

LABORATÓRIO DE HEMATOLOGIA DO INSTITUTO BUTANTÃ

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO COAGULOGRAMA NO * CAVALO NORMAL E INJETADO COM TOXINA TETÂNICA

(Blood coagulation tests in normal horses as
compared to tetanic toxin injected horses)

R. Grecchi **

L. F. Martins ***

O interesse pelo estudo do fenômeno da coagulação nos animais domésticos se desenvolve à medida que verificações são feitas de moléstias hemorrágicas nas diferentes espécies animais.

No que se refere aos eqüinos, diversos autores tiveram sua atenção voltada para o problema. Enquanto MILLER (36) acredita serem raras as hemorragias espontâneas em cavalos, BARKHAN (7) chama atenção para a existência de entidades mórbidas, relacionadas com o fenômeno da coagulação ou da hemostasia nesta espécie animal. BIGGERS e col. (12) admitem a chamada púrpura hemorrágica dos eqüinos, febre petequial ou morbo maculoso, há muito tempo conhecida e de origem obscura, ser uma púrpura não trombocitopênica. A hemofilia de castração, entidade assim denominada por CHAPRON (19) e

* Trabalho realizado com auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

** Instrutor da Cadeira de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária da U. S. P.

*** Professor Assistente da Cadeira de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina Veterinária da U. S. P.

assinalada por ROSSIGNOL (45), ZSCHOKKE (59) e o próprio CHAPRON (18) é também um estado hemorrágico que se desencadeia nos cavalos, relacionado com a castração e que estaria ligado a um distúrbio hormonal (19). A epistaxe dos cavalos é fenômeno há longo tempo conhecido e de origem obscura. A própria anemia infecciosa dos eqüinos apresenta alterações no fenômeno da coagulação (28 e 29).

O estudo da coagulação sangüínea nos eqüinos em seus diferentes aspectos mostra controvérsias, como se pode concluir da análise dos trabalhos de BARKHAN e col. (8), BELL e col. (10 e 11) FANTL e MARR (23), FANTL e WARD (24), GRECCHI e col. (27), SJOLIN (48 e 49), SOULIER e LARRIEU (51).

Os valores normais para o cavalo nas diferentes provas empregadas para avaliação do fenômeno da coagulação sangüínea são fundamentais de serem conhecidas para que possam ser tomadas como comparação na análise dos quadros obtidos de animais com síndromes hemorrágicas, permitindo assim conclusão a respeito da verdadeira natureza da anomalia. Contudo, a padronização das provas com cuidado nos detalhes da técnica e condições do experimento é de fundamental importância pois os resultados podem ser afetados por estes fatores como se depreende dos trabalhos de ADAMS (1), BURKER (15), SCHWAYER (46), SIPPEL (47), VILLARD (57) e outros.

O sexo não parece influenciar no resultado das provas como foi por nós verificado em cavalos P.S.I. (35).

Substâncias como: citrato de sódio, cloreto de sódio, lactado de cálcio, ácido oxálico, ácido malônico, fração coagulante de veneno de cobra, têm sido empregadas em cavalo (4, 32, 33, 34, 43, 53, 55) visando acelerar a coagulação com fins experimentais, como tratamento ou prevenção de hemorragia. Contudo, a

bibliografia analisada não mostra dados obtidos em animais que estejam sendo submetidos a condições especiais como produção de soros ou antivenenos.

Considerando estes aspectos pareceu-nos de interesse de terminarmos os valores normais para as provas empregadas na avaliação do fenômeno da coagulação para eqüinos sem raça definida, utilizando-se técnicas bem padronizadas, permitindo assim confronto e enriquecimento da literatura. Ao mesmo tempo procuramos pesquisar e eventual diferença nos resultados das provas realizadas em animais empregados na produção de soro antitetânico, pois além de submetidos a estímulos especiais pela injeção de toxina, são sangrados com regularidade.

O nível de rejeição adotado para verificação de diferenças entre animais normais e injetados foi de 5%.

As provas realizadas foram: tempo de coagulação, tempo de recalcificação ou de Howell, contagem de plaquetas, retração do coágulo, tempo de protrombina, consumo de protrombina e geração de tromboplastina.

Em cavalos os principais trabalhos relacionados com o fenômeno da coagulação são os de ADAMS (1), APARICI (2), ARAUJO (3), ARCHER (5), AWAD e MORCOS (6), BARKHAN e col. (8), BEHRENS (9), BELL e col. (11), BURKER (15), BURULANA e RAUCHBACH (17), DE NICOLA e col. (20), DIAZ (21), DOROSCHKIN (22), FLORIO e col. (26), KMENT (30), MARTINS (35), PINKLEWICZ (37), QUICK (40), SCHWAYER (46), SIPPEL (47), SOPEÑA (50), VAN WASSENHOVE (56), VILLARD (57) e WEISER (58).

