

# Influência do uso da plasmaferese sobre o tempo de recuperação de caprinos doadores de sangue ou plasma

## *Influence of the plasmapheresis uses in the recovery time of blood or plasma donor goats*

Fernando José BENESI<sup>1</sup>; Rogério Batista dos SANTOS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Clínica Médica. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo – SP

### Resumo

O objetivo desta pesquisa foi determinar a influência do uso da plasmaferese sobre o tempo de recuperação clínica e hematológica de caprinos doadores de sangue total ou plasma. Para tanto, foram utilizados 20 caprinos adultos e clinicamente saudáveis, distribuídos por dois grupos de dez animais cada, a saber: grupo controle (de animais doadores de sangue total não tratados) e grupo experimental (de animais doadores que foram tratados com a plasmaferese). Os caprinos foram selecionados e monitorados por meio de exames físicos (funções vitais) e complementares (hemograma, proteínas totais, albumina, globulinas, relação A:G, ureia, creatinina e hemoglobina livre no plasma) realizados nos seguintes momentos: imediatamente antes e após a doação de sangue: 12, 24, 72, 120, 240, 360, 480 e 720 horas após os procedimentos. Os resultados foram analisados com comparações dentro e entre os dois grupos nos diferentes momentos do estudo. As observações clínicas efetuadas durante o período de até 30 dias após a doação de 20% do volume sanguíneo total, com ou sem a realização da plasmaferese nos animais dos grupos estudados, não sofreram variações influenciadas por esses procedimentos. Observou-se significativa variação dos componentes do eritrograma, tendo o grupo experimental apresentado as melhores taxas de recuperação em função do tempo. Com base nos resultados obtidos, a aplicação da técnica da plasmaferese em caprinos mostrou-se eficiente como recurso para a otimização do tempo de recuperação dos valores do hemograma de animais doadores de plasma, não determinando hemólise durante o seu procedimento.

**Palavras-chave:** Caprinos. Plasmaferese. Sangue. Plasma. Hematologia veterinária.

### Abstract

The objective of this study was to determine the influence of plasmapheresis on clinical and haematological recovery time of whole blood or plasma donor goats. For this, 20 clinically healthy adult goats were divided into two groups of ten animals each: control group (not-treated whole blood donor animals), and experimental group (donor animals which were treated with plasmapheresis). Goats were selected and evaluated through physical examination (vital functions) and complementary tests (complete blood counts, total proteins, albumin, globulin, albumin:globulin ratio, urea nitrogen, creatinine, and plasma free haemoglobin) were carried out at the following moments: immediately before and after blood donation, 12, 24, 72, 120, 240, 360, 480, and 720 hours after the procedures. Results were analysed comparing animals in and between both groups (at different moments of the study). The clinical observations made during the period of 30 days after donation of 20% of total blood volume, with or without plasmapheresis in the animals of studied groups, were not influenced by these procedures. The results revealed significant variation of eritrogram components, showing the experimental group to have better recovery rates according to time. Based on the results obtained in the present study, plasmapheresis technique application in goats showed to be efficient as a resource to optimize recovery time of blood cell values of plasma donor animals, and did not cause hemolysis during its procedure.

**Keywords:** Goats. Plasmapheresis. Blood. Plasma. Veterinary haematology.

### Introdução

Dentre as afecções que acometem os caprinos as verminoses gastrintestinais apresentam a maior frequência, caracterizando-se principalmente por manifestações de anemia e hipoproteinemia<sup>1,2</sup>, além da redução do ganho ou perda gradual do peso, diminuição da produção e/ou da eficiência reprodutiva, e nos casos mais graves, com a morte dos enfermos<sup>3,4</sup>.

#### Correspondências para:

Rogério Batista dos Santos

Departamento de Clínica Médica

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Av. Prof. Orlando Marques de Paiva, 87 - Cidade Universitária "Armando de Salles de Oliveira"

CEP: 05508-270 - São Paulo – SP, Brasil

E.mail: santos.rogerio@usp.br

Recebido: 17/08/2009

Aprovado: 10/06/2010

As verminoses, além do controle e tratamento específico que devem receber, exigem muitas vezes terapia sintomática com o uso da hemoterapia para que se restabeleçam as funções hematológicas normais e, em muitas situações, para que se evite a morte dos animais enfermos<sup>1,3,5</sup>. A transfusão com sangue total é indicada para reposição de perdas hemorrágicas moderadas a graves<sup>6,7</sup>, tendo recomendação também para salvar a vida do paciente em estados anêmicos crônicos e em anemias aplásticas<sup>3</sup>. A transfusão de plasma, por sua vez, é indicada para restabelecer a volemia nas perdas plasmáticas e hemorrágicas agudas, além da correção de distúrbios da pressão oncótica devidos a hipoalbuminemia<sup>6,8</sup>. Destaca-se ainda, a utilização de plasma caprino obtido periodicamente em animais hiperimunizados com finalidade de produção de antissoros para uso em provas imunológicas.

A plasmaferese é um procedimento reconhecido em medicina humana por ser usado com finalidade terapêutica e como um cuidado na recuperação mais rápida do doador de sangue, pois consiste na retirada de sangue do doador, seguida por separação do plasma, e reintrodução dos elementos celulares na circulação do doador<sup>9,10,11</sup>. O seu uso em medicina veterinária é descrito na espécie equina, em animais produtores de soros hiperimunes e de imunoglobulinas específicas<sup>12,13</sup>, visando também ao encurtamento do tempo de recuperação de animais doadores, não havendo relatos na literatura sobre a sua utilização na espécie caprina, bem como a eficácia de qualquer técnica proposta para a otimização do tempo de recuperação dos caprinos doadores de sangue ou plasma, constituindo-se pois esses os objetivos do presente trabalho.

## Material e Método

Foram selecionados 20 caprinos adultos, clinicamente sadios e livres de infestações parasitárias, os quais foram distribuídos em dois grupos, a saber: Grupo I (Controle), constituído por dez animais, do-

adores de sangue que não receberam qualquer tratamento e Grupo II (Tratado), formado por dez animais doadores de plasma que receberam a plasmaferese. Os caprinos foram previamente vermifugados e submetidos diariamente ao exame físico. Exames complementares foram realizados nos momentos a seguir destacados: imediatamente antes e após a retirada de sangue ou de plasma destinados à doação; 12 horas (1/2 dia); 24 horas (1 dia); 72 horas (3 dias); 120 horas (5 dias); 240 horas (10 dias); 360 horas (15 dias); 480 horas (20 dias) e 720 horas (30 dias) após.

