

DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA

Diretor: Prof. Dr. Antonio Guimarães Ferri

QUADRO HEMÁTICO EM EQÜINOS PURO SANGUE INGLÊS VENCEDORES

(HEMOGRAM IN THOROUGHBRED HORSES)

L. F. MARTINS
Prof. Assistente

Grande é a importância prática do conhecimento do quadro hemático em qualquer espécie.

Em relação aos eqüinos, diferentes autores têm se preocupado com seus estudos e inúmeros fatores têm sido analisados no que se refere à sua influência sobre o hemograma.

O cavalo Puro Sangue Inglês, desde os trabalhos de NESER (30), é sabido, apresenta número de eritrócitos maior que o de outras raças e outros autores confirmaram a influência da raça no quadro sanguíneo (14, 25, 26, 27, 28, 32, 34, 38, 48, 49, 51, 53).

A idade (2, 8, 25, 31, 34, 36, 38, 42, 44, 48, 52, 53), alimentação (3, 23), lactação (19, 53), gestação (4, 13, 53) e a excitação (18, 21, 22, 49, 59) têm sido verificado que também ocasionam diferentes alterações nos valores do quadro sanguíneo.

O exercício físico, tanto no que se refere aos seus efeitos imediatos como às modificações decorrentes de tratamentos metódicos, tem sido também analisado (1, 6, 7, 12, 26, 33, 35, 37, 38, 42, 43, 47, 49, 50, 56).

Fatores ecológicos parecem influir nos valores sanguíneos, como se depreende de alguns trabalhos (8, 29, 53, 54).

Considerando-se, ainda, que o quadro sanguíneo parece estar estreitamente relacionado com a capacidade física do animal (5, 33, 38, 49) e a grande variabilidade apresentada pelo mesmo, induzida por inúmeros fatores como se depreende da literatura, o presente trabalho foi planejado visando-se determinar o quadro hemático de eqüinos, Puro Sangue Inglês, procedentes de uma

Trabalho realizado com a ajuda financeira do Jockey Club de São Paulo e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

amostra bastante homogênea, considerados numa faixa de idade bem definida e que se caracterizavam como animais vencedores em competições hípcas.

Em virtude de marcada controvérsia existente, no que se refere à influência do sexo nos resultados das provas hematológicas nos eqüinos (1, 2, 7, 8, 9, 11, 17, 20, 26, 31, 34, 42, 48, 55, 57) foram realizadas análises comparativas entre machos e fêmeas ao nível de rejeição de 5%.

MATERIAL E MÉTODOS

O material para o presente trabalho constou de sangue de 60 eqüinos P.S.I., com idades variando de 3 a 5 anos hípcas, os quais eram submetidos a exercícios físicos regulares e regime alimentar semelhante e que estavam alojados nos Jockey Club de São Paulo.

Os animais foram selecionados dentre aqueles considerados "vencedores" das provas de 1 400 e 1 500 metros, areia leve, sendo escolhidos os que alcançavam tempo inferior a um índice de tempo calculado em função dos resultados obtidos por 200 animais, colocados em 1.º e 2.º lugares em cada uma das provas mencionadas.

O levantamento dos dados para cálculo do índice foi realizado junto aos arquivos da Comissão de Corrida do Jockey Club de São Paulo.

Após a corrida, os animais selecionados eram mantidos em repouso por 16-20 horas, quando era coletado o sangue.

O material foi colhido da veia jugular, no período da manhã, antes que os animais recebessem a primeira ração, evitando-se qualquer manobra que os excitasse.

O sangue, para as contagens globais, determinação de hemoglobina, hematócrito e eritrossedimentação, foi colhido em frascos especiais siliconizados, com rólhas plásticas, contendo o sal dissódico do ácido etileno-diaminotetracético (E.D.T.A.-Seqüestrene), em solução a 10%, na proporção de 10 mg do sal para 5 ml de sangue, conforme indicação de ROSENFELD (41).

Em tubos de ensaio 18/140, coletava-se 10 a 15 ml de sangue, sem anticoagulante, para obtenção de soro a ser submetido à dosagem de proteína total e análise eletroforética.

Com o material "in natura", imediatamente após a coleta, eram feitos esfregaços para posterior coloração e contagem diferencial de leucócitos.

