

Plasmaférese automatizada em equino: relato de procedimento

Automated plasmapheresis in horse: report of proceeding

Pierre Barnabé Escodro,* Juliana de Oliveira Bernardo,** Lucinéia de Oliveira Escodro,*** Eduardo Gasparotto Roveri,****
Lucas Santana da Fonseca,***** Ticiano Gomes do Nascimento*****

Resumo

A plasmaférese tem-se mostrado uma técnica eficaz no tratamento de doenças em equinos. Em Medicina Veterinária, a utilização da técnica manual de plasmaférese é descrita na espécie equina para produção de soros hiperimunes e de imunoglobulinas específicas, porém, apresenta tempo prolongado na recuperação dos índices hematimétricos. O uso do plasma hiperimune nesta espécie está sendo difundida na Clínica Médica para tratamento de animais com deficiências na hemostasia, transferência de imunidade passiva e hipoproteinemia ou hipovolemia. Para isto, deve-se ter um grande número de doadores visando aumento na produção comercial de plasma. Este artigo apresenta o relato de um procedimento automatizado de plasmaférese na espécie equina, evidenciando a rápida recuperação do animal durante o procedimento através da mensuração dos valores de hematócrito e proteína total, bem como as intercorrências e metodologia utilizada.

Palavras-chave: automação, equino, plasmaférese, plasma hiperimune.

Abstract

The plasmapheresis has been shown to be an effective technique in the treatment of diseases in horses. In Veterinary Medicine, the manual plasmapheresis in this species is described for the production of hyperimmune serum and specific immunoglobulins, however, has prolonged time in the recovery of hematimetric indices. The use of hyperimmune plasma in these species is widespread in clinical medicine for the treatment of animals with defects in hemostasis, transfer of passive immunity or hypoproteinemia and hypovolemia. For this, one must have a large number of donors seeking an increase in the commercial plasma production. This article presents an account of an automated procedure of plasmapheresis in horses, evidencing the speedy recovery of the animal during the procedure through the measurement of the values of the hematocrit and total protein, as well as the complications and methodology used.

Keywords: automation, equine, plasmapheresis, hyperimmune plasma.

Introdução

A plasmaférese é uma técnica que consiste na retirada de sangue de um doador, seguida por separação do plasma e reintrodução dos demais hemocomponentes na circulação. A utilização experimental da plasmaférese em equinos na produção de soros hiperimunes teve início em 1969, na Índia, o que causou, após alguns anos de experimentação, a padronização da técnica manual para a espécie equina (Feige et al., 2003; Parra, 2005). Atualmente, a técnica ainda é realizada de forma manual na espécie, objetivando a produção de vacinas e soros ou plasmas hiperimunes. Para a obtenção manual do plasma hiperimune realiza-se a colheita de sangue total ou sangria de produção do equino doador, aguardando a hemossedimentação por 24 horas, momento em que os hemocomponentes sedimentados são diluídos em solução fisiológica de cloreto de sódio 0,9% e

reinfundidos no próprio animal. Após a plasmaférese manual, os animais ficam em repouso cerca de dois meses, em regime extensivo, para recuperação dos índices hematimétricos (Parra, 2005).

O uso do plasma congelado apresenta-se como opção no tratamento de diversas doenças na clínica médica e cirúrgica de equinos. Entre as suas indicações encontram-se: as enfermidades que resultam em hipoproteinemia; situações clínicas que apresentam necessidade de expansão aguda de volemia; transferência de imunidade passiva para neonatos imunodeprimidos, equinos com peritonite; e fornecimento de imunidade específica, como nos casos das infecções por *Rhodococcus equi* e *Salmonella typhimurium* (Hunt e Moore, 1990; Smith e Sherman, 1994; Durham, 1996; Collatos, 1997; Stoneham, 1997).

*Professor Adjunto do Curso de Medicina Veterinária e Líder do Grupo de Pesquisa em Equídeos da Universidade Federal de Alagoas (GRUPEQUI-UFAL). Rod. José Ayrigio Vilela s/n-Fazenda São Luiz- CEP.: 57 700 000. Viçosa-AL. Autor para correspondência: pierre.vet@gmail.com.

** Graduanda em Medicina Veterinária –UFAL e bolsista PIBIT-CNPq.

*** Biomédica pesquisadora do GRUPEQUI-UFAL.

**** Biomédico Especialista do HEMOCENTRO – Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP-SP.

***** Graduando em Medicina Veterinária – UFAL.

***** Professor Adjunto da Escola de Enfermagem e Farmácia (ENSEFAR)-UFAL.

A plasmaférese automatizada já é uma realidade na Medicina, sendo feita com um circuito plástico descartável e estéril acoplado ao equipamento de aférese, o qual separa o plasma por centrifugação e imediatamente retorna ao doador, tornando o procedimento mais seguro e livre de contaminação. Feige et al. (2003) foram os primeiros a relatar a plasmaférese automatizada em equinos, concluindo que os animais toleraram bem a técnica, com maior pureza do produto e rapidez do procedimento.