A colheita de sangue dos doadores foi realizada por venopunctura da jugular externa com equipos adequados à transfusão e em bolsas plástica duplas de colheita de sangue com anticoagulante (ACD/CPD) (Baxter®), com base no volume total de sangue (VTS) circulante, calculado pela porcentagem equivalente do peso vivo (7%), sendo considerado como volume a colher do doador, 20% do VTS. As bolsas de sangue total colhidas dos doadores foram submetidas à centrifugação em centrífuga automática e refrigerada (Sorval® - Super Speed RC2-B), em temperatura de 4 a 8 °C, a 3500 rpm, por sete minutos, para separação dos componentes sanguíneos.

No sistema duplo o plasma sobrenadante foi extraído para a segunda bolsa que está interligada, a qual é selada e separada do concentrado de hemácias. As células vermelhas compactadas foram ressuspensas na primeira bolsa em volume de solução fisiológica (NaCl 0,9%) suficiente para recompor o volume originalmente colhido de sangue, sendo a seguir reaplicadas através da veia jugular externa apenas nos animais doadores do Grupo II, constituindo este procedimento a chamada plasmaferese<sup>9,10,11</sup>.

As amostras de sangue foram colhidas através de punção da veia jugular externa usando-se sistema a vácuo, em tubo siliconizado (Vacuteiner® Becton Dickinson). Para o hemograma com EDTA tripotássico na proporção de 1,5 mg/ml de sangue e sem anticoagulante para a bioquímica sérica. As amostras foram

refrigeradas a 4 °C até o momento do exame, e os esfregaços sanguíneos, para as contagens diferenciais de leucócitos, foram confeccionados com sangue fresco sem anticoagulante, segundo técnicas e padronização descritas por Birgel<sup>14</sup>. A hematimetria foi realizada conforme descrito por Birgel<sup>14</sup>. Os índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM) foram calculados através dos valores determinados do eritrograma.

Para a bioquímica sérica, após a coagulação do sangue e retração do coágulo, os tubos foram centrifugados (Excelsa Baby – modelo 208N – FANEN) a 3500 rpm por dez minutos para separar o soro sanguíneo, no qual foram avaliadas as proteínas totais, a albumina e a função renal (dosagens de ureia e creatinina) em analisador bioquímico automático (MAS - modelo Liasys), e calculada a globulina e a relação albumina/globulina. A quantificação de proteínas totais foi realizada utilizando-se o método do biureto, segundo técnicas de padronização de Gornall, Bardauvill e Maxima<sup>15</sup> descritas por Strufaldi<sup>16</sup>. A determinação da albumina sérica foi efetuada pelo método do verde de bromocresol, utilizando-se método descrito por Doumas, Biggs e Watson<sup>17</sup> modificado. A concentração sérica total de globulinas foi obtida pela subtração da concentração de albumina do valor da taxa de proteínas totais. A relação albumina/globulina foi calculada a partir da divisão dos valores de albumina pelo de globulina, obtidos pelas técnicas anteriormente descritas. A uréia sérica foi mensurada por método enzimático com substrato contendo urease, em comprimento de onda de 340 nm, utilizando-se kit comercial (Kit Diays 10310022). A creatinina sérica foi quantificada pelo método de Jaffé, utilizando-se picrato alcalino, segundo método descrito por Lustgarten e Wenk<sup>18</sup>.

A quantificação de hemoglobina livre no plasma dos animais foi realizada utilizando-se a técnica padronizada e utilizada na rotina do Laboratório de Controle de Qualidade da Fundação Pró-Sangue de São Paulo, através de estudo espectrofotométrico em

ultravioleta próximo (Espectrofotômetro Celm E-225 D) (comprimentos de onda de 370, 415 e 510 nm).

Cada parâmetro foi testado para verificação da normalidade de distribuição aplicando-se o método de Kolmogorov e Smirnov. Quando os dados não apresentaram distribuição normal, as variáveis intragrupo foram analisadas pelo Teste não-paramétrico de Friedman. Nos casos em que a diferença foi considerada significativa, efetuaram-se as comparações entre as medianas do grupo através do Teste de Dunn. Foi também realizado o Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, para comparação de medianas entre os grupos. Todas as determinações foram feitas ao nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ), sendo que a interpretação estatística dos resultados foi efetuada com o auxílio de um programa estatístico computadorizado<sup>19</sup>.

## Resultados e Discussão

Os resultados obtidos para os constituintes do eritrograma dos caprinos dos grupos controle (que não recebeu tratamento) e experimental (que recebeu a plasmáfereze), estão apresentados na tabela 1. O acompanhamento das variações do perfil hematológico durante o período de 30 dias de recuperação revelou em ambos os grupos que os valores das medianas observadas para a contagem de eritrócitos (Figura 1), volume globular e taxa de hemoglobina, estiveram dentro do intervalo de variação de valores padrões estabelecidos por diversos autores para caprinos adultos sadios<sup>4,5,20,21,22,23,24,25,26</sup>. O grupo controle apresentou nos momentos que variam de 24 a 120 horas após a doação, valores inferiores aos descritos na literatura<sup>5,23,24,25,26</sup>. Estes valores significativamente menores que aqueles dos momentos imediatamente antes e das 720 horas após a doação de sangue para os três parâmetros do eritrograma em análise, caracterizam que o processo de hemodiluição compensatória para manutenção da volemia ocorreu no período das 72 horas após a doação de sangue<sup>6,7</sup>.