Contagem de eritrócitos — O sangue, após agitação mecânica por dois minutos, em agitador de "Kahn", era coletado em pipetas hematimétricas, fazendo-se suspensão de 1/200, com líquido de Hayem. Após dois minutos de homogeneização, em agitador

“Clay-Adams”, era desprezado cêrca de $1/3$ do conteúdo da pipeta e a contagem, realizada em câmara de Neubauer, sôbre área de $1/5$ de milímetro quadrado.

Dosagem de hemoglobina — A dosagem de hemoglobina foi realizada espectrofotométricamente sob forma de cianometahemoglobina, empregando-se o líquido de Drabskin, segundo a técnica indicada por KING e WOOTTON (24).

Determinamos, de início, o espectro de absorção da cianometahemoglobina de P.S.I., a fim de conhecer-se o comprimento de onda adequado para a realização das análises. Os resultados demonstraram que deveria ser empregado comprimento de onda de 540 milimicrons (gráfico I).

Hematócrito — Utilizou-se o tubo de Wintrobe, o mesmo que fora empregado para a eritrossedimentação, centrifugando-se o material a 3 500 r.p.m., durante 30 minutos.

Índices V.C.M. — H.C.M. — C.H.C.M. — Êsses valores foram calculados conformes preceitua WINTROBE (58).

Contagem global de leucócitos — A técnica foi semelhante à utilizada para a contagem de hemácias, sendo a pipeta especial para leucócitos, a suspensão, de $1/20$, em líquido de Thoma e a contagem, em área de 4 milímetros quadrados.

Contagem diferencial de leucócitos — Para coloração dos esfregaços foi empregado o corante de ROSENFELD (40), seguindo-se a técnica preconizada pelo autor (39). A contagem foi feita sôbre 200 células. Foram calculados, além dos valores percentuais, os números totais para os diferentes tipos de leucócitos, em função da contagem global.

Eritrossedimentação — Foi realizada dentro das duas primeiras horas após a coleta, seguindo-se a técnica de Wintrobe e Landsberg descrita por WINTROBE (58), na qual apenas o anticoagulante foi submetido pelo E.D.T.A., fazendo-se leituras aos 15, 30, 45 e 60 minutos.

Proteína total — Coagulado o sangue, promovia-se o descolamento do coágulo e, após a retração, o sôro era retirado, centrifugado durante 3 minutos a 1.000 r.p.m. aproximadamente, e, então, mantido congelado em tubo de ensaio até o momento de fazer-se a análise.

Para esta dosagem utilizou-se o método de GORNALL e col. (16), e as leituras foram realizadas espectrofotométricamente, empregando-se comprimento de onda de 540 milimicrons.

Frações Protéicas — A migração eletroforética para a separação das frações protéicas foi executada sobre papel de filtro Whatmann n.º 1, em aparelho “Elphor”, utilizando-se tampão veronal acetato com força iônica 0,1 e pH 8,6. O soro era aplicado na quantidade de 0,07 ml a 9 cm de uma das extremidade do papel. Foi empregada corrente cuja intensidade correspondia a 2 mA por tira, durante 16 horas, e a seguir, iam as mesmas para secagem em estufa a 70-80°C.

A revelação foi realizada com amido Schwartz 10B, de acordo com a técnica de Grassmann e Hanning, modificada por FERRI e col. (10), diafanizando-se com óleo especial “Elphor” e as leituras realizadas no “Intergraph”.

As comparações entre sexos foram feitas através o teste de Student, de acordo com SNEDECOR (46) exceção feita para a contagem diferencial de leucócitos e eritrossedimentação. Nestes casos foi empregado o teste não paramétrico de Mann Whitney, conforme SIEGEL (45), uma vez que feito o teste de aderência de Colmogoroff, como indicado por GNEDENKO (15), rejeitou-se a hipótese de normalidade.

No que se refere às análises comparativas dos diferentes tipos de leucócitos e frações protéicas, não se considerou, respectivamente, os basófilos e a fração globulina alfa, uma vez que os valores são calculados em termos percentuais e são interdependentes, tornando-se conhecido o último valor automaticamente, perdendo-se portanto, um grau de liberdade.

Por outro lado, no que se refere aos neutrófilos, as mesmas análises foram feitas, somente, com o número total, não tendo sido realizadas para bastonetes e segmentados.

