlação.

Os estudos cada vez mais crescentes em relação às determinações de citocinas durante o período de estocagem surgiram das evidências clínicas de reações transfusionais ocorrendo mais freqüentemente em pacientes que recebiam concentrados plaquetários com períodos de armazenagem mais longos quando comparados com aqueles em que eram transfundidas plaquetas com menor período de estocagem (HEDDLE et al., 1993; MUYLEE et al., 1992; PATTERSON et al., 2000). Segundo os resultados apresentados nesta pesquisa, não houve uma correlação entre o tempo de armazenagem dos concentrados plaquetários e a ocorrência de reações transfusionais. De fato, um dos receptores apresentou reações transfusionais graves (cão 10) nos primeiros cinco minutos, interrompendo-se a administração em seguida. Deve-se considerar que as manifestações se perpetuaram por duas horas mesmo com a administração mínima de volume do concentrado de plaquetas o qual possuía 2 dias de armazenagem. Chambers et al. (1990) relataram reações ocorridas na primeira transfusão de plaquetas em um terço dos casos sendo que a maioria aconteceu durante a administração dos primeiros três concentrados.

Uma RTNHF pode ser resultante da infusão de componentes sanguíneos com bactérias ou produtos bacterianos. Os concentrados plaquetários são os hemocomponentes mais implicados no desencadeamento de reações desta natureza por serem estocados em temperatura ambiente (SNYDER et al., 1991). É crescente a preocupação na Medicina em relação a este aspecto, pois estas ocorrências antes descritas como raras passaram a ter documentações mais freqüentes nos últimos 10 anos. A utilização de bolsas estéreis e procedimentos de assepsia no local da venopunção são efetuados para obtenção de produtos sanguíneos estéreis, porém a contaminação bacteriana no sítio da coleta ou uma bacteremia assintomática no doador ainda ocorrem ((HEAL; BLUMBERG, 2004). A transfusão de sangue contendo altos níveis de endotoxinas em humanos resulta em graves reações caracterizadas por febre, calafrios, náusea e emese sendo a fatalidade um tanto quanto alta a qual está em torno de 35% (MORDUCHOWICZ, et al.¹⁶ apud HOHENHAUS, 2002, p.866). Diante da suspeita de reações adversas por contaminação bacteriana, é recomendado a realização de cultura do sangue do paciente e da bolsa instituindo a terapia com antibióticos de amplo espectro até a obtenção do resultado. No presente estudo, realizou-se cultura do sangue do paciente e de uma amostra do concentrado de plaquetas transfundido no cão 13 que foi o único caso que apresentou hipertermia para certificação da ausência de contaminação bacteriana e que foi confirmada.

¹⁶ MORDUCHOWICZ, G.; PITLIK, S.D.; HUMINER, D. et al. Transfusion reactions due to bacterial contamination of blood and blood products. **Rev. Infect. Dis.**, v.13, p.307-314, 1991.

Em seres humanos por ser elevada a ocorrência de reações agudas em transfusão de concentrados de plaquetas, é comum a pré – medicação, com antihistamínicos ou antiinflamatórios, em pacientes com histórico de efeitos adversos segundo protocolos pré estabelecidos (PATTERSON et al., 2000; SNYDER et al., 1991). Estes protocolos minimizam porém não suprimem totalmente o aparecimento de reações entretanto proporcionam um maior conforto ao paciente. Em analogia, com base no presente estudo em que se verificou uma alta percentagem de reações em cães, pode-se sugerir que a pré-medicação com corticóides ou antihistamínicos possa beneficiar os pacientes que necessitam de transfusão de plaquetas a fim de minimizar estas manifestações as quais podem variar de leves a graves conforme documentadas anteriormente.

7.3 INCREMENTO PLAQUETÁRIO

Existe um consenso entre os autores de que o controle clínico da hemorragia é o mais importante parâmetro da eficácia da administração de plaquetas (ABRAMS-OGG et al., 1993; GUIDELINES, 2003; SLICHTER, 1990). No estudo em questão, observou-se um controle das manifestações clínicas de hemorragia em todos os cães após a administração dos concentrados plaquetários incluindo os cinco cães que receberam transfusão profilática os quais não apresentaram sinais de hemorragia durante os procedimentos cirúrgicos.