MATERIAL E MÉTODOS

O sangue submetido às diferentes provas proveio de 20 e qüinos normais, 14 machos castrados e 6 fêmeas com idades variáveis de 15 a 20 anos e 10 machos também castrados que eram utilizados para a produção de soro antitetânico, com idades variáveis de 10 a 20 anos, todos êles pertencentes ao Instituto Butantã, submetidos a regime alimentar semelhante. O material era colhido da veia jugular, utilizando-se seringa siliconizada estando os animais em repouso.

TEMPO DE COAGULAÇÃO: Foi feito pela técnica de LEE e WHITE (31) em banho-maria a 37°C, utilizando-se 2 tubos de ensaio 13/100 mm e as leituras feitas de minuto em minuto. O resultado considerado foi o do primeiro tubo sendo o segundo testado apenas para evitar êrro ocasional de grande amplitude como aconselha MARTINS (35).

TEMPO DE RECALCIFICAÇÃO OU TEMPO DE HOWELL: Adotou-se a técnica descrita em QUICK (42 pág. 363). Obteve-se o plasma utilizado pela centrifugação durante 10 minutos de sangue oxalatado a 10% com solução a quosa de oxalato de sódio 0,1 M a 1500 r.p.m.. O teste era feito dentro da la. hora após a retirada do sangue e o cálcio empregado provinha de solução 0,02 M de cloreto de cálcio. A prova realizada em 2 tubos 13/100 mm tinha seu resultado expresso pelo tubo que coagulava em 1º lugar.

CONTAGEM DE PLAQUETAS: O sangue para contagem de plaquetas era colhido em frascos siliconizados contendo o sal dissódico de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) em solução a 10% e na proporção de 10 mg do sal para 5 ml de sangue. Seguiu-se o método de FEISLLEY e IUDIN⁽²⁵⁾ modificado por ROSENFELD⁽⁵²⁾. Fazia-se a suspensão em pipeta hematómetrica para contagem de leucócitos na proporção de 1:20 e a contagem em câmara de Neubauer sob microscopia de fase numa área de 2 mm².

RETRAÇÃO DO COÁGULO: Mediu-se pelo método preconizado por Rosenfeld⁽⁴⁴⁾. A prova era realizada em banho-maria 37°C e a leitura feita 3 horas após a coagulação.

TEMPO DE PROTROMBINA: Seguiu-se o método de um estágio introduzido por QUICK⁽³⁸⁾. Empregou-se na realização deste teste o mesmo plasma oxalatado utilizado para a prova de recalcificação. A tromboplastina foi preparada a partir de cérebro de coelho de acordo com a técnica de QUICK⁽³⁹⁾. As suspensões de tromboplastina eram conservadas em geladeira e empregadas no máximo por 10 dias, considerando-se adequadas para o uso quando davam para o plasma humano tempo de protrombina normal ou seja 11 a 12 segundos. O cloreto de cálcio empregado era 0,02M. Faziam-se as verificações em triplicata e considerava-se o resultado que se repetia; quando houvesse discordância novas determinações eram realizadas até obtenção de valores concordantes. Foi feita uma curva de diluição de protrombina para a transformação dos dados em concentração. Para realização dessa curva obteve-se plasma de

10 animais que apresentavam tempo de protrombina próximo ao valor médio e duas séries de diluições foram preparadas para cada animal tirando-se a média dos valores obtidos na primeira e segunda. A média de cada concentração nos 10 animais representava o índice considerado normal para aquela concentração. O mesmo critério descrito para verificação do tempo de protrombina era aqui seguido. A curva final transportada para papel "log log" pôde ser retificada permitindo extrapolação dos valores não enquadrados na amplitude dos dados (gráf. I).

CONSUMO DE PROTROMBINA: Empregou-se a técnica de QUICK⁽⁴¹⁾, modificada por Rosenfeld (comunicação pessoal). Retirava-se 5 ml de sangue que eram colocados em tubos de ensaio de 13/100 mm e deixados em banho-maria a 37°C. Ao coagular marcava-se o tempo e promovia-se o descolamento do coágulo. Transcorridos 59 minutos da coagulação centrifugava-se o material por um minuto e retirava-se o sobrenadante que era mantido em banho de gelo; testava-se a quantidade de protrombina residual pelo tempo que levava para coagular a mistura deste soro com tromboplastina e cálcio, tendo como fonte de fibrinogênio plasma oxalato adsorvido por sulfato de bário, lavado segundo a técnica descrita por BIGGS e MC FARLANE⁽¹⁴⁾, empregando-se na proporção de 0,1 para 1 ml de plasma. A adsorção operava-se em banho-maria por 30 minutos agitando-se os tubos de quando em quando, após o que, eram centrifugados a 2.500 r.p.m. durante 10 minutos retirando-se o sobrenadante. Considerava-se o plasma adequado para utilização quando seu tempo de protrombina era superior a 4 minutos. Como fonte de cálcio serviu também a solução 0,02 M de