Tabela 1 - Valores de mediana dos constituintes do eritrograma de caprinos adultos, sadios, doadores de sangue total, que constituíram o grupo controle (que não recebeu tratamento) e grupo experimental (que recebeu a plasmáfereze), após a retirada do equivalente a 20% do volume de sangue total circulante - São Paulo - 2009

Grupo	Tempo em relação ao da doação de sangue (horas)	He* (x10 <sup>6</sup> /μL)	VG (%)	Hb (g/dL)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)
CONTROLE	i. at.**	14,888 <sup>a P</sup>	30,00 <sup>ab P</sup>	10,150 <sup>a P</sup>	20,095 <sup>a P</sup>	7,150 <sup>a Q</sup>	34,355 <sup>a P</sup>
	i. ap.***	12,275 <sup>abc Q</sup>	24,50 <sup>bcde Q</sup>	08,545 <sup>abcd P</sup>	20,740 <sup>a P</sup>	6,655 <sup>a Q</sup>	32,905 <sup>a Q</sup>
	12	11,475 <sup>abc R</sup>	21,00 <sup>e R</sup>	07,640 <sup>bcd Q</sup>	19,105 <sup>a P</sup>	6,715 <sup>a Q</sup>	35,125 <sup>a P</sup>
	24	10,288 <sup>bc R</sup>	20,00 <sup>e R</sup>	06,655 <sup>d R</sup>	19,305 <sup>a P</sup>	6,405 <sup>a Q</sup>	33,100 <sup>a Q</sup>
	72	08,855 <sup>cd S</sup>	20,00 <sup>e R</sup>	06,875 <sup>d R</sup>	22,035 <sup>a P</sup>	7,485 <sup>a P</sup>	34,355 <sup>a P</sup>
	120	09,875 <sup>bc S</sup>	20,50 <sup>e R</sup>	06,660 <sup>d R</sup>	22,265 <sup>a P</sup>	7,300 <sup>a Q</sup>	31,205 <sup>a Q</sup>
	240	10,763 <sup>abc QR</sup>	23,00 <sup>cde Q</sup>	07,665 <sup>cd P</sup>	19,505 <sup>a P</sup>	7,015 <sup>a Q</sup>	32,930 <sup>a Q</sup>
	360	12,163 <sup>abc Q</sup>	26,00 <sup>bcde Q</sup>	08,220 <sup>abcd P</sup>	20,410 <sup>a P</sup>	6,685 <sup>a Q</sup>	32,785 <sup>a Q</sup>
	480	13,563 <sup>ab Q</sup>	28,00 <sup>abc Q</sup>	09,070 <sup>abc P</sup>	20,505 <sup>a P</sup>	6,730 <sup>a Q</sup>	31,100 <sup>a Q</sup>
	720	14,363 <sup>a P</sup>	29,00 <sup>ab Q</sup>	09,265 <sup>abc P</sup>	20,950 <sup>a P</sup>	6,350 <sup>a Q</sup>	30,990 <sup>a Q</sup>
EXPERIMENTAL	i. at.**	16,088 <sup>a P</sup>	29,50 <sup>a P</sup>	09,115 <sup>a P</sup>	18,905 <sup>a P</sup>	5,855 <sup>a R</sup>	30,890 <sup>a R</sup>
	i. ap.***	14,000 <sup>ab P</sup>	25,50 <sup>b Q</sup>	08,105 <sup>b P</sup>	18,215 <sup>a R</sup>	5,985 <sup>a R</sup>	32,445 <sup>a Q</sup>
	12	13,900 <sup>b Q</sup>	28,00 <sup>ab Q</sup>	08,670 <sup>ab P</sup>	20,370 <sup>a P</sup>	6,345 <sup>a Q</sup>	31,830 <sup>a Q</sup>
	24	13,175 <sup>ab Q</sup>	27,50 <sup>ab Q</sup>	08,850 <sup>ab P</sup>	19,295 <sup>a P</sup>	6,345 <sup>a Q</sup>	32,790 <sup>a Q</sup>
	72	13,600 <sup>ab Q</sup>	25,00 <sup>b Q</sup>	08,380 <sup>ab P</sup>	17,890 <sup>a R</sup>	6,045 <sup>a R</sup>	33,980 <sup>a P</sup>
	120	12,900 <sup>b Q</sup>	25,50 <sup>b Q</sup>	08,385 <sup>ab P</sup>	19,055 <sup>a P</sup>	6,320 <sup>a Q</sup>	33,160 <sup>a Q</sup>
	240	13,875 <sup>b Q</sup>	26,00 <sup>b Q</sup>	08,345 <sup>ab P</sup>	19,130 <sup>a P</sup>	6,215 <sup>a Q</sup>	32,300 <sup>a Q</sup>
	360	13,300 <sup>ab Q</sup>	25,50 <sup>ab Q</sup>	08,250 <sup>ab P</sup>	19,375 <sup>a P</sup>	6,195 <sup>a Q</sup>	32,335 <sup>a Q</sup>
	480	13,938 <sup>ab Q</sup>	25,00 <sup>ab Q</sup>	08,600 <sup>ab P</sup>	18,980 <sup>a R</sup>	6,135 <sup>a R</sup>	32,660 <sup>a Q</sup>
	720	14,250 <sup>ab P</sup>	26,50 <sup>ab Q</sup>	08,810 <sup>ab P</sup>	18,390 <sup>a Q</sup>	6,115 <sup>a Q</sup>	33,265 <sup>a Q</sup>

\* He - hemácias; VG - Volume globular; Hb - taxa de hemoglobina; VCM - volume corpuscular médio; HCM - hemoglobina corpuscular média; CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média.

\*\* i. at. - momento imediatamente antes à doação

\*\*\* i. ap. - momento imediatamente após a doação

Medianas com letras minúsculas não coincidentes na mesma coluna dentro do grupo denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ )

Medianas com letras maiúsculas não coincidentes na mesma coluna, em momentos semelhantes entre grupos, denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ )

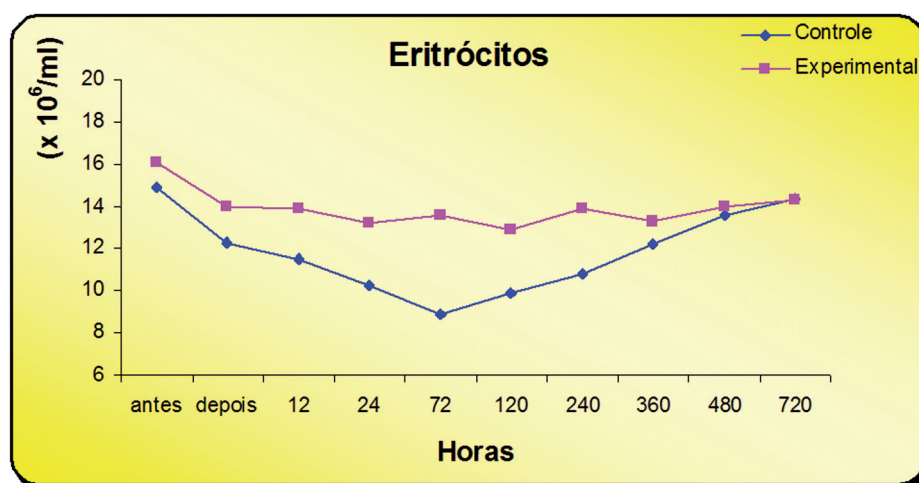


Figura 1 - Evolução dos valores das medianas obtidas para o número de eritrócitos (x 10<sup>6</sup>/μL) no sangue de caprinos adultos, sadios, doadores de sangue total, que constituíram o grupo controle (que não recebeu tratamento) e o grupo experimental (que recebeu a plasmáfereze), após a retirada do equivalente a 20% do volume de sangue total circulante - São Paulo - 2009

