

DESENVOLVIMENTO DE UM PROTÓTIPO DE PULMÃO ARTIFICIAL PARA USO EM CÃES (*Canis familiaris*): ESTUDO EXPERIMENTAL*

Alessandra Castello da Costa¹⁺, Antônio Peixoto Albernaz², Jussara Peters Scheffer¹, Fabiane Azeredo Atallah¹, Guilherme Alexandre Soares Monteiro¹, Renato Moran Ramos¹, Saulo Jose Quina Silva³ e André Lacerda de Abreu Oliveira²

ABSTRACT. Costa A.C., Albernaz A.P., Scheffer J.P., Atallah F.A., Monteiro G.A.S., Ramos R.M., Silva S.J.Q. & Oliveira A.L.A. [**The development of an artificial lung prototype for use in dogs - experimental study**]. Desenvolvimento de um protótipo de pulmão artificial para uso em cães (*Canis familiaris*): Estudo experimental. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(Supl. 1):1-11, 2013. Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, CCTA, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego, 2000, Sala 207-A, Parque California, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602, Brasil. E-mail: alessandrastello@gmail.com

Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) is a condition increasingly diagnosed and treated in small animals. In those patients not responsive to conventional treatments extracorporeal oxygenation of the blood can be used, providing rest for the affected organ while waiting for the recovery of the original pathological process. However, despite being considered advanced and feasible in the treatment of dogs, this life support therapy is still in its initial phase. Despite its inherent complexity, Brazil is pioneering the use of this technique in dogs, while facing the obstacle of the high cost of treatment, especially of the membrane oxygenators, originally manufactured for use in humans. This experimental study developed an artificial lung prototype economically viable, easy to use and with results that may offer support in oxygenation and CO₂ removal in veterinarian small patients. After the jugular venous access of six mongrel dogs (*Canis familiaris*), all adults and females, oxygenators were filled with venous blood through the cannula disposed in the upper side opening. Blood samples were collected at three different times: before the oxygenator was filled with blood at the same point of the blood entrance, immediately after completion and one minute after the blood being oxygenated, both collected in the lower side opening. The parameters evaluated were hematocrit, blood gases and lactate. The results demonstrated that there was a hemodilution of the samples due to the use of heparinized crystalloid prime solution, promoting a decrease of the parameters pH, tCO₂, HCO₃⁻, BE and lactate. However, the significant increase in the pO₂ and sO₂ showed blood oxygenation capacity of the apparatus, as well as decreased pCO₂ values. The proposed artificial lung was feasible for oxygenation and removal of CO₂ from the venous blood, using a volume of 5 liters of O₂ per minute at 100% FiO₂.

KEY WORDS. Blood, oxygen, carbon dioxide, blood gas analysis, membrane oxygenators, ECMO, respiratory failure, dogs.

*Recebido em 13 de Abril de 2013.

Aceito para publicação em 23 de setembro de 2013.

¹ Médico-veterinário, MSc. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Av. Alberto Lamego 2000, Horto, Campos dos Goytacazes, RJ 25959-215, Brasil. ⁺ Autora para correspondência. E-mail: alessandrastello@gmail.com, E-mails: fabiane-vet@hotmail.com, drguilherme@cannegatto.com.br

² Médico-veterinário, DSc. Laboratório de Clínica e Cirurgia Animal, CCTA, UENF, Av. Alberto Lamego 2000, Horto, Campos dos Goytacazes, RJ 25959-215. E-mails: albernaz@uenf.br, andrevet@uenf.br

³ Curso de Medicina Veterinária, CCTA, UENF, Av. Alberto Lamego 2000, Horto, Campos dos Goytacazes, RJ 25959-215. E-mail: sauloquiina@gmail.com

RESUMO. A Síndrome da Angústia Respiratória Aguda (SARA) é uma condição cada vez mais diagnosticada e tratada em pequenos animais. Naqueles pacientes não responsivos aos tratamentos convencionais é possível oxigenar extracorporealmente o sangue, promovendo descanso do órgão acometido enquanto se aguarda a recuperação do processo patológico de origem. No entanto, a oxigenação extracorpórea em cães, como terapia de suporte à vida encontra-se ainda em sua fase inicial de implantação. O Brasil é o país pioneiro na aplicação desta técnica, e um dos obstáculos para a sua popularização está, além de sua complexidade, o elevado custo do tratamento, principalmente devido aos oxigenadores de membranas, fabricados originalmente para a utilização de seres humanos e que são descartáveis. Tem-se por objetivo o desenvolvimento de um protótipo de pulmão artificial economicamente viável, de fácil uso e com resultados que possam oferecer suporte na oxigenação e na remoção de CO_2 em pacientes veterinários de pequeno porte. Após o acesso venoso da jugular de seis cães (*Canis familiaris*) adultos, fêmeas e sem raça definida, os oxigenadores foram preenchidos com sangue venoso pela abertura lateral superior através da própria cânula de coleta sanguínea. Foram coletadas amostras sanguíneas em três diferentes momentos: antes de o sangue preencher o oxigenador, pelo mesmo ponto de entrada do sangue; imediatamente após o seu preenchimento e 1 minuto depois de ser oxigenado, ambas as coletas realizadas na abertura lateral inferior. Os parâmetros avaliados foram o hematócrito, a gasometria e o lactato. Os resultados demonstraram que houve uma hemodiluição das amostras analisadas devido ao uso do *prime* de solução cristalóide heparinizada, promovendo a queda brusca dos parâmetros pH, tCO_2 , HCO_3^- , EB e lactato. No entanto, o acréscimo significativo da sO_2 e pO_2 evidenciaram a capacidade de oxigenação sanguínea proporcionado pelo aparelho, assim como houve redução nos valores da pCO_2 . O pulmão artificial proposto mostrou-se viável para a oxigenação e remoção do CO_2 do sangue venoso, utilizando-se um volume de 5 litros de O_2 por minuto a uma FiO_2 de 100%.

PALAVRAS-CHAVE. Sangue, oxigênio, dióxido de carbono, gasometria, oxigenadores de membrana, ECMO, falência respiratória, cães.

INTRODUÇÃO

A Síndrome da Angústia Respiratória Aguda (SARA), resposta inflamatória importante a uma

injúria pulmonar ou sistêmica, resulta em edema pulmonar não-cardiogênico (Wilkins et al. 2007), hipoxemia e alterações importantes da função pulmonar (Hamid et al. 2011), conduzindo a diferentes graus de comprometimento respiratório (Kelmer et al. 2012). Recentemente, por ocasião da epidemia do vírus influenza A (H1N1), a SARA causada pelo vírus atingiu níveis pandêmicos em seres humanos (Azevedo et al. 2011). Desde então, diversos casos de diagnóstico de contaminação por este agente etiológico já foram confirmados em animais de companhia e as mesmas complicações pulmonares provocadas em seres humanos têm sido observadas nestes pacientes (Dundon et al. 2010, Swenson et al. 2010).

São inúmeros os artigos experimentais sobre SARA em animais, mas a publicação em Medicina Veterinária ainda é escassa. No entanto, um número crescente de pacientes veterinários, especialmente caninos e felinos, tem sido tratado em unidades de terapia intensiva para esta condição (Wilkins et al. 2007).