O nível de rejeição para todas as comparações foi de 5%, o valor crítico de t para 58 graus de liberdade, igual a 2, e para 118, de 1,65. O valor crítico de z (normal), com o qual se comparou o resultado do teste de Mann Whitney, foi igual a 1,96.

RESULTADOS

Os resultados obtidos encontram-se nas tabelas que se seguem, I, II, III e IV.

TABELA I Eritrograma dos P.S.I. vencedores e valores de *t* para os contrastes entre machos e fêmeas

	Eritrócitos mm ³		Hemoglobina g %		Hematócrito %		V.C.M. μ ³		H.C.M. γγ		C.H.C.M. %	
	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea
Média	10,6x10 ⁶	9,24x10 ⁶	15,92	17,79	50,60	45,70	48,00	49,60	15,08	16,80	31,43	32,28
Desvio Padrão	1,35x10 ⁶	7,30x10 ⁵	0,75	1,02	2,75	3,03	3,89	4,83	1,40	1,57	1,00	1,30
Coef. variabilidade	0,13	0,08	0,05	0,07	0,05	0,07	0,08	0,10	0,09	0,10	0,03	0,04
Mediana	10,3x10 ⁶	9,4x10 ⁶	16,02	15,00	51,00	46,00	48,00	49,50	15,20	16,06	31,61	32,05
Intervalo de confiança	(10,6 a 11,2)x10 ⁶	(8,91 a 9,57)x10 ⁶	15,57a 16,27	14,32a 15,26	49,35a 51,85	44,43a 47,07	46,23a 49,67	47,40a 51,80	14,43a 15,73	15,39a 16,83	30,98a 31,88	31,78a 32,98
<i>t</i>	4,86		4,91		6,53		1,42		2,64		2,71	

, *t* crítico a 5% = 2,00

TABELA II — Proteínograma dos P.S.I. vencedores e valores de *t* para os contrastes entre machos e fêmeas

	Proteínas		Albumina		Globulinas							
	g%		g%		alfa ₁		alfa ₂		beta		gama	
	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea
Média	5,88	5,97	2,96	3,01	0,19	0,19	0,57	0,61	0,86	0,87	1,30	1,29
Desvio Padrão	0,22	0,49	0,26	0,25	0,030	0,045	0,08	0,10	0,14	0,20	0,25	0,26
Coef. variabilidade	0,04	0,08	0,09	0,08	0,15	0,24	0,14	0,16	0,16	0,23	0,19	0,20
Mediana	5,90	5,80	2,96	3,02	0,17	0,17	0,57	0,60	0,86	0,83	1,29	1,30
<i>t</i>	0,90		0,25		—		1,33		0,25		0,14	

t crítico a 5% = 2,00

TABELA III — Leucograma, em números absolutos, dos P.S.I. vencedores e valores de z para os contrastes entre machos e fêmeas

	Leucócitos mm ³		Neutrófilos						Eosinófilo mm ³		Basófilo mm ³		Linfócito mm ³		Monócito mm ³	
			Bastonete mm ³		Segmentado mm ³		Totais mm ³									
	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea
Média	9300	9550	314	300	5331	5193	5641	5512	224	152	53	30	2984	3538	478	339
Desvio padrão	1430	1416	215	199	959	937	982	1063	212	187	52	43	725	897	245	227
Coef. variabilidade	0,15	0,15	0,69	0,66	0,18	0,18	0,17	0,19	0,95	123	0,97	1,43	0,25	0,25	0,51	0,67
Mediana	9025	9600	277	223	5369	5302	5590	5503	168	107	45,0	0,0	2732	3425	422	258
z	0,68		—		—		0,40		1,69		—		2,98		2,23	

z crítico a 5% = 1,96

TABELA IV — Leucograma, em números percentuais, dos P.S.I. vencedores e valores de \pm para os contrastes entre machos e fêmeas