cloreto de cálcio. Faziam-se 3 testes seguindo-se o mesmo critério adotado para a leitura do tempo de protrombina. Os tempos obtidos foram transformados em concentrações por meio da curva de diluição de protrombina e que representavam a protrombina residual após evolução do processo de coagulação por 60 minutos. Sabendo-se a quantidade percentual de protrombina do plasma obtinha-se a protrombina consumida através os seguintes cálculos:

$$C = \frac{100 \times B}{A}$$

$$D = 100 - C$$

A = Protrombina total expressa em %

B = Protrombina residual expressa em %

C = Concentração residual calculada à razão de 100% de protrombina total para o animal.

D = % de protrombina consumida

GERAÇÃO DE TROMBOPLASTINA:

Seguiu-se a técnica de BIGGS e DOUGLAS (13). A prova foi realizada empregando-se suspensão de plaquetas do próprio animal como fonte de fatores plaquetários. O plasma citratado adsorvido pelo hidróxido de alumínio da técnica original foi substituído pelo plasma oxalatado tratado com sulfato de bário, conforme a norma já descrita. As plaquetas para suspensão provieram de sangue colhido com citrato de sódio em solução fisiológica 3,8% na proporção de 10% do volume total. As plaquetas eram lavadas por 3 vezes em solução fisiológica, suspendendo-se finalmente na mesma solução, obedecendo a uma concentração aproximadamente 3 vezes maior que a do plasma. O teste teve a duração de 8 minutos para os animais

normais e 5 minutos para os animais injetados com toxina tetânica. No primeiro caso as leituras eram feitas durante os 8 minutos e no segundo apenas do 2º ao 5º minuto. Faziam-se duas gerações para cada animal e o resultado era dado pela média dessas provas.

RESULTADOS

Foram calculados para cada grupo de animais testados nas diferentes provas realizadas os valores médios, o desvio padrão, a mediana, o coeficiente de variabilidade de Pearson bem como estimativas do intervalo de confiança de 95% para a média.

Na tabela I encontra-se o resumo dos resultados obtidos nas diferentes provas para os animais normais e na tabela II para os animais injetados com toxina tetânica.

Na tabela III resumimos os dados encontrados na literatura de acordo com os autores incluindo nossas verificações para os eqüinos normais.

TABELA I

RESULTADOS OBTIDOS PARA 20 EQUINOS NORMAIS EM FUNÇÃO DAS PROVAS FEITAS E DAS MEDIDAS DE POSIÇÃO E VARIABILIDADE CALCULADAS

MEDIDAS \ PROVAS	Tempo de coagulação (minutos)		Tempo de recalcificação em segundos	Plaquetas $10^3/mm^3$	Retração do coágulo %	Tempo de Protrombina		Consumo de Protrombina %	Geração de Tromboplastina	
	1º tubo	2º tubo				em segundos	em %		Minuto máxima geração	Atividade máx. em T.C. em segundos
MÉDIA	6,3	7,6	229,5	138,0	37,1	9,6	79,7	77,2	3,4	36,0
MEDIANA	6,0	7,0	225,0	140,0	38,0	9,5	72,5	75,0	3,0	33,2
DESVIO PADRÃO	1,4	1,6	45,9	38,0	9,3	2,1	30,3	12,7	0,8	10,6
AMPLITUDE DE VARIAÇÃO	5,0	6,0	150,0	60,0	20,0	6,0	40,0	55,0	2,0	18,0
	11,0	12,0	330,0	190,0	50,0	13,0	160,0	95,0	5,0	57,5
COEF. DE VAR. DE PEARSON	22,9	21,0	20,0	27,5	25,0	22,1	38,1	16,4	25,9	29,5
INTERV. CONF. 95% P/MÉDIA	5,6	6,8	207,5	119,7	32,5	8,5	65,1	71,1	2,9	30,9
	7,0	8,3	251,5	156,2	41,5	10,6	94,3	83,3	3,8	41,1

TABELA II
 RESULTADOS OBTIDOS PARA 10 EQUINOS INJETADOS COM TOXINA TETÂNICA EM FUNÇÃO
 DAS PROVAS FEITAS E DAS MEDIDAS DE POSIÇÃO E DE VARIABILIDADE CALCULADAS