Em seres humanos, a oxigenação extracorpórea por membrana (ECMO), método avançado de suporte à vida (Costa et al. 2008), vem sendo cada vez mais considerada para o tratamento da SARA (Hamid et al. 2011), auxiliando os pulmões e/ou o coração quando estes apresentam-se não responsivos aos tratamentos convencionais (Ferreira et al. 2012). O objetivo é promover a perfusão dos tecidos com sangue oxigenado enquanto se aguarda a recuperação do processo patológico de origem (Colafranceschi et al. 2008, Hamid et al. 2011).

A ECMO ainda não é aplicada rotineiramente na Medicina Veterinária (Costa et al. 2008). O Brasil é o país pioneiro no uso desta técnica em cães, que vem sendo inserida gradativamente por Costa et al. (2008), Ferreira et al. (2010) e Ferreira et al. (2011) em animais desta espécie com insuficiência respiratória aguda, potencialmente reversível, e em estudos experimentais. Apesar de seu caráter invasivo, a ECMO vem sendo considerada uma opção viável para tratar cães que apresentam quadros dessa natureza (Ferreira et al. 2010).

Apesar do estabelecimento progressivo de protocolos para a aplicação da oxigenação extracorpórea por membrana em cães com SARA, os custos referentes à implantação desta terapia de suporte à vida podem ser impeditivos na rotina da maioria das clínicas e hospitais veterinários do país devido, em grande parte, ao elevado valor comercial do oxigenador de membranas necessário para a sua im-

plantação. Ao propor um novo modelo de pulmão artificial este estudo poderá, em algum grau, contribuir para a acessibilidade da técnica em pacientes de pequeno porte com afecções pulmonares que comprometam a hematose, principalmente quando os demais tratamentos falharem.

De maneira geral, objetiva-se avaliar a oxigenação sanguínea promovida por um novo modelo de oxigenador de bolhas, tendo como objetivos específicos de mensurar o hematócrito, a gasometria e o lactato de amostras do sangue oxigenado pelo dispositivo testado. A hipótese levantada pelo presente estudo é a de que o protótipo de pulmão artificial avaliado seja capaz de oxigenar o sangue de maneira adequada e, desta maneira, contribuir para a popularização da oxigenação extracorpórea em pacientes veterinários de pequeno porte com SARA.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Setor de Patologia Clínica do Hospital Veterinário e na Unidade de Experimentação Animal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, no município de Campos dos Goytacazes, RJ. O modelo experimental adotado foi o cão (*Canis familiaris*), pela familiaridade da equipe com o manejo da espécie e por atender fisiologicamente ao propósito do estudo. Participaram deste estudo seis animais, todos fêmeas, adultas e saudáveis.

Os princípios éticos do uso de animais para experimentação foram respeitados, de acordo com a legislação vigente (Lei 11.794, de 08.10.2008). As cadelas ficaram aos cuidados de um veterinário responsável, foram alojadas em baias coletivas e receberam ração comercial duas vezes ao dia e água *ad libitum*. Não houve provocação de dor ou sofrimento. Mesmo com o curto período de manuseio dos animais, o acesso a cuidados veterinários estiveram disponíveis em todas as etapas de maneira que poderiam ser empregados em caso de necessidade. O presente projeto de pesquisa experimental foi submetido à avaliação do Comitê de Experimentação e Uso de Animais da Universidade Estadual do Norte Fluminense, sob o número de protocolo 038, sendo aprovado.

Um hemoconcentrador (**Hemocor HPH[®] 400**, Minntech) foi adaptado para servir como um reservatório cilíndrico de sangue para o protótipo de oxigenador de bolhas. O hemoconcentrador é utilizado para evitar a hemodiluição de pacientes submetidos a procedimentos que envolvem a circulação extracorpórea. Originalmente, este dispositivo remove uma grande quantidade de líquido plasmático e seus solutos dissolvidos, conservando os elementos celulares e proteínas do plasma. Para tanto, possui em seu interior uma membrana semipermeável de polissulfina, biocompatível, que, no entanto, foi retirada para o presente estudo, já que o intuito era utilizar o aparelho apenas como base para o oxigenador de bolhas proposto.

Com um diâmetro interno da unidade de 3cm e comprimento total de 13,8cm, em seu interior foi disposta, em forma de novelo, 40cm de uma cânula flexível oriunda de um equi-

po macrogotas (Embramed), sendo ela composta de cloreto de polivinila (PVC) flexível. Uma de suas extremidades permaneceu externamente ao dispositivo, em sua saída superior, sendo conectada à fonte de O₂. A outra permaneceu em seu interior, com a luz obliterada com o auxílio de quatro *endoclips* de 5mm de titânio (Strattner) (Figura 1). Esta cânula funcionaria como um dispersor de gás e recebeu, previamente, 400 furos de aproximadamente 0,33mm de diâmetro cada um, executados manualmente com o auxílio de uma agulha de insulina tamanho 29G (BD-Becton e Dickison) (Figura 2).

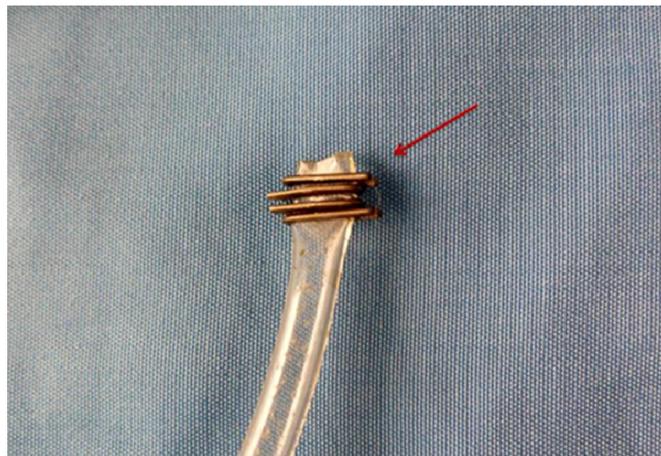


Figura 1. Extremidade de cânula de cloreto de polivinila flexível obliterada com o auxílio de quatro endoclips de 5mm titânio. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2013. Arquivo pessoal.

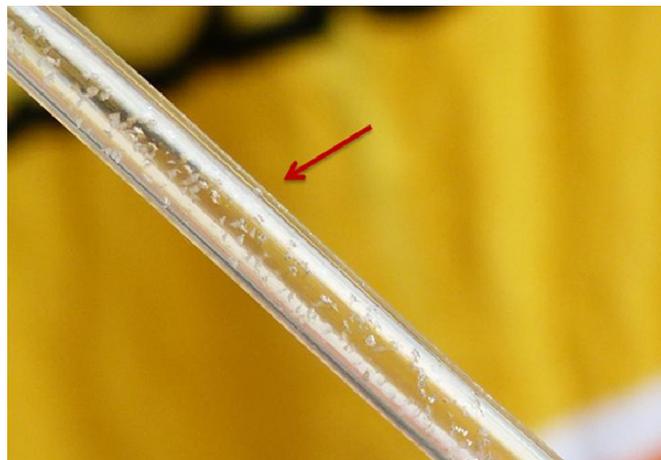


Figura 2. Dispersor de bolhas com 400 orifícios realizados com o auxílio de uma agulha 29G. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2013. Arquivo pessoal.