Os animais do grupo experimental também apresentaram diferença dos valores de mediana entre os seus tempos de análise, porém com redução significativa em relação ao momento inicial ( $p < 0,05$ ) nos momentos que vão desde aquele imediatamente após até 240 horas após a doação, para o número de eritrócitos e volume globular, e somente no momento imediatamente após a doação de sangue para os teores de hemoglobina. Foi verificado ainda, quando confrontados os dois grupos estudados, que entre os momentos de 12 horas a 120 horas após a doação de sangue, o grupo controle apresentou valores significativamente menores para estes componentes do eritrograma. Confirmou-se assim que o grupo experimental não sofreu uma redução tão intensa dos mesmos, em decorrência da reposição dos elementos celulares do sangue, ou seja, por meio da plasmaferese, em conformidade com o que foi observado por Magdesian, Brook e Wickler<sup>10</sup> em equinos.

Considerando-se os índices hematimétricos, destaca-se que em ambos os grupos os valores de medianas para os três índices estiveram dentro dos intervalos padrões estabelecidos para caprinos adultos sadios pelos autores brasileiros<sup>20,21</sup> e internacionais<sup>4,5,22,27</sup>. A diferença neste caso ficou por conta do confronto entre grupos, no qual o controle em determinados momentos se apresentou com maior valor de mediana ( $p < 0,05$ ), evidenciando que os índices hematimétricos absolutos obtidos não se mostraram como bons indicadores dos efeitos da doação de sangue e da utilização da plasmaferese.

Os resultados obtidos para os constituintes do leucograma dos caprinos de ambos os grupos estão apresentados na tabela 2. Na análise do número total de leucócitos por  $\mu\text{L}$ , encontraram-se, em ambos os grupos, valores de mediana semelhantes aos descritos por alguns autores da literatura considerada<sup>4,20,21,27</sup>, porém esses valores foram inferiores aos descritos por Holman e Dew<sup>28</sup> e Lewis<sup>26</sup>. No grupo controle, verificou-se um aumento significativo do número de

leucócitos às 12 horas após a doação de sangue, em relação ao anterior e então retorno ao padrão inicial no momento das 24 horas após a doação (Figura 2). Este último comportamento diferiu daquele demonstrado pelos dados obtidos por Magdesian, Brook e Wickler<sup>10</sup>, que não manifestaram qualquer alteração. O grupo experimental, por sua vez, apresentou uma pequena elevação do número absoluto de leucócitos do momento inicial para aquele imediatamente após a doação de sangue, porém com um valor de “p” entre 0,05 e 0,10. Isso seria explicado particularmente pela ação da adrenalina, liberada em condições de medo e excitação durante a realização da reposição dos elementos figurados do sangue, mobilizando os leucócitos do compartimento marginal de reserva para o compartimento circulante<sup>14</sup>. A comparação dos dois grupos mostrou ainda o número de leucócitos no grupo controle com valores menores nos momentos imediatamente, 3, 20 e 30 dias após a doação, exemplificando também assim, que não houve diminuição do número absoluto de leucócitos naquele grupo que recebeu a plasmaferese, ao contrário do que seria esperado decorrente de uma provável hemodiluição (Figura 2).

Na contagem diferencial de leucócitos observou-se que o número relativo de neutrófilos total, linfócitos, monócitos, basófilos e eosinófilos não sofreu variações significativas dentro de cada um dos grupos estudados, estando de acordo com os dados descritos na literatura<sup>4,20,21,22,26,27,28,29</sup>. Quando comparados os grupos, a contagem diferencial também não se mostrou como boa indicadora de variação sob efeito da doação de sangue ou da utilização da plasmaferese.

Os resultados obtidos para a bioquímica sérica dos caprinos que constituíram os grupos controle e experimental estão apresentados na tabela 3. Os teores de proteínas totais revelaram que não houve diferença significativa dos seus valores medianos na comparação entre os grupos, o que caracteriza este parâmetro como inadequado para a avaliação do confronto



Tabela 2 - Valores de mediana dos constituintes do leucograma de caprinos adultos, sadios, doadores de sangue total, que constituíram o grupo controle (que não recebeu tratamento) e grupo experimental (que recebeu a plasmáfereze), após a retirada do equivalente a 20% do volume de sangue total circulante - São Paulo - 2009