PROVAS MEDIDAS	Tempo de coagulação (minutos)	Tempo de recalcificação em segundos	Plaquetas $10^3/mm^3$	Retração do coágulo %	Tempo de Protrombina		Consumo de Protrombina %	Geração de Tromboplastina	
					em segundos	em %		Minuto máxima geração	Atividade máx. em T.C. em segundos
MÉDIA	7,0	186,0	141,0	45,7	10,0	75,5	84,0	3,2	30,7
MEDIANA	7,0	180,0	130,0	48,5	10,0	65,0	92,5	3,0	29,2
DESVIO PADRÃO	1,0	30,9	31,7	7,9	2,3	28,7	16,9	0,9	7,1
AMPLITUDE DE VARIAÇÃO	6,0 a 9,0	150,0 a 240,0	100,0 a 190,0	25,0 a 50,0	7,0 a 14,0	40,0 a 125,0	45,0 a 100,0	2,0 a 5,0	19,5 a 42,0
COEF. VAR. DE PEARSON	15,0	16,6	22,5	17,2	23,5	38,0	20,1	28,7	23,1
INTERV. CONF. 95% P/MÉDIA	6,2 a 7,7	162,8 a 209,2	117,0 a 164,9	39,7 a 53,6	8,2 a 10,7	53,8 a 97,1	71,2 a 96,7	2,5 a 3,8	25,3 a 36,0

TABELA III

RESUMO DOS VALORES ENCONTRADOS NA LITERATURA PARA EQUINOS NORVAIS CLASSIFICADOS SEGUNDO A NATUREZA DAS PROVAS E DE ACORDO COM OS DIFERENTES AUTORES INCLUINDO NOSSOS ACHADOS

AUTORES	PROVAS	Tempo de coagulação (minutos)	Tempo de recalcificação em segundos	Plaquetas $10^3/mm^3$	Retração do coágulo %	Tempo de Protrombina		Consumo de Protrombina %	Geração de Tromboplastina	
						em segundos	%		Mínimo máxima geração	Atividade T.C. em segundos
ADAMS	(1) a	10,47 16,25	--	--	--	--	--	--	--	--
ARAÚJO	(3)	--	--	--	--	13	--	--	--	--
ARCHER	(5) a	6,5 - 9,0	--	90 - 170	45 - 60	11 - 15	--	--	4 - 5	11
AWAD e MORGOS	(6)	3,12-4,47	--	--	--	--	--	--	--	--
BARKHAN e col.	(8)	--	--	134 a 255	--	10,5 a 21,0 a 10,4 a 20,0 a	--	--	--	--
BELL e col.	(11)	20 - 32	--	132 - 276	3 - 16	--	14-16	--	4 - 5	± 30
BURKER	(15)	11,5 d	--	--	--	--	--	--	--	--
BURIANA e col.	(17)	15 - 30	--	--	--	23,8	--	--	--	--
DE NICOLA e col.	(20)	--	± 130 a ± 180	--	--	9,5 a 10,5	--	--	--	--
DIÁZ	(21)	--	--	--	--	8,6 8,5	--	--	--	--
DOROSCHKIN	(22)	--	--	--	--	17,7	--	--	--	--
FANTL e MARR	(23)	13 - 19	--	--	--	--	--	--	--	--
FLORIO e col.	(26)	--	--	--	--	12,5 a 17,1	--	--	--	--
KMENT	(30)	--	--	--	--	26,6	--	--	--	--
MARTINS	(35) b	7,5	240,6	105	43,3	8,6	120,5	78,5	3,1 3,4	18,8 35,9
PINKIEWICZ	(37)	--	--	--	--	13	--	--	--	--
QUICK	(40)	--	--	--	--	--	40% a	--	--	--
SCHWAYER	(46)	54 d	--	--	--	--	--	--	--	--
SIPPEL	(47)	12 d	--	--	--	--	--	--	--	--
SOPENA	(50)	--	--	305,384	--	--	--	--	--	--
VAN WASSENHOVE	(56)	--	--	--	--	40 - 50	--	--	--	--
VILLARD	(57)	2 - 3 d	--	--	--	9 - 10	--	--	--	--
NOSSOS ACHADOS		6,3	229,5	138,0	37,1	9,6	79,7	77,2	3,4	36