Uma segunda entrada, lateral superior, serviu para o ingresso do sangue no dispositivo. A ela foi conectada o fragmento inicial de um equipo macrogotas, mais precisamente a lanceta perfurante próxima à câmara de visualização de gotejamento. Com o auxílio de uma torneira de três vias, esta pequena parte do equipo foi conectada a uma cânula flexível de 106cm, com agulha de 88,2mm de comprimento, diâmetro externo de 4,06mm e interno de 2,7mm, que faria o acesso venoso no animal. Esta cânula, originária de uma bolsa de coleta de sangue (JP Indústria Farmacêutica), também é composta

de PVC flexível. Este material, usado tanto no dispersor de O_2 quanto no equipo macrogotas e na cânula de coleta do sangue, é muito utilizado em produtos médico-hospitalares por ser leve passível de esterilização, impermeável a gases e líquidos, resistente a fungos e bactérias e capaz de conservar as propriedades do sangue. Após a montagem, o protótipo de pulmão artificial a ser testado foi devidamente autoclavado e, posteriormente, fechado com o auxílio de fita adesiva (Figura 3).

A anticoagulação sanguínea foi estabelecida no *prime* do dispositivo através da adição de 1ml com 5.000UI de heparina sódica (Heparin®, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.) em 35ml de solução de NaCl a 0,9%.

Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito. Após a antissepsia do local, realizou-se a canulação da veia jugular até o preenchimento do dispositivo testado (Figura 4) com o volume sanguíneo de 68ml, após o que iniciou-se a oxigenação do sangue com FiO_2 de 100% e fluxo de 5 litros de O_2 por minuto, durante 1 minuto. Durante todo o período, certificou-se de que o aparelho e todas as ligações estavam em perfeito funcionamento e livres de vazamentos.

As amostras sanguíneas foram coletadas diretamente do pulmão artificial de acordo com os tempos de coleta pré-estabelecidos: A - antes de o sangue passar pelo oxigenador; B - depois de o sangue preencher o dispositivo, porém sem rece-

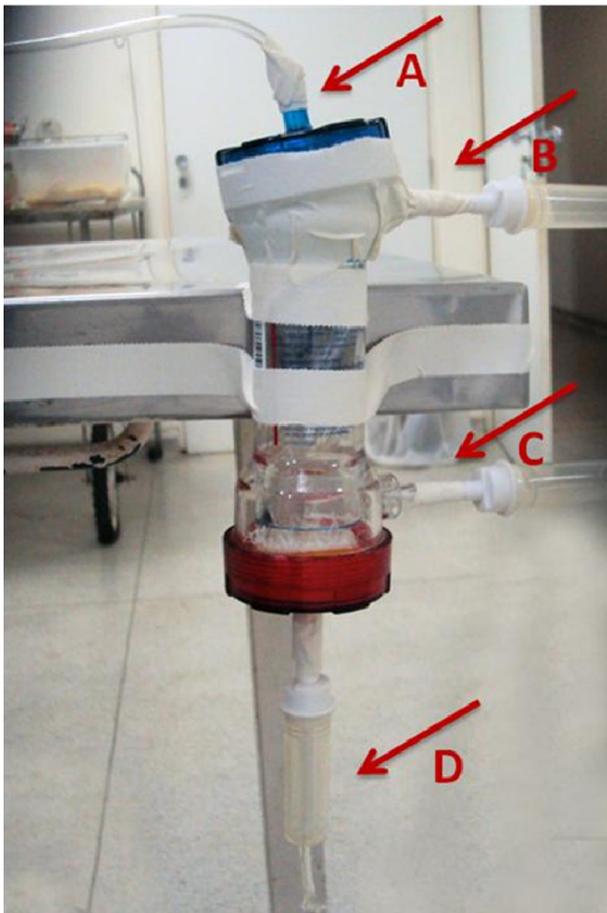


Figura 3. Protótipo de pulmão artificial. A - Entrada para o O_2 . B - entrada do sangue e conexão para coleta de amostras sanguíneas. C - Conexão para coleta de amostras sanguíneas. D - Saída obliterada. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2013. Arquivo pessoal.



Figura 4. Canulação da veia jugular de cadela. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2013. Arquivo pessoal.

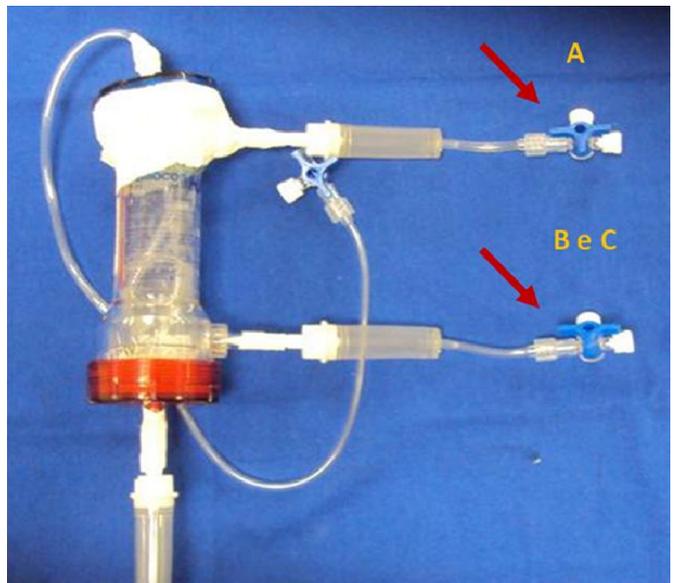


Figura 5. Locais e momentos de coleta das amostras sanguíneas. A - Antes de o sangue passar pelo oxigenador. B - depois de o sangue preencher o dispositivo sem receber oxigênio. C - 1 minuto após o início da oxigenação sanguínea. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2013. Arquivo pessoal.

ber O_2 e C - 1 minuto após o início da oxigenação sanguínea. Os locais e os momentos de coleta das amostras sanguíneas são assinalados na Figura 5. Houve rigor nestes procedimentos, com a utilização de luvas de procedimento e seringas descartáveis. O processamento das amostras foi imediato.

Os parâmetros avaliados de cada amostra sanguínea foram: hematócrito, hemogasometria (pH, pCO_2 , pO_2 , EB, tCO_2 e sO_2) e lactato. Para a avaliação do hematócrito e da gasometria/lactato, coletou-se 1ml de sangue em seringa de 1ml, em um total de duas seringas, respectivamente. Diante da heparinização do sangue presente no oxigenador, não foi necessário utilizar frasco com anticoagulante nos momentos B e C. No momento A, como o sangue ainda não havia entrado em contato com o *prime* heparinizado, realizou-se o procedimento de umidificação do êmbolo e da seringa, desprezando-se o conte-

údo, restando apenas o volume do anticoagulante presente em seu espaço morto.

A mensuração do hematócrito foi feita através do método de centrifugação e, para o processamento da hemogasometria e do lactato, utilizou-se o analisador sanguíneo portátil *i-STAT Point of Care*® (Abbot). O sistema empregado requer a utilização de cartuchos de uso único dotados de tecnologia de microssores, sendo o CG4+ o modelo utilizado nos experimentos, fornecendo os resultados dos parâmetros pH, pCO₂, pO₂, EB, tCO₂, sO₂ e lactato. As extremidades das seringas foram ocluídas com o dedo indicador até o momento de transferência do sangue para o cartucho, com o intuito de não permitir o seu contato com o ar ambiente.

O programa SPSS versão 17 foi utilizado para a realização do tratamento estatístico dos resultados coletados. A análise estatística dos resultados teve por objetivo buscar um entendimento a respeito dos efeitos do presente protótipo de pulmão artificial no hematócrito, nos gases sanguíneos e no lactato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos três tempos de coleta encontram-se descritos na Tabela 1.