Grupo	Tempo em relação ao da doação de sangue (horas)	Le* ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	Neutrófilos (%)	Linfócitos (%)	Monócitos (%)	Basófilos (%)	Eosinófilos (%)
C O N T R O L E	i. at.**	6,075 <sup>bcd P</sup>	45,00 <sup>a Q</sup>	51,00 <sup>a P</sup>	1,50 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>	0,50 <sup>a P</sup>
	i. ap.***	4,580 <sup>d R</sup>	40,50 <sup>a Q</sup>	53,50 <sup>a P</sup>	2,00 <sup>a P</sup>	0,50 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
	12	8,438 <sup>ab P</sup>	63,00 <sup>a P</sup>	35,00 <sup>a Q</sup>	1,50 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>
	24	6,200 <sup>bcd P</sup>	43,00 <sup>a Q</sup>	52,00 <sup>a P</sup>	2,50 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
	72	4,900 <sup>cd Q</sup>	48,00 <sup>a Q</sup>	48,00 <sup>a P</sup>	2,00 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
	120	5,700 <sup>bcd P</sup>	47,50 <sup>a Q</sup>	47,00 <sup>a P</sup>	2,50 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>	1,50 <sup>a P</sup>
	240	6,100 <sup>bcd P</sup>	39,00 <sup>a Q</sup>	56,50 <sup>a P</sup>	2,50 <sup>a P</sup>	0,50 <sup>a P</sup>	1,50 <sup>a P</sup>
	360	6,300 <sup>bcd P</sup>	43,00 <sup>a Q</sup>	52,00 <sup>a Q</sup>	2,50 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
	480	5,475 <sup>bcd Q</sup>	39,00 <sup>a Q</sup>	54,50 <sup>a P</sup>	2,00 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
	720	5,550 <sup>bcd Q</sup>	38,50 <sup>a Q</sup>	55,50 <sup>a P</sup>	3,50 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
E X P E R I M E N T A L	i. at.**	6,575 <sup>a P</sup>	36,50 <sup>a Q</sup>	60,00 <sup>ab P</sup>	1,50 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>	1,50 <sup>a P</sup>
	i. ap.***	9,800 <sup>a P</sup>	58,50 <sup>a P</sup>	37,50 <sup>b Q</sup>	3,00 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	0,50 <sup>a P</sup>
	12	7,875 <sup>a P</sup>	52,00 <sup>a P</sup>	45,00 <sup>ab Q</sup>	1,50 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>
	24	8,650 <sup>a P</sup>	46,50 <sup>a Q</sup>	47,50 <sup>ab P</sup>	2,00 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
	72	8,550 <sup>a P</sup>	34,50 <sup>a Q</sup>	63,00 <sup>a P</sup>	3,00 <sup>a P</sup>	0,50 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
	120	6,725 <sup>a P</sup>	39,50 <sup>a Q</sup>	54,50 <sup>ab P</sup>	2,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>	1,50 <sup>a P</sup>
	240	7,475 <sup>a P</sup>	39,00 <sup>a Q</sup>	56,00 <sup>ab P</sup>	3,00 <sup>a P</sup>	0,50 <sup>a P</sup>	1,50 <sup>a P</sup>
	360	9,600 <sup>a P</sup>	32,00 <sup>a Q</sup>	64,00 <sup>ab P</sup>	2,00 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
	480	9,400 <sup>a P</sup>	45,50 <sup>a Q</sup>	49,50 <sup>ab P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>
	720	8,525 <sup>a P</sup>	41,00 <sup>a Q</sup>	54,50 <sup>ab P</sup>	2,00 <sup>a P</sup>	0,00 <sup>a P</sup>	1,00 <sup>a P</sup>

\* Le - Leucócitos

\*\* i. at. - momento imediatamente antes à doação

\*\*\* i. ap. - momento imediatamente após à doação

Medianas com letras minúsculas não coincidentes na mesma coluna dentro do grupo denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ )

Medianas com letras maiúsculas não coincidentes na mesma coluna, em momentos semelhantes entre grupos, denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ )

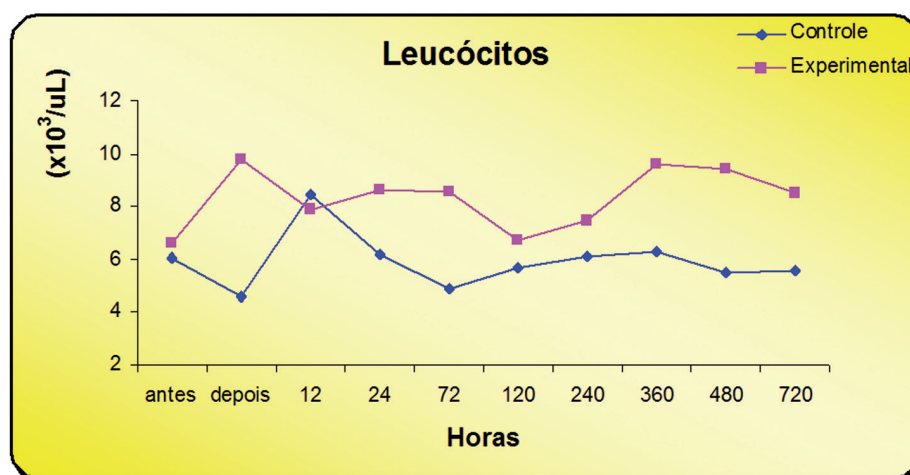


Figura 2 - Evolução dos valores das medianas obtidas para o número de leucócitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) no sangue de caprinos adultos, sadios, doadores de sangue total, que constituíram o grupo controle (que não recebeu tratamento) e o grupo experimental (que recebeu a plasmáfereze), após a retirada do equivalente a 20% do volume de sangue total circulante - São Paulo - 2009

Tabela 3 - Valores de mediana dos constituintes bioquímicos séricos de caprinos adultos, sadios, doadores de sangue total que constituíram o grupo controle (que não recebeu tratamento) e grupo experimental (que recebeu a plasmaferese), após a retirada do equivalente a 20% do volume de sangue total circulante - São Paulo - 2009

