

Avaliação física, citológica, conteúdo de proteínas e determinação qualitativa de globulinas do líquido de cães normais e de cães com encefalite por cinomose

Cerebrospinal fluid physical, cytological and biochemical evaluation from clinically normal and distemper encephalitis affected dogs

CORRESPONDENCE TO:
Mary Marcondes Feitosa
Curso de Medicina Veterinária
Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da
UNESP
Rua Clóvis Pestana, 793
16050-680 - Araçatuba - SP
Brasil
e-mail: aguemi@meiser.com.br

1 - Curso de Medicina Veterinária da UNESP, Araçatuba, SP
2 - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Botucatu, SP

Mary Marcondes FEITOSA¹; Francisco Leydson Formiga FEITOSA¹; Aguemi KOHAYAGAWA²; Paulo Roberto CURI²; Suely Regina Kato MOGAMI²

RESUMO

O presente experimento teve como objetivos estabelecer padrões de referência para constituintes do líquido cefalorraquidiano de cães normais e de cães jovens portadores de encefalite por cinomose. Foram utilizados 40 animais, sendo 20 cães normais (de seis a 48 meses de idade) e 20 cães com cinomose (até 18 meses de idade). Os exames físico, citológico e bioquímico do líquido dos cães normais permitiram o estabelecimento de valores para densidade: $1007 \pm 1,83$, pH: $8,30 \pm 0,34$, contagem global de hemácias: $6,65 \pm 5,27/\mu\text{l}$, contagem global de leucócitos: $2,85 \pm 1,63/\mu\text{l}$ e dosagem de proteínas: $38,70 \pm 15,49$ mg/dl. Os exames físico, citológico e bioquímico do líquido de cães com cinomose permitiram o estabelecimento de valores para densidade: $1010 \pm 1,50$, pH: $8,35 \pm 0,46$, contagem global de hemácias: $8,55 \pm 6,48/\mu\text{l}$, contagem global de leucócitos: $99,05 \pm 106,93/\mu\text{l}$ e dosagem de proteínas: $219,03 \pm 81,08$ mg/dl. O líquido apresentou-se límpido e incolor em todas as amostras dos cães normais e na maioria das amostras de cães com cinomose. Algumas amostras dos cães com cinomose encontravam-se discretamente turvas e/ou xantocrômicas. O Teste de Pandy foi negativo em todas as amostras de cães normais e positivo, variando de duas a três cruzes, nos animais com cinomose. A contagem diferencial de células do líquido de cães com cinomose revelou uma predominância (67% a 97%) de linfócitos em todas as amostras, presença de 2% a 24% de monócitos e 2% a 20% de plasmócitos. Em algumas amostras observaram-se macrófagos, neutrófilos segmentados e células endoteliais. Verificou-se uma correlação positiva entre o número de plasmócitos, os níveis protéicos totais e a taxa de globulinas do líquido de cães com cinomose.

UNITERMOS: Líquido cerebrospinal; Cinomose; Sistema nervoso; Cães

INTRODUÇÃO

Análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) é de grande importância na avaliação de doenças neurológicas, particularmente aquelas de origem infecciosa, pois sua composição pode variar diretamente com processos patológicos do sistema nervoso central. Uma das principais causas de distúrbios neurológicos em cães é a infecção pelo vírus da cinomose. Nestes casos, o líquido pode apresentar alterações no seu aspecto, coloração, celularidade e concentração de proteínas. De acordo com Benjamin² (1978); Braund³ (1980) e Chrisman⁵ (1985), em encefalites causadas pelo vírus da cinomose observa-se uma pleocitose moderada, predominantemente de linfócitos e monócitos, havendo, raramente, a presença de neutrófilos^{2,3,5}. Segundo Greene¹⁵ (1986), Cook; Denicola⁷ (1988) e Greene; Appel¹⁶ (1990), em cães com cinomose, os níveis de proteínas líquóricas, particularmente as globulinas, acham-se elevados^{7,15,16}. O presente trabalho teve como objetivos estabelecer padrões de referência para constituintes do LCR de cães normais e de cães portadores de encefalite por