Ao longo dos experimentos, não houve episódio de vazamento de sangue. Todas as conexões foram reforçadas com fitas de esparadrapo o que, segundo Souza & Elias (2006), contribui para aumentar a resistência das conexões.

diferença estatística apontada no teste de Friedman se encontra entre os momentos B e A e C e A. Em outras palavras, pode-se dizer que o preenchimento do oxigenador pelo sangue foi o bastante para

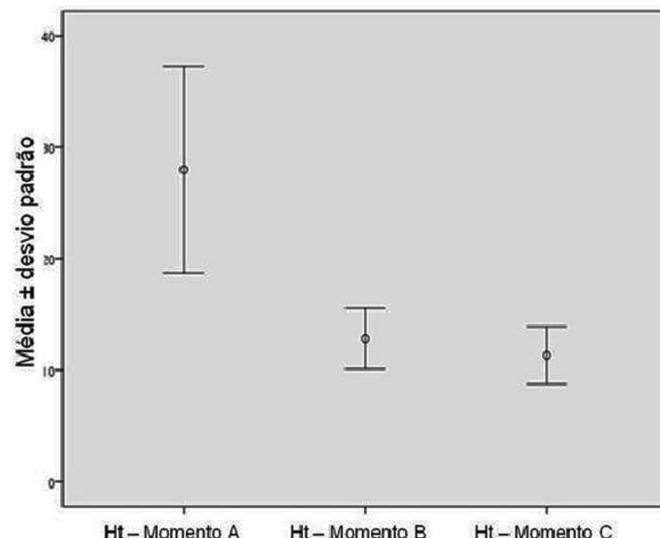


Figura 6. Valores do hematócrito (Ht) obtidos nos momentos A, B e C de coleta das amostras sanguíneas do pulmão artificial. Espécie canina. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro 2013. A - Antes do sangue passar pelo oxigenador. B - Depois do sangue preencher o dispositivo sem receber O₂. C - 1 minuto após o início da oxigenação sanguínea.

Tabela 1. Comparação entre os valores dos parâmetros mensurados a partir de amostras sanguíneas retiradas antes e após preencher o protótipo de pulmão artificial em três momentos ao longo dos experimentos. Espécie canina. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2013.

Parâmetro ^a	A	B	C	P ^{TF}	P ^{BA}	P ^{CA}	P ^{CB}
Ht	28,00±9,274	12,83±2,714	11,33±2,582	0,002*	0,031	0,031	0,188
pH	7,20450±0,184524	6,71750±0,078048	6,65183±0,123935	0,06	-	-	-
sO ₂	66,33±14,278	78,83±15,817	93,00±9,508	0,000*	0,031	0,031	0,031
pO ₂	44,17±12,875	97,00±29,428	191,33±75,654	0,000*	0,031	0,031	0,031
pCO ₂	49,467±22,4844	46,133±11,3973	37,950±12,1100	0,570	-	-	-
tCO ₂	19,83±0,983	7,33±1,966	5,67±1,506	0,000*	0,031	0,031	0,063
HCO ₃ ⁻	18,350±1,3590	5,950±1,6670	4,317±1,6388	0,000*	0,031	0,031	0,063
EB	-8,67±4,803	-29,33±1,506	-30,50±0,837	0,001*	0,031	0,031	0,250
Lactato	1,4433±0,74118	0,3917±0,17770	0,3600±0,11713	0,003*	0,031	0,031	0,375

Valores expressos em média ± desvio padrão. Ht=hematócrito. pH= potencial hidrogeniônico. sO₂ = saturação de oxigênio. pO₂ = pressão parcial de oxigênio. pCO₂ = pressão parcial de dióxido de carbono. tCO₂ = dióxido de carbono total. HCO₃⁻ = bicarbonato. EB = excesso de base. Os valores de P^{TF} foram calculados através do Teste de Friedman, considerando-se diferença significativa entre os três tempos se ≤ a 0,05. Os valores de P^{AB}, P^{AC} e P^{BC} foram calculados através do teste de Wilcoxon, comparando-se os momentos A e B; A e C, e B e C respectivamente, considerando-se diferença significativa se ≤ 0,02. *Valores significantes.

Hematócrito

Como o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do dispositivo testado sobre o sangue, é possível considerar as coletas feitas no momento A como as amostras controle. Portanto, ao analisar os valores obtidos do hematócrito, apesar do teste de Wilcoxon ter sido inconclusivo, é possível suspeitar que a

promover uma queda brusca dos valores do hematócrito, sendo o *prime* utilizado nos experimentos - 1ml com 5.000UI de heparina sódica adicionados a 35ml de solução fisiológica - o provável responsável, pois representa 34,6% do conteúdo do oxigenador (Figura 6).

Os presentes dados corroboram a afirmação de

Drummond et al. (2005) segundo a qual o *prime* realmente pode promover uma hemodiluição excessiva e indesejada, reduzindo os níveis séricos de hematócrito. A queda no hematócrito também foi observada por Moscardini et al. (2002) em seu estudo experimental com ECMO em ovinos, especialmente no grupo cuja composição do *prime* não previa a utilização de sangue, assim como o presente estudo. Da mesma forma, Silveira et al. (2010), em estudo experimental sobre oxigenação extracorpórea por membrana em cães, destaca que os valores do hematócrito caíram imediatamente após o início da ECMO, e credita este acontecimento a uma hemodiluição transitória no momento em que o sangue entrou em contato com a solução presente no *prime* utilizado.

As amostras estudadas foram coletadas diretamente do oxigenador ou imediatamente antes de seu ingresso, não havendo retorno sanguíneo para o animal. Isso leva a crer que, ao repetir as mesmas condições e protocolos em um cão submetido à oxigenação extracorpórea, o *prime* seria diluído na circulação sanguínea do paciente e, provavelmente, não afetaria os valores do hematócrito nas proporções vistas nestes experimentos.

Küme et al. (2012) acrescentam que a falta de padronização na coleta de amostras sanguíneas – especialmente na utilização de diferentes volumes de heparina e de sangue no interior da seringa, assim como os tamanhos variados de agulhas e seringas – promove erros dilucionais importantes, levando a interpretações equivocadas dos resultados dos exames. No entanto, não foi o que ocorreu no estudo em questão, já que houve uma padronização na heparinização das seringas utilizadas no momento A, conforme recomendado pela Federação Internacional de Química Clínica (IFCC): as seringas foram apenas lubrificadas e todo o excesso da heparina desprezado, assim como também foi preenchida toda a capacidade da seringa com a amostra sanguínea avaliada. Adicionalmente, a queda do hematócrito ocorreu mais significativamente no momento B.

Outra hipótese a ser levantada para a queda do hematócrito ocorrida imediatamente após o sangue preencher o oxigenador é a ocorrência de hemólise contribuindo, desta forma e em algum grau, para o declive do hematócrito. A preocupação com os danos aos elementos sanguíneos como a hemólise é muito antiga e são evidenciados por Souza & Elias (2006), que atentam para a importância da seleção

dos materiais na construção dos diversos aparelhos, equipamentos e tubos para a circulação extracorpórea. Segundo eles, os materiais que entram em contato com o sangue não devem reagir quimicamente com os componentes sanguíneos, nem liberar resíduos químicos. As superfícies dos aparatos com os quais o sangue entra em contato devem ser polidas ou muito lisas e apresentar potencial de cargas elétricas negativas para diminuir a formação de grumos celulares. As peças e demais componentes que entram em contato com o sangue devem ser construídos com bordas arredondadas ou boleadas, sem arestas e sem recessos onde grumos celulares ou fibrina podem ser acumulados.