Grupo	Tempo em relação ao da doação de sangue (horas)	Pt* (g/dL)	Alb (g/dL)	Glob (g/dL)	Relação A:G	Ur (mg/dL)	Cre (mg/dL)	Hb livre (mg/dL)
C O N T R O L E	i. at.**	7,295 <sup>abc P</sup>	2,745 <sup>ab PQ</sup>	4,370 <sup>ab P</sup>	0,6351 <sup>c P</sup>	61,375 <sup>a PQ</sup>	1,745 <sup>a PQ</sup>	2,390 <sup>a Q</sup>
	i. ap.***	6,295 <sup>de P</sup>	2,515 <sup>de Q</sup>	3,755 <sup>def P</sup>	0,6748 <sup>abc P</sup>	61,540 <sup>a PQ</sup>	1,715 <sup>a Q</sup>	2,745 <sup>a P</sup>
	12	6,190 <sup>e P</sup>	2,485 <sup>de Q</sup>	3,690 <sup>f P</sup>	0,6930 <sup>a P</sup>	65,205 <sup>a PQR</sup>	1,630 <sup>a Q</sup>	1,215 <sup>a R</sup>
	24	6,280 <sup>e P</sup>	2,555 <sup>cde Q</sup>	3,690 <sup>ef P</sup>	0,6943 <sup>ab P</sup>	64,645 <sup>a P</sup>	1,650 <sup>a Q</sup>	1,210 <sup>a RS</sup>
	72	6,585 <sup>cde P</sup>	2,660 <sup>bcde Q</sup>	3,930 <sup>abcdef P</sup>	0,6645 <sup>abc P</sup>	67,860 <sup>a PQ</sup>	1,725 <sup>a P</sup>	1,230 <sup>a R</sup>
	120	6,750 <sup>cde P</sup>	2,630 <sup>bcde Q</sup>	3,980 <sup>abcdef P</sup>	0,6709 <sup>abc P</sup>	59,870 <sup>a Q</sup>	1,685 <sup>a Q</sup>	2,540 <sup>a QR</sup>
	240	6,675 <sup>cde P</sup>	2,645 <sup>bcde Q</sup>	4,005 <sup>abcdef P</sup>	0,6675 <sup>abc P</sup>	61,445 <sup>a PQ</sup>	1,515 <sup>a Q</sup>	0,550 <sup>a S</sup>
	360	6,970 <sup>bcd P</sup>	2,740 <sup>abc P</sup>	4,205 <sup>abcde P</sup>	0,6433 <sup>bc P</sup>	61,205 <sup>a PQ</sup>	1,660 <sup>a Q</sup>	1,585 <sup>a Q</sup>
	480	6,980 <sup>abc P</sup>	2,740 <sup>abc PQ</sup>	4,275 <sup>abc P</sup>	0,6447 <sup>abc P</sup>	55,185 <sup>a Q</sup>	1,520 <sup>a Q</sup>	1,370 <sup>a Q</sup>
	720	6,875 <sup>bc P</sup>	2,730 <sup>abc P</sup>	4,195 <sup>abcd P</sup>	0,6421 <sup>abc P</sup>	49,060 <sup>a Q</sup>	1,530 <sup>a Q</sup>	1,210 <sup>a R</sup>
E X P E R I M E N T A L	i. at.**	7,060 <sup>ab P</sup>	2,625 <sup>a Q</sup>	4,545 <sup>ab P</sup>	0,5939 <sup>d P</sup>	38,535 <sup>a R</sup>	1,465 <sup>a Q</sup>	3,190 <sup>a P</sup>
	i. ap.***	6,160 <sup>d P</sup>	2,355 <sup>c Q</sup>	3,720 <sup>d P</sup>	0,6573 <sup>ab P</sup>	40,315 <sup>a R</sup>	1,420 <sup>a Q</sup>	3,160 <sup>ab P</sup>
	12	6,545 <sup>cd P</sup>	2,495 <sup>abc Q</sup>	4,005 <sup>cd P</sup>	0,6262 <sup>bcd P</sup>	37,125 <sup>a R</sup>	1,345 <sup>ab Q</sup>	2,560 <sup>abc P</sup>
	24	6,440 <sup>cd P</sup>	2,520 <sup>abc Q</sup>	3,930 <sup>cd P</sup>	0,6204 <sup>bcd P</sup>	41,185 <sup>a R</sup>	1,330 <sup>ab Q</sup>	0,500 <sup>bcd S</sup>
	72	6,650 <sup>cd P</sup>	2,490 <sup>abc Q</sup>	4,145 <sup>bcd P</sup>	0,6087 <sup>bcd P</sup>	47,930 <sup>a Q</sup>	1,360 <sup>ab Q</sup>	1,400 <sup>abcd R</sup>
	120	6,715 <sup>cd P</sup>	2,500 <sup>bc Q</sup>	4,190 <sup>cd P</sup>	0,5914 <sup>bcd P</sup>	34,765 <sup>a R</sup>	1,325 <sup>b Q</sup>	0,815 <sup>abcd R</sup>
	240	6,805 <sup>abcd P</sup>	2,500 <sup>abc Q</sup>	4,245 <sup>bcd P</sup>	0,6169 <sup>bcd P</sup>	42,250 <sup>a Q</sup>	1,345 <sup>ab Q</sup>	0,300 <sup>d S</sup>
	360	6,835 <sup>bcd P</sup>	2,560 <sup>abc Q</sup>	4,250 <sup>bcd P</sup>	0,5991 <sup>cd P</sup>	48,620 <sup>a Q</sup>	1,335 <sup>ab Q</sup>	0,400 <sup>d S</sup>
	480	6,860 <sup>abc P</sup>	2,590 <sup>abc Q</sup>	4,315 <sup>bc P</sup>	0,6075 <sup>cd P</sup>	57,840 <sup>a Q</sup>	1,390 <sup>ab Q</sup>	0,470 <sup>cd S</sup>
	720	6,625 <sup>bc P</sup>	2,560 <sup>abc Q</sup>	4,155 <sup>bc P</sup>	0,5974 <sup>bcd P</sup>	47,410 <sup>a Q</sup>	1,365 <sup>ab Q</sup>	1,310 <sup>abcd R</sup>

\* Pt – Proteína total; Alb – Albumina ;Glob – Globulinas; Relação A:G – relação albumina/globulinas; Ur – Ureia; Cre – Creatinina; Hb livre – Hemoglobina plasmática

\*\* i. at. – momento imediatamente antes à doação

\*\*\* i. ap. – momento imediatamente após a doação

– dados não obtidos

Medianas com letras minúsculas não coincidentes na mesma coluna dentro do grupo denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Medianas com letras maiúsculas não coincidentes na mesma coluna, em momentos semelhantes entre grupos, denotam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

entre os animais doadores de sangue que receberam ou não a plasmaferese. Entretanto, ao se analisar cada grupo individualmente nota-se que há uma queda significativa, em ambos os grupos, nos valores da proteína total do momento imediatamente anterior para aquele imediatamente posterior à doação (Figura 3). Estes valores estavam abaixo dos descritos na literatura por Brooks, Tillman e Niemi<sup>30</sup> e Kaneko, Harvey e Bruss<sup>31</sup> ou em semelhança com aqueles demonstrados por vários outros autores<sup>4,5,22,27,32,33,34</sup>. Essa redução de valores manteve-se até o momento de 24 horas (no grupo controle) e até 120 horas (no grupo experimental) após a doação. As variações relatadas para a proteína total decorreram da retirada do mesmo volume

de plasma de ambos os grupos, sem devolução deste fluido componente do sangue, e, portanto, eram esperadas conforme também destacado por Phillips et al.<sup>13</sup> e Magdesian, Brook e Wickler<sup>10</sup>.