cinomose, determinados pelo exame físico, citológico (contagem global e diferencial de células) e bioquímico (proteína total e globulinas).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dois grupos de animais. O primeiro grupo constou de 20 cães, 12 machos e 8 fêmeas, sem raça definida, entre seis e 48 meses de idade, clinicamente saudáveis. O segundo grupo foi constituído de 20 cães, 15 machos e 5 fêmeas, sem raça definida, com idade máxima de 18 meses, portadores de encefalite por cinomose, encaminhados ao ambulatório do Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP - Botucatu. As amostras de LCR foram obtidas através de punção da cisterna magna. A determinação do aspecto do LCR foi realizada comparando-se um tubo de água destilada frente ao tubo contendo líquido, ambos contra uma superfície branca e uma folha com letras impressas. A determinação da cor do LCR foi realizada comparando-se um tubo de água destilada e um tubo de líquido previamente centrifugado contra uma superfície de cor branca. A densidade do líquido foi determinada por refratômetro de

Abbe. Os valores de pH foram determinados através de tira reagente Merck. A contagem do número total de células foi realizada em câmara de Fuchs-Rosenthal, com líquor não diluído. Nos casos em que a contagem global de células encontrava-se acima de 8 células/ μ l, realizava-se a técnica de centrifugação com enriquecimento protéico, de Reis & Palhano, citada por Reis²³ (1980), e o sedimento era examinado através de um esfregaço corado pelo corante de Rosenfeld, contando-se 100 células em cada esfregaço²³. A proteína total líquórica foi determinada pelo método Kit Microprote da DOLES e as globulinas líquóricas foram determinadas através do Teste de Pandy, segundo Coles⁶, 1980. Os dados obtidos em cada análise foram tabulados e submetidos à análise estatística para a comparação das variáveis. As comparações entre os grupos G1 e G2 foram efetuadas de duas maneiras, dependendo do tipo de variável analisada. Teste t para duas amostras independentes (Zar³¹, 1984) usado no caso de variáveis cuja tendência central pode ser adequadamente representada pela

média (x). Prova não-paramétrica de Mann Whitney (Zar³¹, 1984) usada para variáveis cuja tendência central foi mais adequadamente representada pela mediana (md) do grupo. Teste do X² (Zar³¹, 1984) para variáveis classificatórias. As estatísticas calculadas foram consideradas significantes quando $p < 0,05$ ³¹.

RESULTADOS

O aspecto do LCR de cães normais foi límpido em todas as amostras, e nos cães com cinomose foi discretamente turvo em duas amostras e límpido nas demais. A cor do LCR de cães normais foi incolor em todas as amostras, e nos cães com cinomose foi discretamente xantocrômica em 7 amostras e incolor nas demais.

Os valores para densidade, pH, dosagem de proteínas, teste de Pandy, contagem global e diferencial de células, estão resumidos na Tab. 1.

Tabela 1

Valores Médios* da densidade, pH, proteína total, Teste de Pandy, contagem global de hemácias e contagem global de leucócitos do líquor (LCR) de cães normais (G1) e de cães com cinomose (G2), bem como a apresentação do cálculo e comentário estatístico. Botucatu - S. Paulo, 1992.

VARIÁVEL	CÃES NORMAIS (G1) CINOMOSE	CÃES COM CÁLCULO (G2) ESTATÍSTICO	COMENTÁRIO ESTATÍSTICO
Densidade	1007 \pm 1,83	1010 \pm 1,50	t = 6,540; p<0,0 G1 < G2
pH	8,30 \pm 0,34	8,35 \pm 0,46	t = 0,390; p<0,50 G1 = G2
Proteína total (mg/dl)	38,70 \pm 15,49	219,03 \pm 81,08	t = 9,770; p<0,001 G1 < G2
Teste de Pandy	negativo	++ a +++	X ² = 40,00; G1 < G2
			p<0,001
Hemácias (/ μ l)**	6,65 \pm 5,27	8,55 \pm 6,48	t = 1,017; p>0,30 G1 = G2
Leucócitos (/ μ l)**	2,85 \pm 1,63	8,55 \pm 106,93	U = 0; p<0,001 G1 < G2