As principais complicações da plasmaférese automatizada são relacionadas com as manifestações anafiláticas inerentes ao anticoagulante, tal como hipocalcemia, prurido, pápulas, blefarodema, blefaroespasmos, lacrimejamento, miofasciculações generalizadas ou ruídos respiratórios anormais, conforme relatado por Shane (1999).

Na tentativa de reproduzir a técnica de Feige et al. (2003) e Feige et al. (2005) para a produção de plasma hiperimune para equinos, o presente relato de procedimento objetiva descrever a primeira coleta automatizada de plasma hiperimune em equinos no Brasil, avaliando a recuperação do hematócrito e proteínas totais após a coleta, bem como apresentar as intercorrências durante a execução da técnica.

Relato do procedimento

Foi selecionado um equino hígado, macho, sem raça definida, com sete anos de idade e peso corporal de 354 kg, de propriedade do Grupo de Pesquisa e Extensão em Equídeos da Universidade Federal de Alagoas (GRUPEQUI-UFAL).

O animal foi previamente desverminado com pasta à base de moxidectina 2% na dose de 0,4 mg/kg (Equest – Fort Dodge Animal Health-Iowa, EUA) e após sete dias imunizado contra encefalomielite tipo Leste e Oeste (vírus morto) e toxóide tetânico (Equiloid Innovator – Fort Dodge Animal Health – Iowa, EUA); rinopneumonite e influenza (Fluvac Innovator EHV 4/1 – Fort Dodge Animal Health – Iowa, EUA) e Raiva (Rubivac – Pfizer Saúde Animal – Guarulhos, Brasil). Após 28 dias da primovacinação reforçou-se a imunização e as plasmaféreses automatizadas realizaram-se após 20 dias da segunda vacinação, momento em que Souza (2011) cita o pico da reação imunológica para obtenção do plasma hiperimune.

Após adequada antisepsia das veias jugulares com álcool 70%, foram coletadas amostras sanguíneas por meio de venopunção da jugular externa esquerda para mensuração do hematócrito e proteínas totais (Htc e PT) nos momentos: imediatamente antes da plasmaférese (M1) e 24 (M2), 72 horas (M3), 96 horas (M4) e 30 dias (M5) após a mesma. Os valores do Htc e PT no momento pré-plasmaférese foram respectivamente de 34% e 8,3 g/dL. O animal foi mantido em tronco de contenção, sem utilização de tranquilizantes (Figura 1). Para cálculo do volume do plasma a ser coletado, considerou-se o volume sanguíneo total de 8% do peso vivo (28320 ml) e Htc de 34% (mensuração em M1), propiciando-se a retirada desejada de até 3738,24 mL de plasma do animal.

Para a realização da plasmaférese automatizada, realizada no Ambulatório Experimental do GRUPEQUI-UFAL localizado na Fazenda São Luís na cidade de Viçosa (AL), utilizou-se um equipamento de aférese Fresenius AS104, o mesmo utilizado por Feige et al. (2005), acoplado ao kit PL1 para a realização da coleta do plasma de acordo com recomendações do fabricante. O equipamento funciona por meio da separação dos

componentes por centrifugação, onde o sangue anticoagulado presente no circuito sofre ação de uma força centrífuga e ocorre a sedimentação de camadas devido à densidade dos hemocomponentes. Baseado em Feige et al. (2003), utilizou-se inicialmente a proporção de citrato de sódio 1:12 e fluxo sanguíneo de retirada de 50 mL por minuto para evitar a coagulação extracorpórea, sendo que para reposição do volume de plasma produzido, optou-se pela utilização de solução fisiológica cloreto de sódio 0,9% em fluxo contínuo, a partir do mesmo volume coletado de plasma discriminado no equipamento.

Devido aos relatos de colapamento de cateteres decorrentes da pressão de sucção do equipamento na via de colheita, utilizou-se agulha 40X16 (Prod.Hospitalares DI-Belo Horizonte, Brasil), no sentido próximo-distal, para a punção e manutenção da veia jugular esquerda (via de coleta), fixando-a com ponto simples; a veia jugular direita foi submetida ao cateterismo e denominada via de reinfusão, com cateter 14 G intravenoso de uso periférico, fabricado a partir de etileno-tetra-fluoretileno (TEFLON-ETFE) com 2,2 mm de diâmetro externo, 1,74 mm de diâmetro interno e 50 mm de comprimento (Nipro Medical Ltda-Sorocaba, Brasil), fixado da mesma forma que a via de colheita (Feige et al., 2003; Motta, 2011). O sangue total era retirado pela via de coleta e o plasma separado, por centrifugação, e acondicionado em bolsa de coleta de 5 litros. Os demais hemocomponentes retornavam ao animal em fluxo contínuo, simultaneamente à coleta, sem contaminação ou manipulação direta do sangue.