No presente estudo, utilizaram-se basicamente equipamentos projetados especialmente para entrar em contato com o sangue, não havendo suspeita de que os materiais utilizados para a confecção deste protótipo de pulmão artificial possam ser responsabilizados pela queda brusca do hematócrito observada após o preenchimento do dispositivo pelo sangue. A agulha trifacetada eletropolida, hemorrepelente, com marca para indicação da posição do bisel, projetada para produzir o menor trauma à punção e uma boa fluidez na coleta originava-se de uma bolsa de coleta sanguínea, assim como o tubo de PVC flexível que fazia a conexão com o equipo e a base do hemoconcentrador. Souza & Elias (2006) lembram também que, para as cânulas venosas, é importante que a espessura da parede seja fina, porque o diâmetro externo é limitado pelo calibre dos vasos, e o diâmetro interno deve ser suficiente para minimizar a resistência ao fluxo. A agulha utilizada nestes experimentos, com espessura de parede de 0,65mm, foi considerada adequada para a realização do acesso venoso nos animais do experimento, compatível com o porte das cadelas e, conseqüentemente, com o diâmetro da veia jugular, pois não houve dificuldade nesta etapa do procedimento.

No entanto, ao adaptar o hemoconcentrador para a confecção deste protótipo, foi necessário serrá-lo e lixá-lo, com a finalidade de retirar as arestas que porventura permanecessem no material. Da mesma forma, cortou-se a membrana de polissulfina que havia originalmente em seu interior com uma tesoura. Apesar do material da membrana ser altamente biocompatível com o sangue, certamente foram criadas superfícies com pontas que permaneceram como resquício dentro do dispositivo. Acredita-se que, provavelmente, estas características - superfi-

cie cortada e lixada do hemoconcentrador e os resquícios das membranas – não tenham sido suficientes para promover tamanho declive no hematócrito, mas podem ter contribuído em menor dimensão para causar algum grau de trauma aos elementos sanguíneos.

Mais um ponto a ser lembrado foi que o preenchimento do oxigenador se deu pela abertura lateral superior, já que houve a necessidade de se contar com a ajuda da gravidade, pois o acesso vascular utilizado foi o venoso. Com isto, ao ingressar no oxigenador, o sangue sofria uma queda até a solução de *prime*. Apesar de não serem suspeitas relevantes, são necessários estudos futuros com um dispositivo fabricado a partir do modelo deste protótipo, sem bordas nem arestas, e com a entrada do sangue pelo orifício inferior para que seja possível verificar e, se necessário, corrigir eventuais danos.

De acordo com Costa et al. (2011), a hemólise é uma complicação comum durante a oxigenação extracorpórea principalmente devido à força exercida pela bomba centrífuga nas hemácias. Este certamente não foi o caso, pois os preenchimentos do oxigenador se deu sem o uso de bomba.

Finalmente, Souza & Elias (2006) admitem que, apesar de todos os critérios empregados na seleção dos materiais e na construção dos equipamentos e tubos, é praticamente impossível impulsionar e circular o sangue fora do organismo sem causar-lhe nenhum tipo de injúria.

pH

A queda do pH observada nos experimentos não foi estatisticamente relevante. É possível observar, no entanto, que como ocorreu com o hematócrito, a variação foi mais acentuada entre os momentos A e B, comparada a uma diferença menos importante entre os momentos B e C.

Kaplan & Kellun (2010) afirmam que, embora soluções cristaloides sejam compostas à base de água, contêm uma variedade de eletrólitos. Cada eletrólito carrega uma carga em um meio aquoso. Em pH fisiológico e em um meio aquoso, os íons são chamados de íons fortes, separam-se de seus parceiros e contribuem com uma carga capaz influenciar o pH do plasma. Segundo Ribeiro Jr. et al (2008), a solução de NaCl a 0,9% possui propriedades acidificantes. Da mesma forma, sabe-se que a heparina é ácida e pode reduzir os níveis do pH (Évora & Garcia, 2008).

Uma vez que o pH registrado imediatamente

após o sangue preencher o oxigenador de bolhas (momento B) tenha sofrido uma redução importante comparado ao pH sanguíneo das amostras coletadas antes da entrada do sangue no dispositivo (momento A), acredita-se na associação de ambos os fatores, ou seja, que a acidez da heparina e a acidez da solução de NaCl a 0,9% sejam as responsáveis pela redução dos valores deste parâmetro, já que o protocolo adotado utilizou o fluido cristalóide heparinado como solução de *prime*, na mesma dosagem relatada por Zimmermann et al. (2006) no revestimento das cânulas, com 5.000 UI de heparina. Tamesue et al. (2006) também fizeram a associação de fluido cristalóide e heparina em seu trabalho experimental com modelos caninos no *prime* do oxigenador, além da aplicação de heparina intravenosamente.

Não obstante, ao se colocar um cão em oxigenação extracorpórea, o *prime* utilizado no oxigenador nestas proporções certamente não influenciaria o pH do paciente, visto que ingressaria no organismo, diluindo-se ao sangue. Mais importante seria atentar para a infusão de fluidos durante o procedimento, pois há risco de se exceder a quantidade administrada. Como lembram Kaplan & Kellum (2010), fluidos intravenosos devem ser prescritos cuidadosamente, pois podem causar tanto benefícios quanto prejuízos, já que são capazes de corrigir ou induzir anormalidades ácido-básicas, e em casos de pacientes criticamente doentes, contribuir para a sua morbidade e, até mesmo, mortalidade.

pO₂ e sO₂

Estes são os parâmetros para os quais as atenções foram voltadas mais atentamente ao longo de todos os experimentos, especialmente a sO₂. Isso porque, para que o protótipo de oxigenador de bolhas atendesse aos propósitos do estudo seria imprescindível que o dispositivo oxigenasse o sangue de maneira adequada. Segundo Terra Filho (1998), a sO₂ constitui um bom indicador da oxigenação sanguínea. Thakar et al. (2001) dizem mais: como a maior parte do O₂ transportado pelo sangue está ligada a hemoglobina (97%, contra apenas 3% do O₂ dissolvido no plasma), a sO₂ acaba sendo um melhor parâmetro a ser avaliado para este fim. A pressão parcial de O₂ dissolvido no plasma tem pouca importância na determinação da quantidade de O₂ disponível no sangue.

É possível observar que houve um acréscimo significativo das médias \pm desvios padrões dos valores da pO₂ obtidos ao longo dos experimentos

(Figura 7). Os valores obtidos no primeiro momento de coleta ($44,17 \pm 12,875$) estão de acordo com aqueles esperados de normalidade para amostras de sangue venoso da espécie canina. Após o sangue preencher o oxigenador, ainda sem o contato com o O_2 , os valores elevaram-se ($97,00 \pm 29,428$). Este fato será discutido mais adiante, pois o mesmo ocorreu na mensuração da sO_2 . E, por fim, após a devida exposição do sangue ao O_2 pelo período de um minuto foi possível observar um acréscimo ainda maior ($191,33 \pm 75,654$), superando até mesmo os índices de normalidade para a espécie. Apesar do teste de Wilcoxon não ter sido capaz de apontar qual ou quais desses aumentos foi estatisticamente relevante, é possível suspeitar fortemente do acréscimo da pO_2 entre os momentos A e C.