À semelhança dos teores de proteína total, as frações albumina, globulinas, e a relação albumina/globulinas não apresentaram diferenças significativas entre os grupos analisados, não servindo como bom indicador de alterações na comparação entre grupos por efeito da plasmaferese. Houve, entretanto, variações dentro de cada um dos grupos estudados, sendo que a fração albumina apresentou notória diminuição significativa dos seus valores medianos, em ambos os grupos, do momento imediatamente antes para aque-

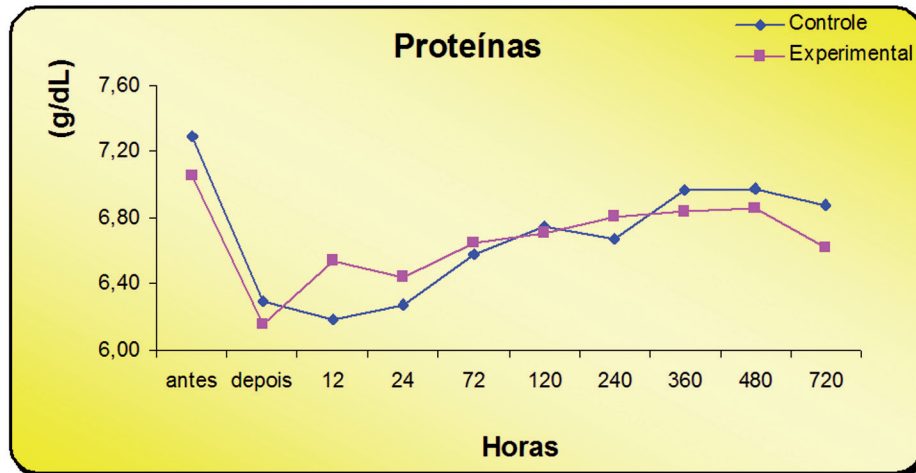


Figura 3 - Evolução dos valores das medianas obtidas para os teores séricos de proteínas totais (g/dL) de caprinos adultos, saudáveis, doadores de sangue total, que constituíram o grupo controle (que não recebeu tratamento) e o grupo experimental (que recebeu a plasmáfereze), após a retirada do equivalente a 20% do volume de sangue total circulante - São Paulo - 2009

le imediatamente após a doação de sangue. Dentro do grupo controle, essa diferença persistiu até o momento de 24 horas após a doação, enquanto no grupo experimental essa diferença persistiu mais longamente, até 120 horas após a doação de sangue.

As variações das globulinas evidenciaram-se significativamente menores no momento imediatamente após a doação de sangue, persistindo a diminuição em ambos os grupos até o momento de 24 horas, em relação ao momento imediatamente antes da doação. Os valores médios encontrados das globulinas também se mantiveram mais elevados que os descritos em literatura<sup>4,5,30,31,32,33</sup>. Essa diminuição dos valores das frações de albumina e globulinas é semelhante à encontrada por Magdesian, Brook e Wickler<sup>10</sup>, podendo-se considerar que a mesma dentro de cada grupo é importante particularmente como indicador dos efeitos da doação de sangue ao longo do tempo de estudo.

Semelhantemente, a relação albumina/globulina não apresentou diferenças entre os grupos estudados. Houve apenas uma pequena variação dentro de cada um deles, com maior valor de mediana no momento de 12 horas após a doação (grupo controle) ou no

momento imediatamente após a doação (grupo experimental), sendo estes significativamente maiores na comparação com os momentos imediatamente antes e o das 360 horas após a doação (ambos os grupos). Todos os valores observados foram similares àqueles da literatura pesquisada<sup>30,31,33,34</sup>.

Na avaliação dos teores séricos de ureia não foi encontrada diferença dentro de cada um dos grupos estudados, havendo, porém diferença significativa entre os mesmos. De forma geral o grupo controle apresentou os maiores valores medianos de ureia nos momentos imediatamente antes, imediatamente após, 24 e 120 horas após a doação de sangue, comportamento que talvez possa ser explicado pela não reposição do volume de sangue retirado no grupo controle. Os dados encontrados em ambos os grupos variaram de forma similar àqueles obtidos por outros autores pesquisados<sup>34,35</sup>.

A análise dos teores séricos de creatinina permitiu verificar que ambos os grupos também se mostraram com valores semelhantes aos constatados na literatura pesquisada<sup>4,27,31,34</sup>, não apresentando variações discrepantes dentro e entre os grupos. Da mesma forma



que na avaliação da ureia sérica, evidenciou-se que o grupo controle tinha valores de maiores magnitudes, quando comparados aos valores padrões estabelecidos por autores pesquisados<sup>34,35</sup>, desde o primeiro momento, o que inviabiliza seu uso para a avaliação da plasmaferese.

Com a finalidade de se apurar se houve ou não hemólise durante a realização da plasmaferese, foi quantificada a hemoglobina plasmática de ambos os grupos estudados. Pode-se visualizar na tabela 3 que não foi encontrada qualquer alteração indicativa da presença de hemólise nos diferentes tempos do grupo controle. Na comparação entre grupos encontraram-se quatro diferenças significativas, sendo que duas apresentaram maiores valores no grupo experimental, e duas no controle, impossibilitando afirmar se houve ou não hemólise no grupo experimental em decorrência da aplicação da plasmaferese. Outra dificuldade encontrada é a possibilidade de se confrontar os valores obtidos nesta pesquisa com aqueles da literatura, uma vez que estes inexistem para a espécie caprina, sendo então somente possível a comparação com valores encontrados por Machado<sup>36</sup> em ovinos. Nesta comparação apenas os três primeiros momentos do grupo experimental e aqueles imediatamente antes, e após, e 120 horas após a doação do grupo controle, foram similares aos encontrados por Machado<sup>36</sup> em ovinos, apresentando-se os demais valores em cada grupo com magnitudes inferiores aos

valores já determinados por esse mesmo autor. No conjunto, os resultados são indicativos de que aparentemente a plasmaferese é um procedimento seguro não promovendo a hemólise medida pela hemoglobina livre plasmática.

## Conclusões

A análise dos resultados obtidos neste estudo permitiu concluir que as observações clínicas efetuadas durante o período de até 30 dias após a doação de 20% do volume sanguíneo total e a realização da plasmaferese nos animais dos grupos estudados não sofreram variações influenciadas por esses procedimentos, sendo semelhantes aos padrões fisiológicos estabelecidos para espécimes caprinos hígidos. Da mesma forma, a variação dos componentes do eritrograma pode ser considerada como um bom indicador da eficiência do uso da plasmaferese na aceleração da recuperação dos doadores de plasma, sob o ponto de vista hematimétrico.