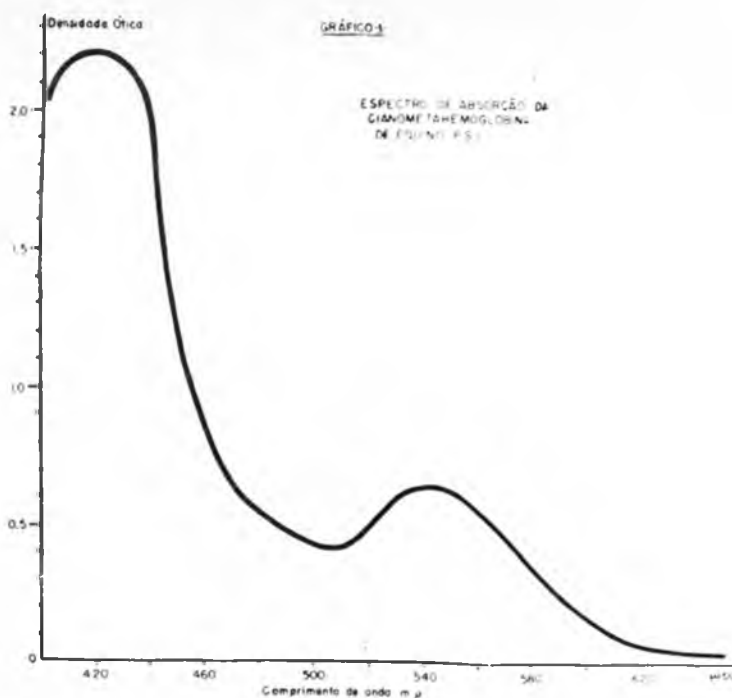
	Leucócitos mm ³		Neutrófilos						Eosinófilo		Basófilo		Linfócito		Monócito	
			Bastonete %		Segmentado %		Totais %		%		%		%		%	
	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea	macho	fêmea
Média	9300	9550	3,40	3,20	57,30	54,50	60,70	57,70	2,40	1,50	0,60	0,30	31,10	37,00	5,20	3,50
Desvio padrão	1430	1416	2,33	2,04	5,50	7,76	5,27	7,04	2,07	1,76	0,53	0,40	5,20	7,91	2,79	2,18
Coef. variabilidade	0,15	0,15	0,69	0,66	0,10	0,14	0,09	0,12	0,86	1,17	0,88	1,33	0,17	0,21	0,54	0,62
Mediana	9025	9600	2,25	2,75	56,25	55,50	60,25	58,50	2,00	1,00	0,50	0,00	31,25	37,00	5,00	3,00
\pm	0,68		—		—		1,52		1,89		—		3,26		2,60	

\pm crítico a 5% = 1,96

DISCUSSÃO

Considerando-se que inúmeros são os fatores que influenciam os resultados das diferentes provas empregadas para avaliar o quadro sangüíneo nos eqüinos e que contraditórios são os resultados dos trabalhos que se destinaram a avaliar a influência do sexo no resultado da mesma, os dados obtidos neste trabalho, dadas as condições em que se realizou o experimento, segundo parece contribuem para orientação dos que se interessam pelos problemas relacionados ao cavalo Puro Sangue Inglês.

A análise dos resultados mostra que o número de hemácias é significativamente mais elevado nos machos, o que está de acordo com os trabalhos de ARCHER (2), MacLEOD e col. (26), STANKIEWICZ e col. (48) e VAUGNT (57). O mesmo fato se verificou em relação à hemoglobina, confirmando os encontros de STANKIEWICZ e col. (48) e contrariando as observações de ARCHER (2), SANTOS (42) e VAN DEN BERG (55) e também com o hematócrito como já havia sido verificado por SANTOS (42).



A hemoglobina corpuscular média e a concentração hemoglobínica corpuscular média foram menores nos machos, fato já verificado por ARCHER (2) quanto à primeira.

O número total de leucócitos não apresentou diferença entre sexos, o que contradiz os achados de SANTOS (42).

A análise da contagem diferencial indica que tanto em percentagem como em valores absolutos, os linfócitos mostram-se em maior número nas fêmeas, o que corrobora as verificações de FERRI e col. (11), o inverso ocorrendo com os monócitos.

Os resultados da eritrossedimentação em 15 minutos não mostraram diferenças significantes entre machos e fêmeas, que se instalam, porém, aos 30 minutos, mantendo-se daí por diante. Provavelmente, a grande velocidade de sedimentação nas fases iniciais do processo não permite evidenciar diferenças nos primeiros minutos. Também HEINIMANN (20) havia já verificado que a velocidade de eritrossedimentação é maior nas fêmeas.

As proteínas não diferiram de modo significativo entre os sexos, quer no teor total, quer no das várias frações, o que confirma alguns trabalhos anteriores (7, 31, 48) e contradiz outros (9, 34).