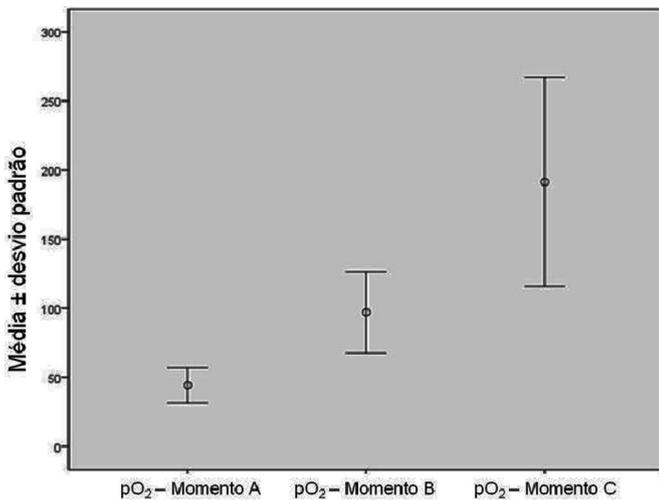


Figura 7. Valores da pO_2 obtidos nos momentos A, B e C de coleta das amostras sanguíneas do pulmão artificial. Espécie canina. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro 2013. A - Antes do sangue passar pelo oxigenador. B - Depois do sangue preencher o dispositivo sem receber O_2 . C - 1 minuto após o início da oxigenação sanguínea.

Ao se observar o comportamento da sO_2 (Figura 8), é possível visualizar claramente que houve um aumento da sO_2 em todos os momentos. Da saturação apresentada no momento A ($66,33 \pm 14,278$), ou seja, amostra controle de sangue venoso, para a saturação apresentada no momento B ($78,83 \pm 15,817$), após o sangue preencher o dispositivo, mas sem ainda receber o O_2 , houve um aumento que pode ser explicado pelo contato do sangue com o ar ambiente contido no interior do oxigenador, especialmente durante o turbilhonamento transitório do sangue ocorrido durante o preenchimento do reservatório pois, neste momento, devido à ação da gravidade, o sangue passa da cânula conectada ao dispositivo

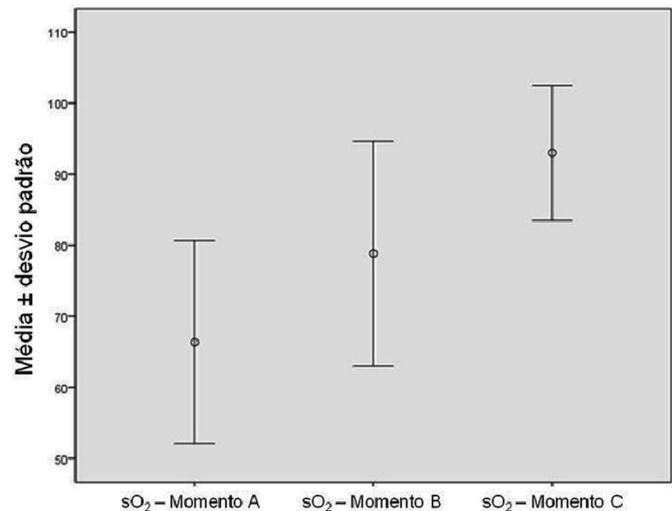


Figura 8. Valores da sO_2 obtidos nos momentos A, B e C de coleta das amostras sanguíneas do pulmão artificial. Espécie canina. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro 2013. A - Antes do sangue passar pelo oxigenador. B - Depois do sangue preencher o dispositivo sem receber O_2 . C - 1 minuto após o início da oxigenação sanguínea.

para a base de seu interior, onde se encontra a solução de *prime*. No momento C, após o contato direto do sangue com o gás O_2 a 100% durante um minuto, a sO_2 se eleva ainda mais, para $93,00 \pm 9,508$, atingindo os níveis desejados.

A análise estatística revela que houve diferença significativa na sO_2 entre os momentos de coleta das amostras sanguíneas. Portanto, os resultados demonstram a eficácia do protocolo adotado no presente estudo, que prevê o uso de FiO_2 de 100%, como recomendado por Costa et al. (2011). O teste de Wilcoxon não foi capaz de detectar o ponto exato onde houve esta relevância, ou mesmo, se isto ocorreu em todas as etapas. Pode-se supor fortemente, no entanto, que esta diferença tenha ocorrido, pelo menos, entre os momentos A e C ($66,33 \pm 14,278$ e $93,00 \pm 9,508$, respectivamente).

Souza & Elias (2006) lembram que a transferência de O_2 para a hemoglobina das hemácias não é instantânea. São necessários de 3 a 30 segundos para que o gás se difunda no plasma que circunda a hemácia, atravesse a membrana da hemácia, passe para o seu interior e, finalmente, efetue a combinação química do O_2 com a hemoglobina, promovendo a saturação. Com isto, pode-se dizer que o tempo ocorrido entre o momento A e o B, de certa forma, foi suficiente (aproximadamente 20 segundos), já que houve um aumento dos valores de sO_2 nesta etapa, assim como o período de 1 minuto de contato do sangue com o O_2 antes da última coleta de amostra sanguínea.

Os mesmos autores destacam que o oxigenador de bolhas cria uma superfície de contato muito grande a partir de um volume de sangue pequeno (interface sangue/O₂ através das bolhas), ideal para ser utilizado em animais de pequeno porte, como o cão e o gato. E apesar de os orifícios do dispersor terem sido executados com o auxílio de um único tamanho de agulha (29G), estes provavelmente não apresentaram uma exatidão no padrão dos diâmetros devido à sua execução manual. Segundo os mesmo autores, a variação no tamanho das bolhas é uma característica positiva: as bolhas de menor diâmetro são mais eficientes para a captação do O₂ pelo sangue e aquelas maiores, para a remoção do CO₂. Diante dos resultados da sO₂, a captação de O₂ foi adequada e, como será visto mais adiante, o pulmão artificial testado também foi capaz de eliminar o CO₂.

pCO₂

De acordo com Évora & Garcia (2008), por melhor que seja a técnica de circulação extracorpórea, o uso do O₂ puro no oxigenador leva, muitas vezes, a uma diminuição exagerada da pCO₂. Não foi, no entanto, o que se observou no estudo (Figura 9). Estatisticamente, a queda nos valores de pCO₂ observada entre os momentos A, B e C não foram relevantes no Teste de Friedman. Apesar disso, os valores observados tanto no momento A (49,467±22,4844) quanto no momento B (46,133±11,3973), para sangue venoso e no C (37,950±12,1100), para sangue