* Dados expressos em média (x) \pm desvio padrão (DP)

** Linfócitos (67-97%); Monócitos (2-24%); Plasmócitos (0-20%); Macrófagos (0-10%); Neutrófilos Segmentados (0-13%).

DISCUSSÃO

Todas as amostras de líquor dos animais normais apresentam um aspecto límpido e transparente, concordando com os relatos de Croft⁹ (1955), Delahunta¹¹ (1977), Benjamin² (1978), Spano; Hoerlein²⁵ (1978), Coles⁶ (1980), Mayhew; Beal²⁰ (1980), Oliver; Lorenz²¹ (1983), Chrisman⁵ (1985) e Duncan *et al.*¹² (1987), os quais afirmaram que um líquor normal não apresenta turbidez e é completamente transparente^{2,5,6,9,11,12,20,21,25}. Esses autores comentaram, ainda, que a turbidez no líquor ocorre geralmente devido a um aumento na celularidade da amostra, com presença de 500 ou mais células/ μ l. Porém, segundo Cook; Denicola⁷ (1988), a mesma já pode ser observada em amostras contendo mais de 200 leucócitos/ μ l⁷. Dois cães do grupo de animais com cinomose possuíam um líquor de aspecto discretamente turvo, sendo que um deles apresentava 400 leucócitos/ μ l e o outro / μ l. Apesar de haver uma pleocitose no líquor dos dois animais, a turbidez não pode ser creditada exclusivamente a esse aumento do número de células, já que outros cães do mesmo grupo apresentavam amostras de líquor límpido, com até 380 leucócitos / μ l. Tal fato vem confirmar as

observações de Benjamin² (1978) que assinalou que, em casos de encefalites virais, o líquor pode permanecer claro e incolor². Apesar da taxa de proteínas estar bastante elevada nos dois cães com amostras de líquor discretamente turvo, 310,00 mg/dl e 375,00 mg/dl, outros animais do mesmo grupo apresentaram valores como 360,00 e 300,00 mg/dl, sem alteração do aspecto normal do líquor. De acordo com Spano; Hoerlein²⁵ (1978) e Mayhew; Beal²⁰ (1980), a presença de grandes quantidades de proteína em encefalites virais pode produzir turbidez das amostras^{20,25}. Em vista das nossas observações, pode-se inferir que este aumento nem sempre altera as características macroscópicas do líquor. Nem mesmo a elevação dos níveis de proteína (360,00 mg/dl) associada a uma pleocitose (380 leucócitos/ μ l), observadas em um animal, produziu turbidez da amostra. Em função disso, pode-se afirmar que o aspecto do líquor não é um bom indicativo da sua normalidade, confirmando as observações de Kay *et al.*¹⁸ (1974). Todos os cães normais apresentaram um líquor incolor, coincidindo com as informações de Delahunta¹¹ (1977), Benjamin² (1978), Spano; Hoerlein²⁵ (1978), Coles⁶ (1980), Mayhew; Beal²⁰ (1980), Chrisman⁵ (1985), Cook; Denicola⁷ (1988) e Feldman¹³ (1989)^{2,5,6,7,11,13,20,25}.