Complementando esta avaliação, realizou-se a determinação do incremento plaquetário 1 e 24 horas após a administração dos concentrados plaquetários. Segundo os autores, existem várias fórmulas para os cálculos dos incrementos. No presente estudo, adotou-se as duas maneiras

mais utilizadas na literatura para calculá-los obtendo-se os valores sob a forma de contagem de plaquetas/ μL em 1 e 24 horas (ABRAMS-OGG et al., 2000; SLICHTER et al., 1986) e sob a forma de índice plaquetário (DALY et al. 1980; HEDDLE et al., 2002; PISCIOTTO et al., 1998).

Em geral, os cães deste estudo apresentaram um adequado incremento plaquetário em 1 hora correspondendo ao esperado com exceção de 5 cães (5/26) que apresentaram valores de índices do incremento plaquetário inferiores a $7,5 \times 10^9/\text{L}$. O cão 10 não recebeu a transfusão dos concentrados plaquetários devido à reação transfusional grave sendo interrompida nos primeiros 5 minutos sendo assim não foi possível a obtenção das amostras para os cálculos dos incrementos. A avaliação deste parâmetro em 1 hora é utilizada principalmente para detectar destruição imunológica das plaquetas, ou seja presença de anticorpos anti-plaquetarios (ABRAMS-OGG et al., 1993; O'CONNELL et al., 1988) e pode ocorrer em casos de esplenomegalia (BISHOP et al., 1988). No presente estudo, em relação aos cinco cães que apresentaram baixo incremento plaquetário em 1 hora, um cão (3) apresentava esplenomegalia acentuada e 3 deles tinham a suspeita de trombocitopenia imunomediada. Os autores afirmam que a transfusão de plaquetas é menos benéfica em trombocitopenia causadas pelo aumento da destruição ou consumo plaquetário, como nos casos de trombocitopenia imunomediada e coagulação intravascular disseminada, respectivamente, pois as plaquetas transfundidas são eliminadas rapidamente justificando um baixo incremento plaquetário nestes pacientes (ABRAMS-OGG, 2000; SNYDER et al. 1991). O mesmo é relatado em casos de esplenomegalia em que ocorre um seqüestro das plaquetas pelo baço. A transfusão de plaquetas possui uma resposta mais satisfatória em casos de trombocitopenia causada por diminuição da produção plaquetária em que não há interferência na vida média das plaquetas na circulação (SNYDER et al., 1991).

O incremento plaquetário em 1 hora é mais baixo em cão quando comparado com o do homem devido ao seu maior volume sanguíneo (85 ml/kg) e a um maior seqüestro de plaquetas pelo baço canino (SLICHTER et al., 1986). Além disso, a vida média das plaquetas caninas na circulação é menor quando comparada com a das plaquetas humanas (LEE et al., 1988). Devido a esta diferença biológica, as plaquetas dos cães podem perder a viabilidade mais rapidamente durante o período de armazenagem (ALLYSON et al., 1997). Segundo Abrams-Ogg (2003), no caso dos cães adotando-se uma média de 7×10^{10} plaquetas por unidade de concentrado plaquetário e uma dose de 1 concentrado de plaquetas para cada 10 kg, teoricamente, espera-se um incremento plaquetário em 1 hora de 40.000 plaquetas/ μ L, aproximadamente. Entretanto, na experiência deste autor, este incremento dificilmente é alcançado sendo utilizado apenas como uma aproximação. Estima-se uma diminuição da contagem plaquetária em torno de 33% por dia após a transfusão (ABRAMS-OGG et al., 1993).

A média do incremento plaquetário observado em 24 horas foi, em geral, menor que a média do esperado porém sem diferenças significantes em relação ao valor do incremento plaquetário de 1 hora. No estudo vigente, documenta-se 4 cães (4/21) que apresentaram incremento plaquetário insatisfatório ao se considerar a avaliação pelo índice do incremento plaquetário em 24 horas inferior a $4,5 \times 10^9$ /L. Não foi possível determinar a contagem plaquetária após 24 horas em 2 cães devido à impossibilidade da obtenção da amostra destes animais sendo que um deles (cão 10) não recebeu a transfusão devido aos efeitos adversos e o segundo (cão 14) veio à óbito no dia seguinte antes da obtenção da amostra. Os fatores que determinam um baixo incremento plaquetário em 24 horas são: febre, infecção, sepse, coagulação intravascular disseminada, tempo de estocagem (BISHOP et al., 1988). Dois cães (11 e 19) que apresentaram insatisfatórios incrementos plaquetários em 24 horas no presente estudo tiveram

como diagnóstico provável trombocitopenia imunomediada; entretanto não é possível determinar a causa exata deste baixo incremento em relação aos outros 2 animais (cães 13 e 22).