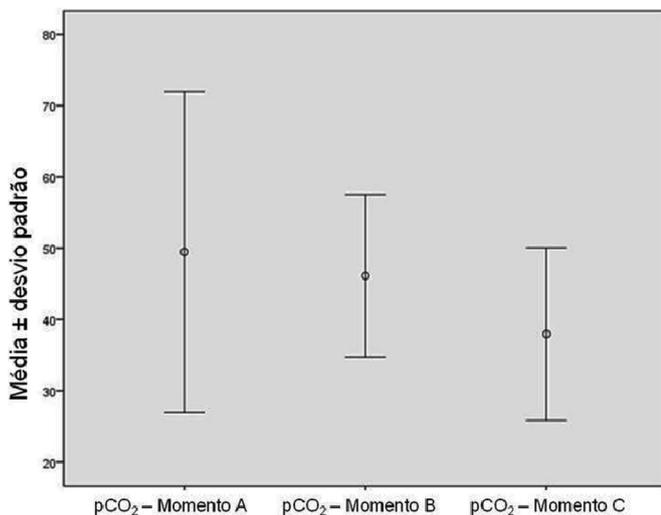


Figura 9. Valores da pCO₂ obtidos nos momentos A, B e C de coleta das amostras sanguíneas do pulmão artificial. Espécie canina. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro 2013. A - Antes do sangue passar pelo oxigenador. B - Depois do sangue preencher o dispositivo sem receber O₂. C - 1 minuto após o início da oxigenação sanguínea.

arterial, se encontram dentro dos limites de normalidade para a espécie. Costa et al. (2011) sugerem que durante a oxigenação extracorpórea, a oferta de O₂ no ventilador mecânico e no oxigenador seja controlada para, entre outros motivos, manter a pCO₂ abaixo de 50mmHg. Os valores de normalidade da pCO₂ de seres humanos (35 - 45mmHg) são muito parecidos com o de cães, estando o presente estudo dentro do limite estabelecido pelos autores.

Segundo Souza & Elias (2006), este gás é rapidamente eliminado pelo oxigenador pelo seu grande coeficiente de solubilidade, sendo o fluxo do O₂ instilado no dispersor o responsável por esta remoção no oxigenador. O fluxo de O₂ adotado foi de 5 litros por minuto, como o recomendado por Costa et al. (2011) e, portanto, suficiente para remover o CO₂ satisfatoriamente.

Viegas (2002) adverte ainda que, para evitar que o metabolismo eritrocitário promova o aumento da pCO₂ e a diminuição da pO₂, mascarando o *status* ácido-básico do paciente, é imprescindível que o período entre a coleta da amostra sanguínea e a realização da gasometria não ultrapasse 10 a 15 minutos, devendo-se manter a hermeticidade da agulha todo o tempo. Este não foi uma questão enfrentada no presente estudo, já que o equipamento portátil utilizado se encontrava no local dos experimentos, permitindo a realização imediata dos exames.

tCO₂, HCO₃⁻ e EB

Sucupira & Ortolani (2003) citam em seu artigo que quanto maiores forem as pressões de CO₂, maiores os teores de HCO₃⁻ e de tCO₂ no sangue, daí porque os valores de ambos os parâmetros são maiores no sangue venoso. Apesar de Smith & Taylor (2008) terem afirmado que o tCO₂ raramente fornece qualquer informação útil, ele é considerado uma forma de determinação indireta do HCO₃⁻, já que mensura todas as formas de CO₂ dissolvidas no plasma, como o HCO₃⁻, o H₂CO₃ e o CO₂. Por isso, o HCO₃⁻ e o tCO₂ são discutidos conjuntamente neste item.

De fato, os parâmetros tCO₂, HCO₃⁻ e EB apresentam o mesmo comportamento ao longo dos experimentos. O momento B registrou uma queda brusca dos valores de todos os parâmetros em relação ao momento A, que representou a amostra controle, pois foi coletada antes do sangue entrar no oxigenador: de 19,83±0,983 para 7,33±1,966, para a tCO₂; de 18,350±1,3590 para 5,950±1,6670 para o HCO₃⁻ e de -8,67 ±4,803 para -29,33±1,505

para o EB. Os valores continuaram a decrescer, mas não com a mesma intensidade, no momento C: $5,67 \pm 1,506$ para a $t\text{CO}_2$; $4,317 \pm 1,6388$ para o HCO_3^- e $-30,50 \pm 0,837$ para o EB.

Conforme Évora & Garcia (2008), a heparina tem a capacidade de acidificar o sangue e, portanto, as 5.000UI deste anticoagulante adicionadas à solução de *prime* poderia ter colaborado com a queda brusca de valores registrada entre os momentos A e B. Em contrapartida, Duerbeck et al. (1992), sustentam que a quantidade de heparina necessária para alterar os valores de HCO_3^- e o EB é de 10% ou mais do total do volume da amostra. A solução de *prime* representou 34,6% do conteúdo do oxigenador no momento B, porém a heparina apenas 0,96% do total do volume do oxigenador.

Outra possibilidade é a ação dos 35ml de solução de NaCl a 0,9% utilizados no *prime*, que representam 33,6% do total do volume do oxigenador após o preenchimento com o sangue. Segundo Ribeiro Jr. et al. (2008), a solução de NaCl a 0,9% possui propriedades acidificantes.

Lactato

O lactato manteve-se em níveis dentro da normalidade para a espécie em todos os momentos do estudo. No entanto, o Teste de Friedman revelou uma relevância estatística cujo (s) ponto (s) exato (s) não foi (foram) localizado (s) pelo teste de Wilcoxon. É possível supor que a queda significativa ocorreu entre os momentos A e B ($1,44 \pm 0,74118$ e $0,3917 \pm 0,17770$, respectivamente). Depois disso, os níveis mantiveram-se praticamente constantes ($0,3600 \pm 0,11713$). Admite-se que a queda nos valores deste parâmetro observada no momento B também se deva à hemodiluição excessiva das amostras analisadas visto que, no momento seguinte, esse declínio cessou.

Desta forma, pode-se dizer que o oxigenador de bolhas propriamente dito não interferiu negativamente nos níveis de lactato e, sim, a solução de *prime*. Em outras palavras, em estudos futuros, provavelmente não haverá interferência do dispositivo no sangue já que, ao se realizar o retorno sanguíneo para o organismo do paciente, essa hemodiluição será breve e transitória, não ocasionando nenhum prejuízo ao animal. Esta informação deve ser recebida positivamente, já que, segundo Allen & Holm (2008), a mensuração do lactato em pacientes veterinários criticamente doentes fornece informações importantes a respeito da gravidade da

doença apresentada. De Baker (2003) lembra da importância da detecção precoce da hipóxia tecidual através da mensuração do lactato, pois esta condição pode estar associada diminuição da oferta de O_2 aos tecidos, às alterações hemodinâmicas e, mais gravemente, à falência múltipla dos órgãos. Cheung & Finer (1994) vão mais além, afirmando que os níveis séricos de lactato são parâmetros melhores do que o pH sanguíneo e o bicarbonato sérico na avaliação do prognóstico destes pacientes.