Para mensuração da PT, utilizou-se kit Proteínas Totais (Labtest Diagnóstica S/A – Lagoa Santa, Brasil), utilizando-se de espectrofotômetro Photonics 2000UV (Bel Equipamentos Analíticos Ltda. – Piracicaba, Brasil) seguindo as recomendações do fabricante. O Htc foi obtido pelo método de micro-hematócrito descrito por Goldenfarb et al. (1971).



Figura 1: Animal em tronco de contenção durante o procedimento de plasmaférese automatizada

Para avaliação dos resultados foram utilizados valores de referência de hemograma para a espécie segundo Souza Netto (2011), sendo considerados normais hematócritos entre 32 e 48%, e valores de referência de proteínas totais do plasma de 5,2 a 7,9g/dL, segundo Pardini (2011).

Durante os primeiros 40 minutos do procedimento, ocorreram diversas obstruções no fluxo sanguíneo na via de reinfusão, devido a hemoconcentração, além de quatro perdas da via de acesso de retirada (com agulha 40X16). Para resolução das intercorrências, optou-se pelo aumento da proporção de citrato de sódio no sistema (1:10), além da utilização de solução salina contendo heparina sódica (na proporção de 25000 UI de heparina em 500ml de solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9 %) diretamente no cateter de reinfusão a cada 300 a 400 mL de colheita. Em relação à via de coleta sanguínea, a veia foi cateterizada também com cateter 14 G, retirando-se a agulha 40 X16. Mesmo assim, após uma hora e 30 minutos de procedimento, a região de veia jugular esquerda apresentou-se tumefeita, com punção dolorosa e fluxo sanguíneo diminuído, indicando flebite. Também o fluxo de reinfusão na jugular direita continuou com resistência e diminuído, dificultando a dinâmica do procedimento e resultando na interrupção do mesmo após uma hora e trinta e quatro minutos.

O volume total de sangue processado pelo equipamento foi de 5859 mL, com obtenção de 3502 mL de plasma, o que representou 9,89 mL/kg (Figura 2), menor do que o previsto na metodologia.

Em relação aos índices hematimétricos, o Htc foi de 30% em M2, 31% em M3, 33% em M4 e 32% em M5 (Figura 3). As proteínas totais apresentaram valores de 6,5 g/dL em 24 horas, 6,8g/dL em 72 horas, 7,8 g/dL em 96 e 8,8 g/dL em 30 dias (Figura 4). A recuperação do Htc foi de 97,06 % em 96 horas e de PT foi de 93,97% em 96 horas. O paciente não apresentou nenhuma manifestação anafilática associada ao citrato de sódio conforme relatado por Shane (1999).



Figura 2: Plasma coletado durante uma sessão de plasmáfese automatizada em equino.

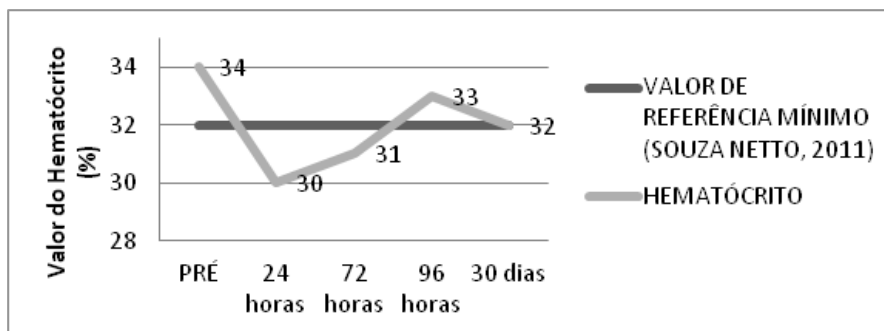


Figura 3: Valores do Hematócrito (%) encontrados durante as coletas nos momentos: M1 = pré, M2 = 24 horas após, M3 = 72 horas após, M4 = 96 horas após e M5 = 30 dias após; comparados com os valores de referências mínimo para a espécie segundo SOUZA NETTO (2011).

Discussões e conclusão

Aplasmáfese automatizada mostrou ser uma técnica exequível com a utilização do equipamento Fresenius modelo AS104, não havendo necessidade de sedação do animal, porém, a não reprodução da técnica citada por Feige et al. (2003) e Feige et al. (2005) ocasionou as complicações associadas à diminuição de fluxo sanguíneo de coleta e obstrução no sistema extracorpóreo, causando flebite no doador, impedindo a colheita do volume de plasma preconizado. O animal não apresentou nenhum sinal clínico de manifestação anafilática associado ao anticoagulante, mesmo com o aumento da proporção de citrato de sódio de 1:10 no sistema extracorpóreo.