A refratariedade plaquetária é definida como a insuficiência sucessiva de obter respostas satisfatórias às transfusões de plaquetas. Entretanto, segundo o GUIDELINES (2003) esta refratariedade só poderá ser confirmada se o paciente apresentar baixos incrementos plaquetários após duas ou mais transfusões de plaquetas. As causas de refratariedade plaquetária podem ser divididas em imunológicas e não imunológicas (BISHOP et al., 1988; SNYDER et al., 1991). A principal causa imune descrita no ser humano é a aloimunização devido à produção de anticorpos anti-HLA após sucessivas transfusões ou em mulheres com o histórico de gestação (GUIDELINES, 2003). Experimentalmente, a aloimunização pode ocorrer rapidamente em cães após 2 a 3 transfusões sucessivas (SLICHTER et al., 1986). As causas não imunológicas são: infecções, coagulação intravascular disseminada, febre, drogas incluindo antifúngicos e antibióticos (BISHOP et al., 1988). Diante de uma suspeita de refratariedade plaquetária deve-se, em primeiro lugar, investigar todos os fatores clínicos não imunológicos e na ausência deles investigar uma causa imunológica como os testes para pesquisa de anticorpos HLA (GUIDELINES, 2003).

8 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos concluiu-se que:

- Apesar de ter sido observado uma percentagem elevada de reações transfusionais em cães durante as administrações dos concentrados plaquetários em caráter clínico as mesmas não inviabilizaram o procedimento em 95% dos cães transfundidos.

- A maioria dos cães apresentou satisfatórios incrementos plaquetários em 1 e 24 horas após a transfusão de plaquetas contribuindo para o tratamento das discrasias sanguíneas.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

A hemoterapia veterinária é uma especialidade recente com um vasto campo de pesquisa a ser explorado.

O esclarecimento da fisiopatologia das reações adversas desencadeadas após a transfusão de concentrados de plaquetas em cães requer estudos futuros para estabelecimento de possíveis correlações com citocinas derivadas de leucócitos e plaquetas acumuladas nos concentrados durante a armazenagem.

REFERÊNCIAS

ABRAMS-OGG, A. C. G. Triggers for prophylactic use of platelet transfusions and optimal platelet dosing in thrombocytopenic dogs and cats. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, p. 1401-1418, 2003.

ABRAMS-OGG, A. C. G. Platelet and granulocyte transfusions. In: FELDMAN, B. F. J, ZENKL, J.G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary Hematology**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344 p.

ABRAMS-OGG, A. C. G.; KRUTH, A. S.; CARTER, R. F.; VALLI, V. E.; KAMEL-REID, S.; DUBÉ, I. D. Preparation and transfusion of canine platelet concentrates. **American Journal Veterinary Research**, v. 54, n. 4, p. 635-642, 1993.

ABREU, J.; MOREIRA, R. M. Avaliação da qualidade em concentrados de plaquetas: estudo de possíveis causas da lesão de armazenamento. **ABO – Revista de Medicina Transfusional**, n. 16, p. 6-11, 2003.

ALLYSON, K.; ABRAMS-OGG, A. C. G.; JOHNSTONE, I. B. Room temperature storage and cryopreservation of canine platelet concentrates. **America Journal Veterinary Research**, v. 58, p. 1338-1347, 1997.

ANVISA. Resolução RDC nº 153, de 24 de junho de 2004. 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. (Eletronic Publication). Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>>. Acesso em: 10 de maio de 2006.

BOEHLEN, F.; CLEMETSON, K. L. Platelet chemokines and their receptors: what is their relevance to platelet storage and transfusion practice? **Transfusion Medicine**, v. 11, 2001, p. 403-417.

BORDIN J. O.; HEDDLE N. M.; BLAJCHMAN, M. A. Biologic effects of leukocytes present in transfused cellular blood products. **Blood**, v. 84, n. 6, p. 1703-1721, 1994.

BRECHER, M. E. (Ed.). Technical manual: 50th anniversary AABB edition 1953-2003. 14.ed Bethesda: American Association of Blood Banks, 2002. 825 p.