Todavia, 35% das amostras de liquor dos cães com cinomose apresentavam-se discretamente xantocrômicas, provavelmente por um aumento nos níveis de proteínas, como foi sugerido por Duncan *et al.*¹² (1987), já que esses animais apresentavam valores variando de 233,30 a 375,00 mg/dl¹². No entanto, 20% dos animais apresentavam valores acima de 200 mg/dl com um líquido incolor, demonstrando que nem sempre o aumento dos níveis protéicos altera a coloração do mesmo. A densidade média do liquor dos cães normais foi inferior à dos cães com cinomose, mas ambas permaneceram dentro da faixa de normalidade descrita por Cornelius⁸ (1958), Kay *et al.*¹⁸ (1974), Fankhauser, citado por Palmer²² (1976) e Spano; Hoerlein²⁵ (1978), e no entanto com valores acima do normal, segundo Benjamin² (1978) e Wilson; Stevens³⁰ (1978)^{2,8,18,22,25,30}. De acordo com Mayhew; Beal²⁰ (1980), a elevação da densidade pode ocorrer em casos de pleocitose e de aumento dos níveis protéicos, como foi observado no presente experimento²⁰. No entanto, apesar da densidade média obtida no liquor de cães com cinomose ter sido maior do que a do grupo de cães normais, a avaliação da mesma é insuficiente por si só para estabelecer o diagnóstico de uma anormalidade, já que foram constatadas algumas amostras normais com densidade 1010 e amostras alteradas com densidade 1008. Não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre o pH do grupo de cães normais e do grupo de cães com cinomose, indicando que a mensuração do pH do grupo de cães com cinomose e permanecem dentro da faixa de normalidade descrita por Mayhew; Beal²⁰ (1980) e Chrisman⁵ (1985) e um pouco elevados, quando comparados aos descritos por Benjamin² (1978) e Feldman¹³ (1989)^{2,5,13,20}. Segundo Cook; Denicola⁷ (1988), um liquor normal não possui hemácias, contudo, nas amostras ora estudadas observou-se a presença de alguns eritrócitos, confirmando as observações de Reis²³ *et al.* (1980)⁷⁻²³. Não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre as contagens de hemácias nos dois grupos de cães. Apesar de existirem discordâncias na literatura com relação ao número total de leucócitos de um liquor normal, a maioria dos autores concorda que este número deve ser menor do que 8 leucócitos / μ l, exceto Coles⁶ (1980), que afirmou que podem ser encontrados até 25 leucócitos / μ l em cães hígidos⁶. No presente experimento, os animais sadios apresentaram valores considerados normais por Kay *et al.*¹⁹ (1974), Benjamin² (1978), Spano; Hoerlein²⁵ (1978), Coles⁶ (1980), Chrisman⁵ (1985), Duncan *et al.*¹² (1987) e Cook; Denicola⁷ (1988)^{2,5,6,7,12,18,25}. Contudo, duas amostras de liquor apresentaram 6 leucócitos/ μ l e outras duas 5 leucócitos/ μ l, discordando de Oliver; Lorenz²¹ (1983), Kirk¹⁹ (1984); Braun⁴ (1986), que relataram que um liquor normal apresenta até 5 células/ μ l, e Fernandes¹⁴ (1990) que, analisando o liquor de 20 cães clinicamente sadios, obteve valores compreendidos entre 0 e 4 células / μ l^{4,14,19,21}. Em função disso, no presente experimento, considerou-se a ocorrência de pleocitose em todas as amostras com mais de 8 leucócitos/ μ l. Todas as amostras do grupo de cães com cinomose apresentaram uma pleocitose variando de 19 a 400 células/ μ l, concordando com os relatos de Greene¹⁵ (1986) e Greene; Appel¹⁶ (1990)^{15,16}. Em muitas amostras os valores obtidos foram superiores aos descritos por Benjamin² (1978) e Braund³ (1980)^{2,3}. Existe uma contradição entre os relatos de Benjamin² (1978), Braund³ (1980) e Greene; Appel¹⁶ (1990), que afirmaram que em cães com cinomose observa-se uma pleocitose no liquor e