a - Cavalo Puro Sangue Inglês

b - Relativo a humano

c - Relativo a coalho

d - A 25° C ou menos

e - Animal jovem

D I S C U S S Ã O

A necessidade de se estabelecer, para os diferentes tipos de eqüinos, em condições diversas, os padrões nas diferentes provas que permitem avaliar o fenômeno da coagulação sanguínea é facilmente avaliada pelo encontro na literatura da descrição de síndromes relacionados com alterações na coagulação e hemostasia nesta espécie animal, embora não pareça existir pesquisa sistemática para evidência e caracterização destas afecções. O processo da coagulação nos eqüinos parece apresentar particularidades, pois vários autores estabeleceram fatos discordantes quanto ao seu mecanismo. Assim para BELL e col. (10 e 11) apoiados por BARKHAN e col. (7), existiriam diferenças significativas no processo de coagulação entre as espécies humana e eqüina admitindo deficiência de globulina anti-hemofílica no plasma do cavalo. SJOLIN (48), primeiramente a creditou haver deficiência do fator Christmas para depois (49) afirmar diversamente ser semelhante ou idêntico ao Hageman o fator insuficiente. Diferenças entre fatores tromboplastínicos humanos e de cavalo foram já assinalados por FANTL e MARR (23), GRECCHI e col. (27) e BELL e col. (11). Outras discordâncias na análise comparativa da coagulação sanguínea nos eqüinos em relação ao humano e outras espécies animais foram encontradas por BURSTEIN e GUINAND (16), BURUIANA e RAUCHBACH (17), DE NICOLA e col. (20), DOROSCHKIN (22), FANTL e MARR (23), FANTL e WARD (24), KMENT (30), QUICK (40), STORMORKEN (54) e outros.

A determinação de valores em condições padronizadas para

as várias provas empregadas na análise do fenômeno da coagulação é de alta importância para permitir o estudo comparativo em animais com suspeita de alteração do processo. Tivemos oportunidade, em trabalho anterior ⁽³⁵⁾, de chamar atenção para o problema ao procurarmos determinar índices para o cavalo Puro Sangue Inglês. Não nos parece válido porém a utilização desses valores de forma genérica como padrões para os demais eqüinos pois constitui o P.S.I. uma raça aprimorada sob diferentes aspectos e gozando de condições especiais que poderiam, até certo ponto, influenciar o resultado das diferentes provas. Os dados de FLORIO e col. ⁽²⁶⁾, parecem indicar diferenças para o tempo de protrombina conforme o agrupamento racial considerado. Quanto mais jovem o animal, segundo AWAD e MORCOS ⁽⁶⁾, mais rápido é o tempo de coagulação e DE NICOLA e col. ⁽²⁰⁾ fizeram a mesma verificação para o tempo de coagulação sanguínea e o tempo de protrombina.

Portanto, considerando estes aspectos, devemos salientar que nossas verificações foram feitas para eqüinos sem raça definida, submetidos a condições normais de manutenção e que não recebiam cuidados especiais, caracterizando-se por apresentar idades relativamente altas.

Que diferentes substâncias podem influir sobre o fenômeno da coagulação é fato largamente conhecido. Contudo, não houve preocupação alguma de se verificar o efeito que pode decorrer da inoculação de toxina tetânica e sangrias periódicas nos animais. O exame dos nossos resultados demonstra que para todas as provas realizadas os intervalos de confiança de 95% para a média dos valores populacionais estimados para os dois grupos mostram sempre zona de transição, indicando não significância de diferença entre os

animais normais e inoculados, ao nível de rejeição adotado (5%).

A análise comparativa dos nossos achados com a literatura somente tem valor quando feita em relação a dados assinalados para animais sem raça definida, submetidos a condições semelhantes e com técnicas equivalentes. Assim, considerando-se apenas os animais normais, o tempo de coagulação foi mais baixo que o de BELL e col. (11). É interessante assinalar ainda que o tempo de coagulação quando realizado pela técnica de LEE e WHITE como tivemos oportunidade de chamar atenção anteriormente (35), deve ser considerado o resultado do 1º tubo pois é mais curto e a variabilidade menor. O 2º tubo deve ser observado apenas para testemunho a fim de evitar erro ocasional de grande amplitude. Na prova do tempo de recalcificação os valores de DE NICOLA e col. (20) para cavalos adultos foram mais baixos que a nossa média em aproximadamente 100 segundos.

O método de Feissly foi pela primeira vez empregado por MARTINS (35) na contagem de plaquetas de cavalo e para P.S.I.. Verifica-se, a título de ilustração, que a média obtida no caso presente foi um pouco mais elevada.

A retração do coágulo e o consumo de protrombina também não encontra termo de comparação a não ser com nossos próprios achados anteriores (35) e em relação à 1a. prova a média foi mais baixa aproximadamente 6% e na 2a. praticamente equivalente aos valores obtidos para o cavalo P.S.I. .

Para o tempo de protrombina ARAUJO (3) e KMENT (30) que apresentam dados comparáveis aos nossos encontraram valores um pouco mais altos.