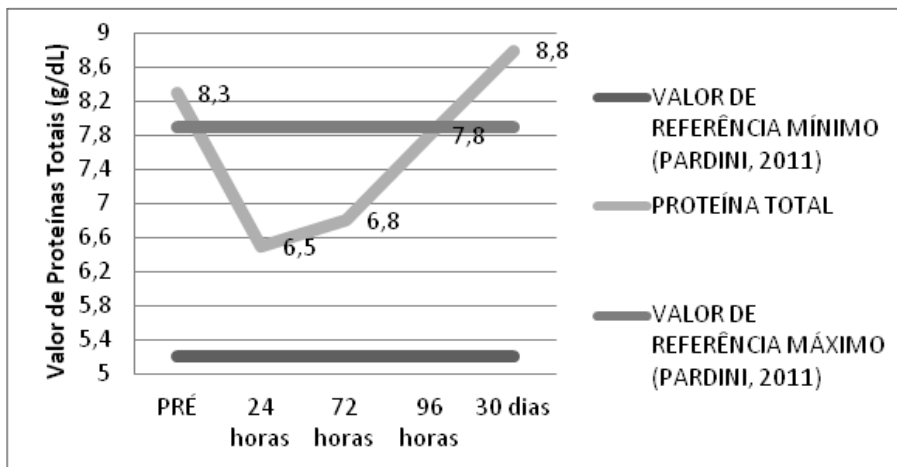


Figura 4: Valores da Proteína Total (PT) encontrados durante as coletas nos momentos: M1 = pré, M2 = 24 horas após, M3 = 72 horas após, M4 = 96 horas após e M5 = 30 dias após; comparados com os valores de referências mínimo para a espécie segundo PARDINI (2011).

Feige et al. (2003) preconizou a retirada de 20 mL de plasma/kg de peso vivo, porém, nesse relato preconizou-se a retirada de 20% do plasma circulante, conforme procedimento padrão do Hemocentro da Unicamp, que resultava na colheita de 10,56 mL/kg. Porém, devido às complicações, o volume retirado foi de 9,89 mL/kg.

Referências

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

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

FEIGE, K.; EHRAT, F.B. KASTNER, S.B.R.; SCHWARZWALD, C.C. Automated Plasmapheresis compared with other plasma collection methods in the horse. *J. Med. Vet.*, v. 50, p. 185-189, 2003.

FEIGE, K.; EHRAT, F.B. KASTNER, S.B.R.; WAMPLER. The effects of automated plasmapheresis on clinical haematological, biochemical and coagulation variables in horses. *The Veterinary Journal*, v. 168, p. 102-107, 2005.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 56, n. 1, p. 35-39, 1971.

HUNT, E.; MOORE, J.S. Use of blood and blood products. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 6, n.1, p. 133-147, 1990.

MOTTA, I. Aférese terapêutica. In: VII Curso de Educação Médica Continuada, 2007. Disponível em: <http://www.cremerj.org.br/palestras/506.PDF> Acesso em: 03 Ago 2011.

Em relação aos índices hematimétricos, pode-se concluir que a recuperação de hematócrito ocorreu em 72 horas e dos níveis séricos de PT com 96 horas, resultados satisfatórios em relação à técnica manual citada por Parra (2005), onde a recuperação ocorre em cerca de 60 dias.

PARDINI, H. Manual de Bioquímica Veterinária. Hermes Pardini Veterinária. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/61465262/MANUAL-BIOQUIMICA-VET> Acesso em: 27 Set 2011.

PARRA, A.C. Variações da crase sanguínea durante a hiperimunização e após sangria e plasmaférese em equinos de produção de soro hiperimune anticrotático. São Paulo: A.C. Parra, 2005. 134 f. Dissertação de mestrado – Universidade de São Paulo Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Clínica Médica.

SHANE, E.S. Hypocalcemia: pathogenesis, differential diagnosis, and management. In: *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 1999, p. 223-226.

SMITH, M.C.; SHERMAN, D.M. Blood, lymph and immune systems. In: *Goat medicine*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994, p. 193-230.

SOUZA, G.; Imunizações. Disponível em: [HTTP://: www.ebah.com.br/content/ABAAAkfgAK/imunizações](http://www.ebah.com.br/content/ABAAAkfgAK/imunizações) Acesso em: 13 Ago 2011.

SOUZA NETTO, B. A. Valores de referência – hemograma equino. In: *Laborlife veterinária*. Disponível em: <http://www.laborlife.com.br/exames/hematoref.html> Acesso em: 12 Ago 2011.

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