A aplicação da técnica da plasmaferese em caprinos mostrou-se eficiente como recurso para a otimização do tempo de recuperação de animais doadores de plasma, não determinando hemólise, medida pela hemoglobina livre no plasma, durante o seu procedimento, porém a aplicação da mesma é somente viável em locais com infraestrutura hospitalar ou de pesquisa, onde poderá ser usada com a finalidade do estabelecimento de banco de plasma.

## Referências

1. GARCIA, M.; D'ANGELINO, J. L. Parasitoses em Caprinos. In: D'ANGELINO, J. L. **Manejo, patologia e clínica de caprinos**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1985. p. 149-170.
2. SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. Goat medicine. **Philadelphia: Lea and Febiger**, 1994. v. 1, p. 193-229.
3. BENESI, F. J. Diagnóstico e terapia das anemias em caprinos. In: D'ANGELINO, J. L. **Manejo, patologia e clínica de caprinos**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1985. p. 171-192.
4. PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. 513 p.
5. BENNETT, D. G. Anemia and hypoproteinemia. Symposium on sheep and goat medicine. **Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practice**, v. 5, n. 3, p. 511-524, 1983.
6. ANTONÁCIO, F. **Hemoterapia: uso terapêutico do sangue e dos componentes sanguíneos**. São Paulo: Rumo Gráfica Editora, 1980. p. 3-34.
7. BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**.

7. ed. Philadelphia: Baillière Tindall, 1989. 1502 p.
8. HUNT, E.; WOOD, B. Use of blood and blood products. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 15, n. 3, p. 641-662, 1999.
9. BYARS, T. D.; DIVERS, T. J. Clinical use of blood transfusion. **California Veterinarian**, v. 1, p. 14-16, 1981.
10. MAGDESIAN, K. G.; BROOK, D.; WICKLER, S. J. Temporal effects of plasmapheresis on serum proteins in horses. **American Journal Veterinary Research**, v. 53, n. 7, p. 1149-1153, 1992.
11. POST, G. S. Hemapheresis. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (Ed.). **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 2000. p. 869-873.
12. MORRIS, D. D. Blood products in large animal medicine: a comparative account of current and future technology. **Equine Veterinary Journal**, v. 19, n. 4, p. 272-275, 1987.
13. PHILLIPS, A. W.; COURTENAY, J. S.; RUSTON, R. D. H.; MOORE, J.; BAKER, C.; EPPS, H. B. G. Plasmapheresis of horses by extracorporeal circulation of blood. **Research Veterinary Science**, v. 16, n. 1, p. 35-39, 1974.
14. BIRGEL, E. H. Hematologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1983. p. 2-62.
15. GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; MAXIMA, M. D. Determination of serum proteins by means of biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, v. 177, n. 2, p. 751-766, 1949.
16. STRUFALDI, B. **Prática de bioquímica clínica**. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1987.
17. DOUMAS, B. T.; BIGGS, H. G.; WATSON, W. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. **Clinica Chimica Acta**, v. 31, p. 87-96, 1971.
18. LUSTGARTEN, J. A.; WENK, R. E. Simple, rapid, kinetic method for serum creatinine measurement. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 11, p. 1419-1422, 1972.
19. GRAPHPAD Instat®. Versão 3.06, 32 bit para Windows® 95/NT. [s.l.]: Graphpad, 2003.
20. BIRGEL, E. H. **Estudo do quadro eritrocitário de caprinos (Capra hircus, L.) normais, criados no estado de São Paulo: influências de fatores raciais, sexuais, etários e alimentares**. 1973. 92 f. Tese (Livro-Docência em Patologia e Clínica Médica) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1973.
21. BENESI, F. J. Valores hematológicos de animais domésticos normais criados no estado de São Paulo. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1983. p. 63-69.
22. KRAMER, J. W. Normal hematology of cattle, sheep and goats. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (Ed.). **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 2000. 1344 p.
23. WILKINS, J. H.; HODGES, R. R. D. H. **Observations on normal goat blood**. Journal Royal Army Veterinary Corps, v. 33, p. 7-10, 1962.
24. NANGIA, O. P.; AGARWAL, V. K.; SINGH, A. Studies on blood cellular constituents of female beetal goats from birth to over five years of age. **Indian Journal of Animal Science**, v. 38, p. 616-625, 1968.
25. ODUYE, O. O. Hematological values of Nigerian goats and sheep. **Tropical Animal Health Production**, v. 8, n. 3, p. 131-136, 1976.
26. LEWIS, J. H. Comparative hematology: Studies on Goats. **American Journal Veterinary Research**, v. 37, p. 601-605, 1976.
27. DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W.; MAHAFFEY, E. A. **Veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. 3. ed. Ames: Iowa State University Press, 1994.
28. HOLMAN, H. H.; DEW, S. M. The blood picture of the goat. IV. Changes in coagulation times, platelet counts and leukocyte numbers associated with age. **Research Veterinary Science**, v. 6, p. 510-521, 1965.
29. EARL, P. R.; CARRANZA, A. B. Leukocyte differential counts of the Mexican goat. **International Goat and Sheep Research**, v. 1, p. 6-10, 1980.
30. BROOKS, D. L.; TILLMAN, P. C.; NIEMI, S. M. Ungulates as laboratory animals. In: FOX, J. G.; COHEN, B. J.; LOEW, F. M. **Laboratory animal medicine**. Orlando: Academic Press, 1984. 750 p.
31. KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.
32. HOFFMAN, W. E. A partial list of normal values. In: HOWARD, J. L. **Current veterinary therapy: food animal practice**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1981.
33. MITRUKA, B. M.; RAWNSLEY, H. M. **Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans**. 2. ed. New York: Masson, 1981. 272 p.
34. PÉREZ, J. M.; GONZÁLEZ, J. E. G.; PÉREZ, M. C.; FRANDOS, P.; SORIGUER, C. R.; SERRANO, E. Hematological and biochemical reference intervals for Spanish ibex. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n. 1, p. 209-215, 2003.
35. DEGHANI, S.; NAZIFI, S.; BARZEGAR, M. R. Evaluation of cellular and biochemical parameters of blood and peritoneal fluid following exploratory laparotomy in the goat. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 47, n. 3, p. 143-150, 2000.
36. MACHADO, C. H. **Uso de tetratiomolibdato no tratamento de intoxicação cúprica experimental, em ovinos: avaliações clínica e toxicológica**. 1998. 138 f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.