Chrisman⁵ (1985) que afirmou que, mesmo em casos de infecção ativa do sistema nervoso central pelo vírus da cinomose, o LCR pode ter uma contagem normal de células^{2,3,5,16}. No presente experimento não foram observadas amostras de liquor de cães com cinomose com contagens de células dentro dos limites da normalidade, discordando dos achados de Chrisman⁵ (1985). Nos animais normais não foi realizada a contagem diferencial de células, já que a contagem global encontrava-se dentro dos limites de normalidade e, segundo Coles⁶ (1980), Mayhew; Beal²⁰ (1980) e Chrisman⁵ (1985), nesses casos não há a necessidade de um exame diferencial^{5,6,20}. Os resultados obtidos na contagem diferencial de células dos cães com cinomose coincidem com as observações de Croft⁹ (1955), Vandeveld; Spano²⁹ (1977), Spano; Hoerlein²⁵ (1978), Benjamin² (1978), Coles⁶ (1980), Mayhew; Beal²⁰ (1980), Chrisman⁵ (1985) e Feldman¹³ (1989), que afirmaram que em casos de cinomose a pleocitose ocorre predominantemente por um aumento de linfócitos, havendo também a presença de monócitos, macrófagos e raros neutrófilos^{2,5,6,9,13,20,25,29}. No liquor dos animais com cinomose foi possível observar uma relação direta entre o número de plasmócitos e os níveis protéicos. Segundo Summers *et al.*²⁶ (1979), Vandeveld *et al.*²⁷ (1981) e Vandeveld *et al.*²⁸ (1982), o processo de desmielinização em casos de cinomose ocorre, numa fase inicial, por uma ação viral direta sobre os astrócitos e, a seguir, por uma reação de citotoxicidade celular anticorpo dependente^{26,27,28}. Por outro lado, Guy¹⁷ (1986); Appel (1987) e Greene; Appel¹⁶ (1990) constataram que em cães com encefalite pelo vírus da cinomose ocorre uma produção local de anticorpos^{1,16,17}. Isso poderia explicar os altos níveis de proteína naqueles animais com uma maior porcentagem de plasmócitos no liquor, uma vez que todos eles encontram-se com alterações neurológicas há mais de 10 dias, sugerindo que, além da produção de anticorpos contra o vírus, a desmielinização já estivesse ocorrendo por uma resposta imune e não mais por uma ação viral direta, levando também à produção de anticorpos contra a bainha de mielina. Apesar da taxa de proteínas do grupo de cães normais ter sido menor do que aquela dos cães com cinomose, os valores observados foram superiores aos descritos por Cutler; Averill¹⁰ (1969), Benjamin² (1978), Coles⁶ (1980), Oliver; Lorenz²¹ (1983), Kirk¹⁹ (1984), Chrisman⁵ (1985), Braund⁴ (1986), Duncan *et al.*¹² (1987), Cook; Denicola⁷ (1988) e Fernandes¹⁴ (1990), e semelhantes aos relatados por Kay *et al.*¹⁸ (1974) e Spano; Hoerlein²⁵ (1978)^{2,4,5,6,7,10,12,14,18,19,21,25}. Em função dos resultados obtidos no presente experimento, considerou-se normal um liquor com até 65,00 mg/dl de proteínas. O fato de os níveis protéicos dos cães deste experimento encontrarem-se elevados quando comparados com a literatura, se deve provavelmente à grande sensibilidade do método utilizado (corante Coomassie Azul Brilhante), capaz de detectar quantidades mínimas de proteínas. O nível de proteínas do liquor dos cães com cinomose encontrava-se elevado em todas as amostras, confirmando os relatos de Cornelius⁸ (1958), Cutler; Averill¹⁰ (1969), Vandeveld; Spano²⁹ (1977), Benjamin² (1978), Mayhew; Beal²⁰ (1980) Greene¹⁵ (1986) e Greene; Appel¹⁶ (1990)^{2,8,10,15,16,20,29}. No entanto, os valores apresentavam-se bem acima dos observados por Cutler; Averill¹⁰ (1969) e Vandeveld; Spano²⁹ (1977), mas concordavam com os relatos de Benjamin² (1978), que afirmou que o aumento pode atingir 500 mg/dl^{2,10,29}. Existe uma contradição entre os relatos de Spano; Hoerlein²⁵