SUMMARY

The main tests for the evaluation of the hemogram also including the serum proteins dosage of the Thoroughbred Horses were done with the blood of 60 of these equines considered winners, 30 of them being males and 30 females.

The results obtained, submitted to the statistical analysis, lead us to conclude that the males presented higher number of erythrocytes, hemoglobin rate, hematocrit and number of monocytes and mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobinic concentration and number of lymphocytes lower than the females.

Significant differences were only found after the 30th minute in the erythrossedimentation test, being higher for the females.

Baring the global proteins and their fractions no significant difference was verified.

The results, expressed in confidence intervals, are in the tables.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — ALEXANDROVA, A. — 1952 — *Konyedodstvo*, Moscou, 11:30, Cit. Sréter, F. A. (47).
- 2 — ARCHER, R. K. — 1959 — The normal haemograms and coagulograms of the English Thoroughbred horses. *J. Comp. Path. Ther.* Croydon, 69(4): 390-399.
- 3 — ARENDARCICK, J. & MIKLUSICAK — 1958 — Zmeny Niektorych Hematologických Ukazovatelov u Koni a Rozneko Statku Po Naki-meni. *Vet. Cas.*, Praga, 7(3): 293-302.

- 4 — BOGUTH, W. — 1953 — Papierelektrophoretische Serumuntersuchungen bei Haussäugetieren. *Zbl. Vet. Med.*, Berlin, 1:168-187.
- 5 — BRENON, H. C. — 1956 — Erythrocyte and hemoglobin studies in Thoroughbred horses. *J. Amer. vet. med. Ass.*, Chicago, 128(7):343-345
- 6 — BRENON, H. C. — 1958 — Further erythrocyte and hemoglobin studies in Thoroughbred horses. *J. Amer. vet. med. Ass.*, Chicago, 138(2): 102-104.
- 7 — CAMPELLO, A. P. — 1958 — Teores de alguns compostos nitrogenados no sangue de cavalos P.S.I. de corrida, sob a influência do exercício muscular e da glicose. Tese. Escola Superior Agricultura e Veterinária do Paraná, Curitiba.
- 8 — DELGADO, M. L. V. — 1957 — II. Valores hemáticos normales y sus variaciones en equinos juvenes de Venezuela (P.S. de C.). Estudio de los valores sanguíneos y sus variaciones segun la zona y el sexo. *Rev. Vet. Venezolana*, Caracas, 11(9): 145-220, 225-271.
- 9 — DZIALOSZYNSKI, L. & MACIEJEWSKA, M. — 1957 — Frakcje białkowe surowicy Krwi Kónskiej. *Méd. Vét.* (Weterjnarjina), Varsovia, 13(3): 173-177.
- 10 — FERRI, R. G.; MENDES, E.; CARDOSO, T. Y. B. & TUTIYA, T. — 1956 — Electrophoresis of serum protein in Asthma. Preliminary Report. *J. Allergy*, St. Louis, 27(6): 494-503.
- 11 — FERRI, S. GOMES, C. E. S. & MARTINS, L. F. — Quadro hemático no cavalo Puro Sangue Inglês (a ser publicado).
- 12 — FRIEDMANN — 1924 — Diss. Berlin, Cit. Romagnoli, A. (37).
- 13 — FUJIOKA, F. & MATSUSHITA, H. — 1962 — The electrophoretic studies of serum protein. II. On pregnant mare serum. *Bull Azabu vet. coll.* Kanagawa-Kem, 10: 75-79.
- 14 — GEINITZ, W. — 1954 — Über Serumweissee von Tieren, Die Häufig als Versuchstiere oder zur Gewinnung von Heilseren Dienen. *Klin. Wochr.*, Berlin, 32(47-48): 1108-1111.
- 15 — GNEDENKO, B. T. — 1962 — The theory or probabilities. New York, Chelsea Publication, p. 393-394.
- 16 — GORNALL, A. G.; BARADAWILL, C. J. & DAVID, M. M. — 1949 — Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *J. biol. Chem.*, Baltimore, 177: 751-766.
- 17 — HANSEN, M. F.; TODD, A. G.; CAWEIN, M. & MCGEE, W. R. — 1950 — Studies on the hematology of the Thoroughbred horse. II. Weanlings. *Amer. Jour. vet. Res.*, Chicago, 11(41): 393-396.
- 18 — HANSEN, M. F.; TODD, A. C.; KELLEY, G. W. & HULL, F. E. — 1950 — Studies on the hematology of the Thoroughbred horse. I. Mares in foal. *Amer. Jour. vet. Res.*, Chicago, 11(40): 293-300.
- 19 — HANSEN, M. F.; TODD, A. C. & MCGEE, W. R. — 1950 — Blood picture of lactating and non lactating Thoroughbred mares. *Vet. Med.*, Kansas, 45(6): 228- 230.