BUBEL, S.; WILHEM, D.; ENTELMANN, M. Chemokines in stored platelet concentrates. **Transfusion**, v. 36, p. 445-449, 1996.

BULLA, C.; TAKAHIRA, R. K.; ARAÚJO, J. P.; TRINCA, L. A.; LOPES, R. S.; WIEDMEYER, C. E. The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. **Veterinary Research**, v. 35, p. 141-146, 2004.

CALLAN, M. B. Red Blood Cell Transfusions in the dog and cat. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344 p.

CHAMBERS, L. A.; KRUSKALL, M. S.; PACINI, D. G.; DONOVAN, L. M. Febrile reactions after platelet transfusion: the effect of single versus multiple donors. **Transfusion**, v. 30, p. 219-221, 1990.

CHAMPION A. B.; CARMEN R. A. Factors affecting white cell content in platelet concentrates. **Transfusion**, v. 25, n. 4, p. 334-338, 1984.

DALY, P. A.; SCHIFFER, A. C. Platelet transfusion therapy. **Journal American Medical Association**, v. 243, n. 5, p. 435-438, 1988.

FEDEROWICZ, B. B.; ANDERSEN, B. T. W.; URASHIMA, M. Characterization of reactions after transfusion of cellular blood components that are white cell reduced before storage. **Transfusion**, v. 36, p. 21-28, 1996.

FELDMAN, B. F., THOMASON, K. J.; JAIN, N. C. Quantitative platelet disorders. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 35-49, 1988.

FREIREICH, E. J. Supportive care for patients with blood disorders. **British Journal of Haematology**, v. 111, n. 1, p. 68-77, 2000.

FILIP, D. J.; ASTER, R. H. Relative hemostatic effectiveness of human platelets stored at 4°C and 22°C. **Journal Laboratory Clinical Medicine**, v. 91, n. 4, p. 618-624, 1978.

GOLLEHON, T. J.; KING, D. E.; CRAIG, F. E. Does hyperconcentration result in platelet activation?. A flow-cytometric study of hyperconcentrated random donor platelets. **Vox Sanguinis**, v. 75, n. 2, p. 124-127, 1998.

GOODNOUGH, L. T.; RIDDELL, I. V. J.; LAZARUS, H.; CHAFEL, T. L.; et al. Prevalence of platelet transfusion reactions before and after implementation of leukocyte depleted platelet concentrates by filtration. **Vox Sanguinis**, v. 65, p. 103-107, 1993.

GOPEGUI, R. R.; FELDMAN, B. F. Use of blood components in canine and feline patients with hemostatic disorders. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 25, n. 6, p. 1389, 1995.

GRINDEM, C. B.; BREITSCHWERDT, E. B.; CORBETT, W. T.; JANS, E. H. Epidemiologic survey of thrombocytopenia in dogs: a report on 987 cases. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 20, n. 2, p. 38-43, 1991.

GRINDEM, C.B, BREITSCHWERDT, E.B., CORBETT, W.T.; PAGE, R. L.; JANS, E.H. Thrombocytopenia associated with neoplasia in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 8, p. 400-405, 1994.

GUIDELINES FOR THE USE OS PLATELET TRANSFUSIONS. **British Journal of Haematology**, v. 122, p. 10-23, 2003.

HACKNER, S. G. Approach to the diagnosis of bleeding disorders. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 17, p. 331-349, 1995.

HALDANE, S.; ROBERTS, J.; MARKS, S. L.; RAFFE, M. R. Transfusion medicine. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.26, n.7, 2004.

HARREL, K.; PARROW, J.; KRISTENSEN, A. Canine Transfusion Reactions. Part I. Causes and Consequences. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 19, n.2, p. 181-190, 1997. a

HARREL, K.; PARROW, J.; KRISTENSEN, A. Canine Transfusion Reactions. Part II. Prevention and Treatment. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 19, n.2, p. 193-200, 1997. b

HARREL, K. A.; KRISTENSEN, A., T. Canine transfusion reactions and their management. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 25, n. 6, p. 1333-1361, 1995.

HARREL, K.; PARROW, J.; KRISTENSEN, A. Canine Transfusion Reactions. Part II. Prevention and Treatment. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 19, n.2, p. 193-200, 1997.

HEAL, J. M.; BLUMBERG, N. Optimizing platelet transfusion therapy. **Blood reviews**, v. 18, n. 3, p. 149-165, 2004.