(1978) e Coles⁶ (1980), que afirmaram que um líquor normal pode produzir uma discreta turbidez no Teste de Pandy, e os relatos de Cook; Denicola⁷ (1988), que comentaram que este teste deveria ser negativo em cães normais, uma vez que as proteínas líquóricas consistem, primariamente, de albumina^{6,7,25}. Neste experimento todas as amostras de líquor do grupo de cães normais apresentaram Teste de Pandy negativo, confirmando as observações de Cook; Denicola⁷ (1988). Por outro lado, todos os animais portadores de cinomose apresentaram uma turbidez no líquor, confirmando os

relatos de Spano; Hoerlein²⁵ (1978), Coles⁶ (1980) e Sorjonen²⁴ (1987)^{6,24,25}. Foi possível constatar que aqueles animais com níveis protéicos totais mais elevados apresentavam também uma maior turbidez do líquor e uma maior porcentagem de plasmócitos, sugerindo, portanto, que o aumento dos níveis protéicos ocorreu por uma produção local de anticorpos, corroborando as afirmativas de Sorjonen²⁴ (1987), e não por uma lesão da barreira hematoencefálica²⁴.

SUMMARY

Cerebrospinal fluid samples were obtained from 20 normal dogs (from 6 to 48 months old) and 20 dogs affected by canine distemper encephalitis, in order to make a physical, cytological and biochemical evaluation of it. Physical, cytological and biochemical evaluation of the cerebrospinal fluid from normal dogs presented the following results: specific gravity: $1,007 \pm 1,83$, pH: $8,30 \pm 0,34$, total red cell count: $6,65 \pm 5,27/\mu\text{l}$, total white cell count: $2,85 \pm 1,63/\mu\text{l}$ and total protein content: $38,70 \pm 15,49$ mg/dl. Physical, cytological and biochemical evaluation of the cerebrospinal fluid from dogs with distemper encephalitis presented the following results: specific gravity: $1,010 \pm 1,50$, pH: $8,35 \pm 0,46$, total red cell count: $8,55 \pm 1,648/\mu\text{l}$, total white cell count: $99,05 \pm 106,93/\mu\text{l}$ and total protein content: $219,03 \pm 81,08$ mg/dl. Cerebrospinal fluid was clear and colorless in all samples from normal dogs, and in almost all dogs with distemper encephalitis, some of the samples were xanthochromic or turbid. Pandy's reaction was negative in all samples from normal dogs and positive, ranging from ++ to +++, in dogs affected by distemper encephalitis. Differential cell count from dogs affected by distemper revealed a predominance of lymphocytes (67 - 97%) in all samples, 2 - 20% of monocytes and 2 - 24% of plasma cells. In some samples, macrophages, neutrophils and ependymal cells were also seen. There was a positive correlation between the number of plasma cells, total protein content and presence of globulins in cerebrospinal fluid samples of dogs affected by distemper encephalitis.