Os resultados obtidos na prova de geração de tromboplastina no que diz respeito ao tempo em que ocorreu a máxima geração

empregando-se suspensão de plaquetas do próprio animal coincidem com nossos encontros anteriores ⁽³⁵⁾ e os de ARCHER ⁽⁴⁾ para cavalos P.S.I. Quanto à verificação da atividade de tromboplastina no momento de sua máxima geração, valor este expresso pelo tempo de coagulação do plasma oxalatado pobre em plaquetas, ainda uma vez podem ser comparados com nossos achados ⁽³⁵⁾ e são praticamente superponíveis.

Em relação aos valores correntemente assinalados para a espécie humana nas diferentes provas, verifica-se que o tempo de recalcificação apresenta-se mais longo e, conseqüentemente, a geração de tromboplastina. O número de plaquetas é inferior enquanto para as demais provas os resultados são muito próximos.

S U M M A R Y

The usual tests for evaluating the blood clotting phenomena were performed on equines of both sexes. Two groups were employed, one made of 20 normal animals and the other composed of 10 animals which were being used for the preparation of tetanic antisera. No significant difference was found between the results of the two groups, at the 5% level.

The mean values found from normal animals were:

Coagulation time: 6.3 ± 1.4 minutes;

recalcification time: 229.5 ± 45.9 seconds;

platelets: $138.0 \pm 38.0 \times 10^3/\text{mm}^3$;

clot retraction: 37.1 ± 9.36 ;

protrombine time:

a - 9.6 ± 2.1 seconds

b - 79.7 ± 30.3 ;

protrombine consumption: $77.2 \pm 12.7\%$;

tromboplastine formation:

a - time of maximal formation: 3.4 ± 0.8

b - maximal activity in T.C.: 36.0 ± 10.6 seconds.

The results found in the several tests are similar to the ones that have been found for man. However, the recalcification and formation of tromboplastine are longer. Also the platelet number is lower.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Dr. Gastão Rosenfeld, Chefe da Seção de Hematologia do Instituto Butantã, pela orientação nas diversas fases da realização do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. - ADAMS, J.L. - 1953 - Observaciones sobre coagulación sanguínea del caballo. *Zoología*, 2 (7):16
2. - APARICI, C. - Cit. SARDA, J.M. - 1952 - Elementos de fisiología. 6a. ed. v. 1. Barcelona, Editorial Científico Médica, p. 376
3. - ARAUJO, P. - 1943 - Tempo de protombina em cavalos no curso de imunização. *Ann. Inst. Pinheiros*, 6 (11):1

4. - ARCHER, R.K. - 1957 - Parenteral coagulants in the horse. Vet. Rec., 69 (3):56
5. - ARCHER, R.K. - 1959 - The normal haemograms and coagulograms of the English Thoroughbred horse. J. Comp. Path., 69(4):390
6. - AWAD, Y.L. - MORCOS, M.B. - 1960 - Coagulation time of horses blood in Egypt. Brit. vet. J., 116 (3):115
7. - BARKHAN, P. Cit. SJOLIN, K.E. (49)
8. - BARKHAN, P. - TOMLIN, S.C. - ARCHER, R.K. - 1957 - Comparative coagulation studies on horses and human blood. J. comp. Path., 67 (4):358
9. - BEHRENS, H. - 1951 - Zählung der Thrombozyten beim Pferd mit Hilfe der Methode nach Neumann und Monreal. Berl. Munch. Tierärztl. Wschr., (4):75
10. - BELL, W.N. - ARCHER, R.K. - TOMLIN, S.C. - 1955 - Coagulation mechanism of the horse. Nature Lond., 175 (4457):596
11. - BELL, W.N. - TOMLIN, S.C. - ARCHER, R.K. - 1955 - The coagulation mechanism of the horse with particular reference to its "Haemophiloid" status. J. comp. Path., 65 (3):255
12. - BIGGERS, J.D. - INGRAM, P.L. - 1949 - Studies on equine purpura haemorrhagica. Article no 4. Haematol. Brit. Vet. J., 105 (6):191

13. - BIGGS, R. - DOUGLAS, A.S. - 1953 - The thromboplastin generation test. J. Clin. Path., 6 (1):23
14. - BIGGS, R. - MC FARLANE, R.G. - 1957 - Human blood coagulation and its disorders. 2nd ed. Oxford, Blackwell Scientific Publ. p. 388
15. - BURKER, R. - 1941 - Uber Gesetzmassigkeiten Die Roten Blutkorperchen und Die Blutgerinnung Betreffend. Arch. Sci. Biol., 27:101
16. - BURSTEIN, M. - GUINAND, A. - 1954 - Sur la spécificité du fibrinogène des mammifères. I - Temps de thrombine du plasma de quelques mammifères. Rôle du pH et du calcium. Rev. Hemat., 2 (2):231
17. - BURULIANA, L.M. - RAUCHBACH, K. - 1956 - Die Prothrombinämie und ihre Bestimmung bei Mensch und Tieren. Mh. Vet. Med., 11 (4):83
18. - CHAPRON, H. - 1927 - Hémophilie après castration chez le cheval. Rec. Méd. vét., 103 (21):879
19. - CHAPRON, H. - 1941 - Contribution à l'étude de l'hémophilie de castration chez le cheval. Rec. Méd. vét., 117(6):181