HEDDLE, N. M. Pathophysiology of febrile nonhemolytic transfusion reactions. **Current Opinion in Hematology**, v. 6, p. 420-426, 1999.

HEDDLE, N. M.; BLAJCHMAN, M. A.; MEYER, R. M; LIPTON, J.H.; WALKER, I. R.; SHER, G.D.; CONSTANTINI, L. A.; PATTERSON, B.; ROBERTS, R.S.; THORPE, K.E.; LEVINE, M.N. A randomized controlled trial comparing the frequency of acute reactions to plasma-removed platelets and prestorage WBC-reduced platelets. **Transfusion**, v. 42, p. 556-566, 2002.

HEDDLE, N. M.; KLAMA, R.; MEYER, R. I; WALKER, L.; BOSHKOV, L.; ROBERTS, R. S.; PODLOSKY, L.; O'HOSKI, P.; LEVINE, M. A randomized controlled trial comparing plasma removal with white cell reduction to prevent reactions to platelets. **Transfusion**, v. 39, p. 231-238, 1999.

HEEDLE, N. M.; KLAMA, L. N.; SINGER, J.; RICHARDS, C.; FEDAK, P.; WALKER, I.; KELTON, J. G. The role of the plasma from platelet concentrates in transfusion reactions. **The New England Journal of Medicine**, v. 331, n. 10, 1994, p. 625-628.

HEDDLE, N.M.; KLAMA, L.N.; GRIFFITH, L. A prospective study to identify the risk factors associated with acute reactions to platelet and red cell transfusions. **Transfusion**, v. 33, n. 10, 1993.

HELFAND, S. C. Platelets and neoplasia. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 131-155, 1988.

HOHENHAUS, A. E. Transfusion reactions. In: FELDMAN, BF, ZENKL, JG, JAIN, NC. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5 ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 2000. p. 864-868.

HOUISSA, B.; ABDELKEFI, S.; BOUSLAMA, M. Fever-shivers reaction and standard platelet concentrates transfusion: a prospective study. **Transfusion Clinical Biology**, v. 10, n. 4, p. 271-4, 2003.

KLUTTER, H.; BUBEL, S.; KIRCHNER, H.; WILHELM, D. Febrile and allergic transfusion reactions after the transfusion of white cell poor platelet preparations. **Transfusion**, v. 39, p. 1179-1184, 1999.

KOOY, M. M.; PROOIJEN, H. C.; MOES, M.; BOSMA-STANTS, I.; AKKERMAN, J.W. Use of leukocyte depleted platelet concentrates for the prevention of refractoriness and primary HLA alloimmunization a prospective, randomized trial. **Blood**, v. 77, n. 1, p. 201-205, 1991.

KRISTENSEN, A.; FELDMAN, B.F. Bancos de sangue e medicina transfusional. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4.ed. W. B. Saunders Company, 1995, volume 1, 1495 p.

LANE, T. A.; ANDERSON, K. C.; LAWRENCE, T.; GOODNOUGH, L. T.; KURTZ, S.; MOROFF, G.; PISCIOTTO, P. T.; SAYERS, M. SILBERSTEIN, L. E. Leukocyte reduction em blood component therapy. **Annals of Internal Medicine**, v. 117, p. 151-162, 1992.

LEE, V. S.; TARASSENKO, L.; BELLHOUSE, B. J. Platelet transfusion therapy: platelet concentrate preparation and storage. **Journal Laboratory Clinical Medicine**, v. 111, n. 4, p. 371-383, 1988.

LEWIS, D. C. Disorders of platelet number. In: DAY, M. J.; MACKIN, A.; LITTLEWOOD, J. D. **BSAVA manual of canine and feline haematology and transfusion medicine**. 1. ed. England: British Small Animal Association, 2000, 320 p.

LIN, Y.; CALLUM, J. L.; COOVADIA, A. S.; MURPHY, P. M. Transfusion of ABO-nonidentical platelets is not associated with adverse clinical outcomes in cardiovascular surgery patients. **Transfusion**, v. 42, n. 11, p. 1527-1528, 2002.

MAIR, B.; BENSON, K. Evaluation of changes in hemoglobin levels associated with ABO-incompatible plasma in apheresis platelets. **Transfusion**, v. 38, n. 1, p. 51-55, 1998.