UNITERMS: Cerebrospinal fluid; Distemper; Nervous system; Dogs

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- APPEL, M.J. **Virus infections of canivores**. Amsterdam, Elsevier, 1987, p.133-59; Canine distemper virus.
- 2- BENJAMIN, M. **Outline of veterinary clinical pathology**. Ames, Iowa State University Press, 1978, p.276-85; Cerebrospinal fluid examination.
- 3- BRAUND, K.G. Encephalitis and meningitis. **Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v.10, n.1, p.31-56, 1980.
- 4- BRAUND, K.G. **Clinical syndromes in veterinary neurology**. Baltimore, Williams & Wilkins, 1986, p.207-19; Diagnostic techniques.
- 5- CHRISMAN, C.L. **Neurologia dos pequenos animais**. São Paulo, Roca, 1985, p.63-9; Investigações auxiliares especiais.
- 6- COLES, E.H. **Veterinary clinical pathology**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1980, p.362-76; Cerebrospinal fluid.
- 7- COOK, J.R.; DENICOLA, D.B. Cerebrospinal fluid. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v.18, n.3, p.475-99, 1988.
- 8- CORNELIUS, C.E. Canine cerebrospinal fluid. **California Veterinarian**, San Francisco, v.12, n.2, p.18-20, 1958.
- 9- CROFT, P.G. Biochemistry of the cerebrospinal fluid of the dog. **Veterinary Record**, London, v.67, n.47, p.872-6, 1955.
- 10- CUTLER, R.W.P.; AVERILL, JR., D.R. Cerebrospinal fluid gamma globulins in canine distemper encephalitis. **Neurology**, Cleveland, v.19, p.1111-4, 1969.
- 11- DELAHUNTA, A. **Veterinary neuratomy and clinical neurology**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1977, p.33-56; Cerebrospinal fluid and hydrocephalus.
- 12- DUNCAN, J.R.; OLIVER, JR., J.E.; MAYHEW, I.G. Laboratory examinations. In: OLIVER, J.E.; HOERLEIN, B.F.; MAYHEW, I.G. **Veterinary neurology**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1987, p.57-64.
- 13- FELDMAN, B.F. Cerebrospinal fluid. In: KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego, Academic Press, 1989, p.835-65.
- 14- FERNANDES, W.R. Determinação dos valores líquóricos normais de glicose, proteína, globulina, uréia, creatinina fosfoquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), leucócitos e da coloração, turbidez e coagulabilidade em cães saudáveis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.27, n.2, p.209-16, 1990.
- 15- GREENE, C.E. Infectious diseases affecting the central nervous system. In: KORNEGAY, J.N. **Neurologic disorders**. New York, Churchill Livingstone, 1986, p.57-77.
- 16- GREENE, C.E.; APPEL, M.J. Canine distemper. In: GREENE, C.E. **Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1990, p.226-41.
- 17- GUY, J.S. Diagnosis of canine viral infections. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v.6, n.16, p.1145-56, 1986.
- 18- KAY, W.J.; ISRAEL, E.; PRATA, R. Cerebrospinal fluid. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v.4, n.2, p.419-35, 1974.
- 19- KIRK, R.W. **Atualização terapêutica veterinária**. São Paulo, Manole, 1984, 1495p.
- 20- MAYHEW, I.G.; BEAL, C.R. Techniques of analysis of cerebrospinal fluid. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v.10, p.155-76, 1980.
- 21- OLIVER, JR., J.E.; LORENZ, M.D. **Handbook of veterinary neurologic diagnosis**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1983, 672 p.
- 22- PALMER, A.C. **Introduction to animal neurology**. Oxford, Blackwell Scientific, 1976, p.115-34; Other Investigations.

- 23- REIS, J.B.; BEL, A.; REIS FILHO, J.B. **Líquido cefalorraquidiano**. São Paulo, Sarvier, 1980, 250p.
- 24- SORJONEN, D.C. Total protein, albumin quota, and electrophoretic patterns in cerebrospinal fluid of dogs with central nervous system disorders. **American Journal of Veterinary Research**, v.48, n.2, p.301-5, 1987.
- 25- SPANO, J.S.; HOERLEIN, B.F. **Canine neurology**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1978. p.136-49: Laboratory examinations.
- 26- SUMMERS, B.A.; GREISEN H.A.; APPEL, M.J.G. Early events in canine distemper demyelinating encephalomyelitis. **Acta Neuropathologica**, Heidelberg, v.46, n.1-2, p.1-10, 1979.
- 27- VANDEVELDE, M.; FANKHAUSER, R.; KRISTENSEN, F.; KRISTENSEN, B. Immunoglobulins in demyelinating lesions in canine distemper encephalitis. **Acta Neuropathologica**, Heidelberg, v.54, n.11, p.31-41, 1981.
- 28- VANDEVELDE, M.; KRISTENSEN, F.; KRISTENSEN, B.; STECK, A.J.; KIHM, U. Immunological and pathological findings in demyelinating encephalitis associated with canine distemper virus infection. **Acta Neuropathologica**, Heidelberg, v.56, n.1, p.1-8, 1982.
29. VANDEVELDE, M.; SPANO, J.S. Cerebrospinal fluid cytology in canine neurologic diseases. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.38, n.1, p.1827-32, 1977.
30. WILSON, J.W.; STEVENS, J.B. Analysis of cerebrospinal fluid specific gravity. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.172, n.8, p.911-3, 1978.
31. ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1984. 719-8.

Recebido para publicação: 10/4/97
Aprovado para publicação: 4/7/97