- 20 — HEINIMANN, H. — 1950 — Blutkörperchensediment, Sedimentierungsgeschwindigkeit und Härnoglobinghalt beim Halbblutpford. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, Zürich, 92(5): 271-295.
- 21 — HOLMAN, H. H. — 1947 — Studies on the hematology of the horse, ox and sheep. *Proc. roy. Soc. Med.*, London, 40: 185-187.
- 22 — IRVINE, C. H. G. — 1958 — The blood picture in the race horse. I. The normal erythrocyte and hemoglobin status. A dinamic concept. *J. Amer. vet. med. Ass.*, Chicago, 133(2):97-101.
- 23 — KEESE, H. — 1926 — Die Schwankungsbreite der durch verschiedene chemischphysikalische untersuchungsmethoden erfalßbaren Eigenschaften des Blutes des Pferdes unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. *Biochem. Z.*, Berlin, 178: 184-207.
- 24 — KING, E. J. & WOITTON, S. D. P. — 1956 — Microanalysis in Medical Biochemistry, 2.^a ed., New York, Grune Stration, p. 36-38.
- 25 — MacLEOD, J. & PONDER, E. — 1946 — An observation on the red cell content of the blood of Thoroughbred horse. *Science*, Washington, 103(2664):73.
- 26 — MacLEOD, J.; PONDER, E.; AITKEN, G. J. Jr. & BROWN, R. B. Jr. — 1947 — The blood picture of the Thoroughbred horse. *Cornell Vet.*, Ithaca, 37(1): 305-313.
- 27 — MALKMUS, B. & OPPERMANN, T. H. — 1933 — Elementos de diagnóstico clinico de las enfermedades internas de los animales domésticos. 2.^o ed. espanhola, Trad. II ed. alemana — Barcelona, p. 124. Cit. Santos, R. (42).
- 28 — MARZORATI, A. & MICHI, V. — 1956 — Le proteine seriche nel Puro Sangue. *Profilassi*, Milano, 29: 109-116.
- 29 — MAYER, W. — 1947 — Das Blutbild des Pferdes im polaren Winterklima (1943) *Wien. tierärztl. Mschr.*, Viena, 34:42.
- 30 — NESER, C. P. — 1923 — Ninth and Tenth Report. Dev. Vet. Ed. and Res., Union of South Africa Pretoria, Govt — Printing and Stationary Office, 479. Cit. Steel, J. D. & Whitlock, L. E. (49).
- 31 — ODEBRECHT, S. & BRANCO, C. L. — 1962 — Determinação dos teores séricos normais de gama globulinas em cavalos P.S.I. de corrida. *An. Fac. Med. Paraná*, 5(1-2): 67-72.
- 32 — PATRUSHEV, V. I. — 1939 — Physiological variation with in the English race-horses. *Compt. Rendus Acad. Sci. URSS*, Moscow, 23(7): 710-713.
- 33 — PATRUSHEV, V. I. — 1939 — Speed and blood, value of English race-horses. *Compt. Rendus Acad. Sci. URSS*, Moscow, 23(7): 714-717.
- 34 — PATRUSHEV, V. I. — 1939 — Physiological variation in horse as connected with age, Breed and Performance. *Compt. Rendus Acad. Sci. URSS*, Moscow, 23(7): 718-721.