MANGANO, M. M.; LINDA, A.; CHAMBERS, L. A.; KRUSKALL, M. S. Limited efficacy of leukopoor platelets for prevention of febrile transfusion reactions. **American Journal Clinical Pathology**, v. 95, p.733-738, 1991.

MEINKOTH, J. H. and CLINKENBEARD, D. K. Normal hematology of the dog. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344 p.

MOLLISON, P. L.; ENGELFRIET, C. P.; CONTRERDS, M. The transfusion of platelets, leukocytes and plasma componentes. In: **Blood transfusion in clinical medicine**. 9. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993, 952p.

MOONEY, S. Preparation of blood components. **Problems in veterinary medicine**, v. 4, n. 4, p. 594-599, 1992.

MURPHY, S. ABO blood groups and platelet transfusion. **Transfusion**, v. 28, n. 5, p. 401-401, 1988.

MUYLLE, M. L.; WOUTERS, E.; DE BOCK, R.; PEETERMANS, M. E. Transfusion reactions to platelet concentrates: the effect of the storage time of the concentrate. **Transfusion Medicine**, v. 2, p. 289-293; 1992.

MUYLLE, M. L.; JOOS, E. M.; WOUTERS, E.; DE BOCK, R.; PEETERMANS, M. E. Increased tumor necrosis factor α (TNF α), interleukin 1, and interleukin 6 (IL-6) levels in the plasma of stored platelet concentrates: relationship between TNF α and IL-6 levels and febrile transfusion reactions. **Transfusion**, v. 33, n.1, p. 195-199, 1993.

MUYLLE, L.; PEETERMANS, M. E. Effect of prestorage leukocyte removal on the cytokine levels in stored platelet concentrates. **Vox Sanguinis**, v.66, p. 14-17, 1994.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Distúrbios da hemostasia. In: **Medicina interna de pequenos animais**. 2. ed., Guanabara Koogan, 1998, p. 939-940.

NORTHERN J.; TVEDTEN, H. W. Diagnosis of microthrombocytosis and immune mediated thrombocytopenia in dogs with thrombocytopenia : 68 cases (1987-1989). **Journal of the America Veterinary Medical Association**, v. 200, p. 368-372, 1992.

NOVAIS, A. A. **Prevalência dos antígenos eritrocitários caninos em cães domésticos (Canis familiaris) e investigação dos parâmetros hematológicos e da ocorrência de antígenos eritrocitários em lobos-guará (Chrysocyon brachyurus) e a cachorros-do-mato (Cerdocyon thous) criados no Brasil**. 63 f. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

NOVAIS, A. A. **Prevalência do grupo sanguíneo DEA 1 (subgrupos 1.1 e 1.2) em cães (Canis familiaris, Linnaeus, 1758)**. 49 f. Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

O'CONNELL, B.; LEE, E. J.; SCHIFFER, C. A. The value of 10-minute posttransfusion platelet counts. **Transfusion**, v. 28, n. 1, p. 66-67, 1988.

O'KEEF, D. A.; COUTO, G. Coagulation abnormalities associated with neoplasia. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 18, n.1, p. 157-168, 1988.

PATTERN, E. Controversies in transfusion medicine prophylactic platelet transfusion revisited after 25 years:con. **Transfusion**, v. 32, n. 4, p. 381-385, 1992.

PATTERSON, B. J.; FREEDMAN, J.; BLANCHETTE, V.; SHER, G.; PINKERTON, B.; HANNACH, B.; MEHARCAHND, J.; LAU, W.; BOYCE, N. PINCHEFSKY, E.; TASEV, T.; PINCHEFSKY, J.; POON, S.; SHULMAN, L.; MACK, K. P.; BLANCHETTE, N.;

GREENSPAN, D.; PANZARELLA, T. Effect of premedication guidelines and leukoreduction on the rate of febrile nonhaemolytic platelet transfusion reactions. **Transfusion Medicine**, v. 10, n. 3, p. 199-206, 2000.

PIERCE, R. N.; REICH, L. M.; MAYER, K. Hemolysis following platelet transfusions from ABO incompatible donors. **Transfusion**, v. 25, p. 60-62, 1985.

PISCIOTTO, P. T., CIAVARELLA, D., KURTZ, S. R., LANE, T. A., SNYDER, E. L. Terapêutica Transfusional – manual para médicos. **Associação Americana de Bancos de Sangue**, 4.ed, 1998.