CONCLUSÕES

O pulmão artificial proposto mostra-se viável para a oxigenação e remoção do CO_2 do sangue venoso, utilizando-se um volume de 5 litros de O_2 por minuto a uma FiO_2 de 100%. O período de 1 minuto de contato entre o O_2 e o sangue foi o suficiente para promover a oxigenação sanguínea em níveis adequados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen S.E. & Holm J.L. Lactate: physiology and clinical utility. *J. Emerg. Critical Care*, 18:123-132, 2008.
- Azevedo L.C.P., Park M., Costa E.L.V., Santos E.V., Hirota A., Taniguchi L.U., Schettino G.P.P., Amato M.B.P. & Carvalho C.R.R. Oxigenação extracorpórea por membrana na hipoxemia grave: hora de revermos nossos conceitos? *J. Bras. Pneumol.*, 37:7-12, 2011.
- Cheung P. & Finer N.N. Plasma lactate concentration as a predictor of death in neonates with severe hypoxemia requiring extracorporeal membrane oxygenation. *J. Pediat.*, 125:763-768, 1994.
- Colafranceschi A.S., Monteiro A.J.O., Canale L.S., Campos L.A.A., Montera M.W., Silva P.R.D., Fernandes M.R., Pinto A.A., Molas S.M. & Mesquita E.T. Assistência Circulatória com Oxigenação por Membrana Extracorpórea (ECMO) no Adulto: um Conceito Falido ou Esquecido? *Arq. Bras. Cardiol.*, 91:36-41, 2008.
- Costa A.C., Oliveira A.L.A., Antunes F., Abílio E.J., Carvalho E.C.Q., Albernaz A.P., Santos C.L., Silveira F., Silveira L.L., Saliva R., Carvalho C.B. & Machado J.A. Oxigenação extracorpórea por membrana (ECMO) sem auxílio circulatório em canino. *Rev. Cient. Med. Vet.*, 6:293-300, 2008.
- Costa L.M.B., Hora M.P., Araújo E.O. & Pedreira L.C. Cuidado de enfermagem a uma paciente em uso da ECMO. *Rev. Baiana Enferm.*, 5:209-220, 2011.
- De Baker D. Lactic acidosis. *Minerva Anesthesiol.*, 69:281-284, 2003.
- Drummond M., Braile D.M., Oliveira A.P.M.L., Camim A.S., Oyama R.S.K. & Sandoval G.H. Desenvolvimento tecnológico dos oxigenadores de membrana. *Rev. Bras. Cirurg. Cardiovasc.*, 20:432-437, 2005.
- Duerbeck N.B., Chaffin D.G. & Seeds J.W. A practical approach to umbilical artery pH and blood gas determinations. *Obstet. Gynecol.*, 79:959-962, 1992.

- Dundon W.G., Benedictis P.D., Viale E. & Capua I. Serologic evidence of pandemic (H1N1) 2009 infection in dogs, Italy. *Emerg. Infect. Dis.*, 16:2019-2021, 2010.
- Évora P.R.B. & Garcia L.V. Equilíbrio ácido-base. Fundamentos em Clínica Cirúrgica. *Medicina*, 41:301-311, 2008.
- Ferreira F.S., Silveira L.L., Costa A.C., Albernaz A.P., Carvalho C.B. & Oliveira A.L.A. Estudo do comportamento da creatino quinase (CK) e creatino quinase-MB (CK-MB) sérica de cães submetidos à oxigenação por membrana extracorpórea (ECMO) durante um período de três horas. *Cienc. Anim. Bras.*, 11:705-712, 2010.
- Ferreira F.S., Silveira L.L., Costa A.A., Vale D.F., Carvalho C.B., Machado J.A. & Oliveira A.L.A. Atividade da lactato desidrogenase (LDH) sérica em cães submetidos à oxigenação extracorpórea por membrana (ECMO) por um período de três horas. *Cienc. Anim. Bras.*, 12:554-559, 2011.
- Ferreira F.S., Silveira L.L., Costa A.A., Freitas M.V., Machado J.A., Carvalho C.B. & Oliveira A.L.A. Estudo do comportamento de variáveis hemodinâmicas (frequência cardíaca, pressão arterial média e temperatura corporal) e bioquímicas séricas (glicose e lactato desidrogenase total) em cães submetidos a oxigenação extracorpórea por membrana (ECMO). *Rev. Port. Cienc. Vet.*, 111:33-42, 2012.
- Hamid I.A., Hariharan A.S. & Ravi Shankar N.R. The advent of ECMO and pumpless extracorporeal lung assist in ARDS. *J. Emerg. Trauma Shock*, 4:244-250, 2011.
- Kelmer E., Love L.C., DeClue A.E., Cohn L.A., Bruchim Y., Klainbart S., Sura P.A. & Merbl Y. Successful treatment of acute respiratory distress syndrome in 2 dogs. *Can. Vet. J.*, 53:167-173, 2012.
- Kaplan L.J. & Kellum J.A. Fluids, pH, ions and electrolytes. *Crit. Care*, 16:323-331, 2010.
- Küme T., Şişman A.R., Solak A., Tuğlu B., Çinkooğlu B. & Çoker C. The effects of syringe volume, needle size and sample volume on blood gas analysis in syringes washed with heparin. *Biochemia Med.*, 22:189-201, 2012.
- Moscardini A.C., Godoy M.F., Braile D.M., Godoy J.M.P., Soares M.J., Brandi A.C. & Ramin S.L. Oxigenação extracorpórea por membrana e alterações hematológicas em estudo experimental. *Rev. Bras. Hematol. Hemoterap.*, 24:97-104, 2002.
- Ribeiro Filho J.D., Balbinot P.Z., Viana J.A., Dantas W.M.F. & Monteiro B.S. Hemogasometria em cães com desidra-
tação experimental tratados com soluções eletrolíticas comerciais administradas por via intravenosa. *Cienc. Rur.*, 38:1914-1919, 2008.
- Silveira L.L. *Oxigenação extracorpórea por membrana (ECMO): Parâmetros hematológicos e bioquímicos em cães (Canis familiaris) com e sem auxílio de terapia intensiva*. Dissertação (Ciência Animal), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2010. 117f.
- Smith A. & Taylor C. Analysis of blood gases and acid-base balance. *Surgery*, 26:86-90, 2008.
- Souza M.H.L. & Elias D.E. *Fundamentos da circulação extracorpórea*. 2ª ed. Centro Editorial Alfa Rio, Rio de Janeiro, 2006. 809p.
- Sucupira M.C.A. & Ortolani E.L. Uso de sangue arterial e venoso no exame do equilíbrio ácido-básico de novilhos normais ou com acidose metabólica. *Cienc. Rur.*, 33:863-868, 2003.
- Swenson S.L., Koster L.G., Jenkins-Moore M., Killian M.L., DeBess E.E., Baker R.J., Mulrooney D., Weiss R., Galeota J. & Bredthauer A. Natural cases of 2009 pandemic H1N1 Influenza A virus in pet ferrets. *J. Vet. Diag. Invest.*, 22:784-788, 2010.
- Tamesue K., Ichiba S., Nawa S. & Shimizu N. An Experimental Study on Pumpless Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) Support in a Canine Model. *Acta Med. Okayama*, 60:167-172, 2006.
- Terra Filho J. Avaliação laboratorial da função pulmonar. *Simp. Doenças Pulmonares*, 31:191-207, 1998
- Thakar D.R., Sinha A.C. & Wenker O.C. Concepts of neonatal ECMO. *Int. J. Perfusion.*, 1:2001. [doi: 10.5580/d9]
- Viegas C.A. Gasometria arterial. *J. Pneumol.*, 28:233-238, 2002.
- Wilkins P.A., Otto C.M., Baumgardner J.E., Dunkel B., Bedenice D., Paradis M.R., Staffieri F., Syring R.S., Slack J., Grasso S. & Pranzo G. Acute lung injury and acute respiratory distress syndromes in veterinary medicine: Consensus definitions: The Dorothy Russell Havemeyer Working Group on ALI and ARDS in Veterinary Medicine. *J. Vet. Emerg. Crit. Care*. 17:333-339. 2007.
- Zimmermann M., Bein T., Philipp A., Ittner K., Foltan M., Drescher J., Weber F. & Schmid D.X. Interhospital transportation of patients with severe lung failure on pumpless extracorporeal lung assist. *Br. J. Anaesth.*, 96:63-66. 2006.