- 35 — PERSON, S. — 1963 — Studies on total blood volume and total amount of haemoglobin in horses in relation to physical fitness. *Proc. 9th nordic Vet. Congr. Copenhagen, 1*: 161-167 "In" *Vet. Bull., Buchs.*, 33(11): 651.
- 36 — POLSON, A. — 1943 — Variation of serum composition with the age of horses as shown by electrophoresis. *Nature, London*, 152 (3858): 413-414.
- 37 — ROMAGNOLI, A. — 1949 — La velocità di sedimentazione dei globuli rossi negli equini affetti da enfisema polmonare alveolare cronico. *Atti soc. Ital. Sci. vet.*, Palermo, 3: 440-441.
- 38 — ROMIJN, C. — 1940 — The red blood picture of the horse. *T. Diergeneesk.* Utrecht, 73: 333-52. Cit. Campello, A. P.; Cardoso, A. T. & Faria, A. M. — 1960 — Perfil eletroforético do sôro de cavalos P.S.I. de corrida. *An. Fac. Med. Paraná*, 3(1-2): 3-16.
- 39 — ROSENFELD, G. — 1947 — Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudo de diversos fatores. *Mem. Inst. Butantan*, São Paulo, 20: 315-328.
- 40 — ROSENFELD, G. — 1947 — Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes de May Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Mem. Inst. Butantan*, São Paulo, 20: 329-334.
- 41 — ROSENFELD, G. — 1955 — Etilenediamina tetracética dissódica (EDTA) como anticoagulante para técnica hematológica. *Rev. clin. S. Paulo*, 31(3-4): 65-71.
- 42 — SANTOS, R. — 1960 — Determinações hematológicas em cavalos P. S. I. antes e depois do exercício muscular. Tese. Escola Superior de Agricultura e Veterinária, Curitiba, Paraná.
- 43 — SCHEUNERT, A. & KRZYWANEK, F. W. — 1926 — Weitere Untersuchungen über Schwankungen der Blutkörperchenmeng. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, Berlin, 213: 198-205.
- 44 — SCHLISHTING, M.; SANDERS, R. & GARDNER, M. — 1956 — The blood picture of the 200 Thoroughbreds. *Vet. Med.*, Kansas, 51(4): 151.
- 45 — SIEGEL, S. — 1956 — Nonparametric statistics for the behavioral Sciences. New York, Mc Graw-Hill Book Co., Inc., 1956.
- 46 — SNEDECOR, G. W. — 1956 — Statistical methods, 5th ed. Ames. Iowa, Iowa States University Press, p. 116-27.
- 47 — SRETER, F. A. — 1959 — The effect of systematic training on plasma electrolytes, haematocrit value, and blood sugar in thoroughbred race-horses. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, Ottawa, 37(2): 273-283.
- 48 — STANKIEWICZ, W.; MARKIEWICZOWA, Z. & MALINOWSKI, W. — 1960 — Hematologiczne badania koni pelnejkrwi i rasy Fiording. *Med. vet.*, Varsovie, 16(10): 594-598.
- 49 — STEEL, J. D. & WHITLOCK, L. E. — 1960 — Observations on the haematology of Thoroughbred and Standardbred horses in training and racing. *Australian vet. J.*, Sydney, 36(4): 136-142.

- 50 — STREIT — 1940 — *Schweiz. Arch. für Tierheilk*: 487. Cit. Romagnoli, A. (37).
- 51 — TAPERNOUX, A. & PAGNON, F. — 1933 — Contribution à l'étude de la sédimentation globulaire du sang de cheval. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 115: 64-66.
- 52 — TODD, A. C.; MCGEE, W. R.; WIANT, Z. N. & HOLLINGSWORTH, K. P. — 1951 — Studies on the hematology of the thoroughbred horse. V. Sucklings. *Amer. J. vet. Res., Chicago*, 12(45): 364-367.
- 53 — TRUM, B. F. — 1952 — Normal variances in horse blood due to breed, age, lactation, pregnancy and altitude. *Amer. J. vet. Res., Chicago*, 13(40): 514-519.
- 54 — TURLIN, A. A. — 1961 — Changes in the blood composition of horses under various pasture conditions. *Vestn. sel'skokhog. Nauki*, 2: 66-8. "In" *Vet. Bull., Buchs*, 31: 417.
- 55 — VAN DEN BERG, J. H. — 1927 — Diss. Utrech. Cit. Trum, B. F. (53).
- 56 — VAN ZIYL — 1948 — *Tijds vocr. Dier*, Utrecht, p. 485 Cit. Romagnoli A. (37).
- 57 — VAULONT, H. — 1935 — *Z. Biol.*, 96: 241. Cit. Trum, B. F. (53).
- 58 — WINTROBE, M. M. — 1956 — *Clinical Hematology* — 4th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, p. 318-319, 392-393.
- 59 — WITTKE, G. — 1960 — Das Ausmaß der Erythrocytenvermehrung im Blut des Pferdes Während und nach der Bewegung. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, Berlin, 73(24): 477-479.