PRUSS, A.; KALUS, U., RADTKE, H.; KOSCIELNY, J.; BAUMANN-BARETTI, B.; BALZER, D.; THOMAS, D.; SALAMA, A.; KIESEWETTER, H. Universal leukodepletion of blood components results in a significant reduction of febrile non-hemolytic but not allergic transfusion reactions. **Transfusion and Apheresis Science**, v.30, p. 41-46, 2004.

REBULLA, P. In vitro and in vivo properties of various types of platelets. **Vox Sanguinis**, v. 74, p. 217-222, 1998, supplement 2.

REBULLA, P. Trigger for Platelet Transfusion. **Vox Sanguinis**, v. 78, n. 2, p. 179-182, 2000.

REBULLA, P.; FINAZZI, G.; MARANGONI, F.; AWISATI, G.; GUGLIOTTA, L.; TOGNONI, G.; BARBUI, T.; MANDELLI, F.; SIRCHIA, G. The threshold for prophylactic platelet transfusions in adults with acute myeloid leukemia. **New England journal of Medicine**, v. 337, p.1870-1875, 1997.

ROSNER, B. **Fundamentals of Biostatistics**. 2.ed, Boston, PWS Publishers, 1986, 584p.

ROSSI, E. C.; SIMON, T. L. Thrombocytopenia and platelet transfusions. In: ROSSI, E. C.; SIMON, T. L.; MOSS, G. S.; GOLD, S. A. **Principles of transfusion medicine**. 2. ed, Baltimore: Williams and Wilkins, 1996, 952p.

SARKODEE – ADOO, C.; SCHIFFER, C. A. Platelet transfusion support for patients with cancer and hematologic malignancies. **Current Opinion in Hematology**, v. 3, p. 347-354, 1996.

SCHIFFER, C. A. Prophylactic platelet transfusion. **Transfusion**, v. 32, p. 295-298, 1992.

SCHIFFER, C. A.; LEE, E. J.; NESS, P. M.; REILLY, J. Clinical evaluation of platelet concentrates stored for one to five days. **Blood**, v. 67, p. 1591-1594, 1986.

SCHIFFER, C. A.; PATTEN, E.; REILLY, J.; PATEL, S. Effective leukocyte removal from platelet preparations by centrifugation in a new pooling bag. **Tranfusion**, v. 27, n. 2, p. 162-164, 1986.

SLICHTER, S. J. Platelet transfusion therapy. **Hematology Oncology Clinical North America**, v. 4, n. 1, p. 291-311, 1990.

SLICHTER, S. J.; O'DONNELL, M. R.; WEIDEN, P. L.; STORB, R.; SCHROEDER, M. Canine platelet alloimmunization: a role of donor selection. **British Journal Haematology**, v. 63, p. 713-727, 1986.

SNYDER, L.E.; JUDGE, J.V.; STACK, G. Febrile and Nonimmune .Transfusion Reactions. In: ROSSI, E.C.; SIMON, T.L.; MOSS, G.S.; GOLD, S.A. **Principles of transfusion medicine**. 2. ed, Baltimore: Williams and Wilkins, 1996, 952p.

SOUZA, S. L. **Estudo da frequência dos grupos sanguíneos DEA 1 e DEA 7 em cães de diferentes raças como subsídio à implantação de banco de sangue canino na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**. 56f. Dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2005.

TIMM, N.H. **Multivariate Analysis with Applications in Educations and Psychology** Monterrey, CA Brooks/Cole, 1975. 687p.

TIZARD, I.R. Imunidade inata: Inflamação. **Imunologia Veterinária – uma introdução**. 6. ed W.B. Saunders Company, 2002, 532 p.

ULATA, S. K. **Determinação *in vitro* da atividade do Fator de Necrose Tumoral (TNF) em concentrados de plaquetas de cães. Fracionamento do sangue total. Banco de Sangue Veterinário**. 113 f. 2005, 113p. Dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2005.

WADDLE, J. R. and LITTMAN, M. P. A retrospective study of 27 cases of naturally occurring canine ehrlichiosis. **Journal of the America Animal Hospital Association**, v. 24, p. 615-620, 1988.

WANER, T.; HARRUS, S.; BARK, H.; BOGIN, E.; AVIDAR, Y.; KEYSARY, A. A chracterization of the subclinical phase canine ehrlichiosis in experimentally infected Beagle dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 69, p. 307-317, 1997.