20. - DE NICOLA, P. - CAPPELLETTI, G. - SARTORI, S. - 1957 - Studio comparativo dei reperti tromboelastografici ed emocoagulativi nell'uomo e in varie specie animali. Rapporti con i problemi della fisiopatologia. *Haematologica*, 42 (3):179
21. - DIAZ, P.U. - 1953 - La protrombinemia normal del equino. *Rev. Soc. Med. Vet. (Chile)*, 4 (6):4
22. - DOROSCHKIN, I.L. - 1955 - Vergleichende prothrombizeit bestimmungen bei haustieren. Inaugural Dissertation, München
23. - FANTL, P. - MARR, A.G. - 1958 - The coagulation of horse blood. *J. Physiol.*, 142 (2):197
24. - FANTL, P. - WARD, H.A. - 1958 - The thromboplastic component of intact blood platelets is present in masked form. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.*, 36 (5):499
25. - FEISSLY, R. - LUDIN, H. - 1949 - Microscopie par contrastes de phases. III. Applications à hématologie. *Rev. Hemat.*, 4:481
26. - FLORIO, R. - COTTEHEAU, P - MARIE, C. - MARIE, F. - 1959 - Sur le "temps de Quick" normal de quelques animaux domestiques. *Bull. Soc. Sci. vet. Lyon*, 61 (3):129
27. - GRECCHI, R. - MARTINS, L.F. - ROSENFELD, G. - 1961 - Geração de tromboplastina em cavalos normais. *Ciência e Cult.*, 13(3):201

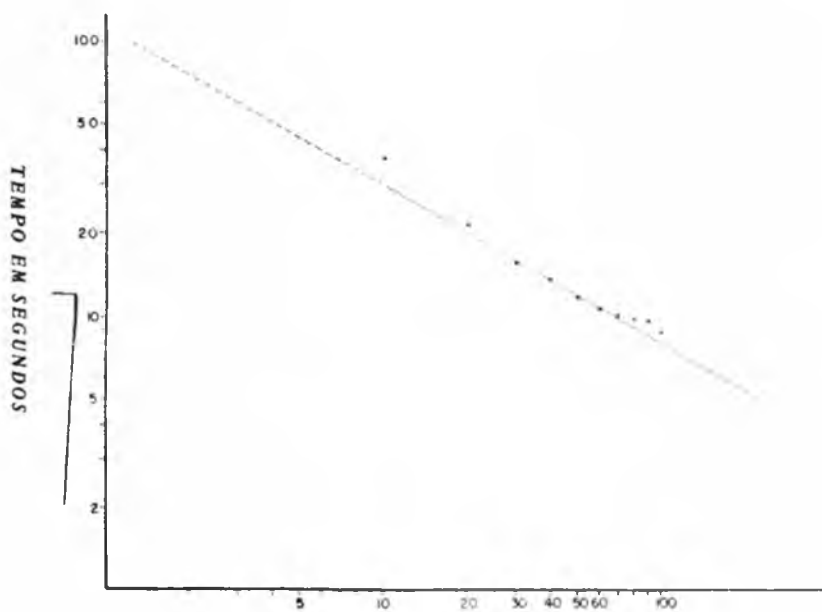
28. - HOMUTOV, P. - 1936 - Recherches sur la patologie, la phisiologie et le traitement de l'anemie infectieuse du cheval. Bull. Off. int Epiz., 13 (1-2):1
29. - JANIÁK, A. - JANIÁK, Y. - KOPROWSKY, J. - 1959 - Disturbances in coagulation in equine infectious anemia. Vet. Wrocław, 5:47
30. - KMENT, A. - 1950 - Beitrag zur "Plasmagerinnungszeit" der Haustiere. Wien. Tierarztl. Mschr., 37 (7):461
31. - LEE, R.I. - WHITE, P.D. - 1913 - A clinical study of the coagulation time of blood. Amer. J. Med. Sci., 145 (4):495
32. - MARCENAC, - 1934 - Pouvoir hémostatique du citrate de soude. Bull. Acad. vet. Fr., 7:67
33. - MARCENAC - CAMMUS - 1934 - Cit. TOSO, G. (55).
34. - MARCENAC - LEMÉTAYER - 1930 - Contribution à l'étude de de l'anesthésie à l'hydrate de chloral par voie veineuse, chez les équidés. I. Title des solutions utilisées et avantages de l'addition de citrate de soude au chloral. Bull. Acad. vet. Fr., 2:73
35. - MARTINS, I.F. - 1962 - Contribuição ao Estudo do Coagulograma no Cavallo P.S.I. Tese. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo. São Paulo

36. - MILLER, W.C. - 1954 - Cit. BELL, W.N. - TOMLIN, S.C. - ARCHER, R.K. (11)
37. - PINKIEWICZ, E. - 1961 - Die Blutgerinnungsfaktoren der I Phase bei gesunden und Kranken Pferden. Wien. tierarztl. Mschr., 48 (10):791
38. - QUICK, A.J. - 1935 - The prothrombin in hemophilia and in obstructive jaundice. J. Biol. Chem., 109:~~1000~~111
39. - QUICK, A.J. - 1940 - The thromboplastin reagent for the determination of prothrombin. Science, 92 (2379):113
40. - QUICK, A.J. - 1941 - The prothrombin concentration in the blood of various species. Amer. J. Physiol., 132(1):239
41. - QUICK, A.J. - 1947 - Studies on the enigma of the hemostatic dysfunction of hemophilia. Amer. J. med. Sci., 214 (3): 272
42. - QUICK, A.J. - 1957 - Hemorrhagic diseases. Philadelphia, Lea & Febiger.
43. - ROBERTS, S.J. - 1943 - The effects of various intravenous injections on the horse. Amer. J. vet. Res., 4 (10):226
44. - ROSENFELD, G. - 1941 - Retração do coágulo sanguíneo. Rev. clin. S. Paulo, 10 (2):43

45. - ROSSIGNOL - 1886 - Cit. CHAPRON, H. (19)
46. - SCHWAYER, E. - 1934 - Die Blutgerinnungswerte (nach Fonio)
des normalen Pferde-blutes. Folia Haemat., 52 (3):264
47. - SIPPEL, W.L. - 1958 - Blood coagulation time. Vet. Med., 53
(11):622
48. - SJOLIN, K.E. - 1956 - Lack of Christmas factor in horse plasma.
Nature, Lond., 178 (4525):153
49. - SJOLIN, K.E. - 1957 - Coagulation defect in horse plasma.
Proc. Soc. exp. Biol. N.Y., 94 (4):818
50. - SOPEÑA, I. - 1941 - Determinación del número normal de plaquetas
sanguíneas en algunas especies domésticas. Rev. Fac.
Agron. B. Aires, 9 (1):7
51. - SOULIER, J.P. - LARRIEU, M.J. - 1953 - Measurement of
thromboplastic factors and profactors in plasma. I. Deficits
in thromboplastin. Study of reagents. Measurements
of anti-hemophilia and of platelet activities. J. Lab.
clin. Med., 41 (6):849
52. - SPANOUDIS, S. - EICHBAUM, F. - ROSENFELD, G. - 1955 - Inhibition
of the local Schwartzman reaction by dicumarol.
Immunol., 75 (3):167

53. - SRNETZ, A. - 1931 - Ein Beitrag zur Frage der praktischen Bedeutung einiger blutgerinnungsfördernder Mittel in der Veterinarchirurgie Eine neue Methode zur Bestimmung der Blutgerinnungszeit beim Pferd. Prag. Arch. Tiermed., 11 (3):64
54. - STORMORKEN, H. - 1957 - Species differences of clotting Factors in ox, dog, horse and man. Thrombin and fibrinogen. Acta Physiol. Scand., 40 (2-3):167
55. - TOSO, G. - 1938 - L'azione delle soluzioni saline ipertoniche di citrato di sodio e cloruro di sodio sul tempo di coagulazione del sangue negli equidi. Nuovo Ercol., 43 (6): 215
56. - WASSENHOVE, A. Van - 1949 - Bloedonderzoek bij het Belgisch trekpaard. Vlaam. diergeneesk.Tijdschr., 18 (1):1
57. - VILLARD, J. - 1956 - Contribution à l'étude des méthodes de mesure de la coagulation sanguine chez le cheval et en particulier de la méthode de Quick. Thèse. École Nationale Veterinaire D'Alfort. Paris
58. - WEISER, R. - 1922 - Cit. BELL, W.N. - TOMLIN, S.C. - ARCHER, R.K. (11)
59. - ZSCHOKKE, E. - 1904 - L'hémophilie du cheval. Rec. Méd. Vét., 81 (23):781

GRÁFICO DE REFERENCIA DA ATIVIDADE PROTROMBÍNICA EM PUNÇÃO DO TEMPO EM SEGUNDOS E DA PERCENTAGEM DA CONCENTRAÇÃO. DETERMINADO EM BASE DOS VALORES OBTIDOS EM 10 CAVALOS NORMAIS



CONCENTRAÇÃO DE PROTROMBINA EM PERCENTAGEM