

*Andréa Cristina Parra*

**VARIAÇÕES DA CRASE SANGÜÍNEA DURANTE A HIPERIMUNIZAÇÃO  
E APÓS SANGRIA E PLASMAFERESE EM EQÜINOS DE PRODUÇÃO  
DE SORO HIPERIMUNE ANTI-CROTÁLICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Departamento de Clínica Médica

Área de concentração: Clínica Veterinária

Orientador: Prof.Dr. Eduardo Harry Birgel

**São Paulo  
2005**

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1461 FMVZ	<p>Parra, Andréa Cristina Variações da crase sangüínea durante a hiperimunização e após sangria e plasmaferese em eqüinos de produção de soro hiperimune anti-crotálico / Andréa Cristina Parra. – São Paulo : A. C. Parra, 2005. 134 f. : il.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2005.</p> <p>Programa de Pós-graduação: Clínica Veterinária. Área de concentração: Clínica Veterinária.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel.</p> <p>1. Hematologia. 2. Plasmaferese. 3. Eqüinos. 4. Antivenenos. 5. <i>Crotalus</i>. 6. Hiperimunização. I. Título.</p>
----------------	--

## ERRATA

Página	Onde se lê	Leia-se
Resumo	134 f.	112 f.
Abstract	134 f.	112 f.

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do Autor: PARRA, Andréa Cristina

Título: Variações da crase sangüínea durante a hiperimunização e após sangria e plasmaferese em eqüinos de produção de soro hiperimune anti-crotálico.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### BANCA EXAMINADORA

Prof.Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

*“O valor das coisas não está no tempo que elas duram,  
mas na intensidade com que acontecem.  
Por isso existem momentos inesquecíveis,  
coisas inexplicáveis  
e pessoas incomparáveis”*

*Fernando Pessoa*

Aos meus pais **DIOGO** e **ADÉLIA** pelo carinho,  
amor e dedicação em todos os anos de minha vida, apoiando e  
incentivando.

Aos meus irmãos **CLÁUDIO** e **RICARDO**, minha cunhada **MARIA JOSÉ**  
e meu sobrinho **RAFAEL** pela paz familiar.

Ao meu companheiro e amigo **FABRÍCIO**, pela compreensão, paciência  
(muita), carinho e aconchego.

**OFEREÇO**



Aos meus amigos de pêlo, meu amado **BOB** e  
de pena, meu querido **LORO**, que sempre me receberam  
"sorridentes" após um dia duro de colheita.....

Aos meus amigos **CAVALOS** da Fazenda São Joaquim - Instituto  
Butantan, por possibilitarem a execução  
deste trabalho, tendo  
uma importância incomparável.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor **DR. EDUARDO HARRY BIRGEL**, pela orientação para realização deste trabalho e ensinamentos durante todo o processo e a **Sra. ALICE BIRGEL** pela amizade e carinho.

Ao Professor **DR. JUAREZ FERNANDES PINTO TÁVORA** pelos ensinamentos, incentivo, confiança, amizade e carinho.

Aos Professores **DR. WANDERLEY PEREIRA DE ARAÚJO** e **DR. EDUARDO HARRY BIRGEL JUNIOR** pela orientação na execução e nas análises dos testes estatísticos e pela amizade.

À Professora **DRA. MITIKA KURIBAYASHI HAGIWARA** pela amizade, incentivo e boa convivência.

À Professora **DRA. ALICE MARIA DELLALIBERA** pelos ensinamentos, pelo incentivo, amizade e momentos de muita descontração.

Ao professores **DR. WILSON ROBERTO**, **DR. ENRICO LIIPPI ORTOLANI**, **DR. FERNANDO JOSÉ BENESI** e **DRA. LILIAN GREGORY** pela amizade e carinho.

À **REGINA MIEKO SAKATA MIRANDOLA**, pelo treinamento e auxílio nas análises laboratoriais, pela paciência, amizade e carinho.

Às funcionárias dos laboratórios: **MARLI, CLARA, CARMEM e CLAUDIA** pelos ensinamentos, convívio e amizade.

Às secretárias da Pós-graduação: **SANDRA, CLÁUDIA e DEISE** pelo apoio e colaboração.

As secretárias do VCM: **HARUMI, CIDA, DAURA e PATRÍCIA** pelo apoio, dedicação, estímulo, amizade e respeito sempre.

A secretária-amiga **ADELAIDE BORGES** pela amizade, incentivo, apoio e boa vontade nos momentos de alegria e de dificuldades.

Ao **INSTITUTO BUTANTAN** pela oportunidade de realização das colheitas de amostras para o desenvolvimento deste trabalho.

A "Família" da Fazenda São Joaquim - Instituto Butantan - São Roque - SP, que sempre me acolheu de braços abertos: **PROF. JUAREZ, RONALDO FERREIRA**, minhas "amigas de coração" da Fazenda: **PATRÍCIA STOCCO BETIOL, ANANDRA RODRIGUES e VERIDIANA NEDRUZ**, e ainda a todos os funcionários que de um modo ou de outro me ajudaram, me incentivaram com muita amizade e respeito para realização deste trabalho.

A amiga **CLARISSE COELHO** pela amizade, apoio, incentivo e sempre boa vontade em qualquer situação.

Aos meus amigos e colegas da pós-graduação: **SANDRA, LILIAN, SABRINA, CARLA, MARTA, KARINA, VIVIANI, NÉRIA, HELOISA, PAULO, ROGÉRIO, REGIANE, DANIELA, LEONARDO, KEILA, VALÉRIA, PIERRE, MELANIE, JOÃO PAULO e RICARDO** pela amizade e bom convívio.

As minhas "irmãs de coração" da graduação: **ADRIANA BOIHAGIAN, ANDREA BAPTISTA (FOFÃO), LUCIANA CYRILLO e SIMONE C. LIMA (PIU)** pelo convívio, paciência, apoio e principalmente pela amizade de ouro.

À minha amiga **DANIELLE YURI**, pela amizade conquistada durante a pós-graduação.

A todos os **FUNCIONÁRIOS** do Departamento de Clínica médica da FMVZ - USP pelo bom convívio.

As **FUNCIONÁRIAS** da Biblioteca da FMVZ - USP pela colaboração.

À **CAPES** pela concessão da bolsa para realização deste trabalho.

## LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** Protocolo de hipersensibilização de eqüinos com veneno crotálico, utilizando animais mantidos na Fazenda São Joaquim – Instituto Butantan, São Roque – SP 16
- Quadro 2** Caracterização dos momentos (grupos experimentais), utilizados para delinear a oportunidade das colheitas das amostras de sangue 20

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Valores médios e desvio padrão dos constituintes do eritrograma de eqüinos produtores de soro anticrotálico, segundo momentos do processo de hiperimunização (fases de hiperimunização, de sangrias de produção, da plasmaferese e de recuperação), SÃO PAULO – SP, 2005 32
- Tabela 2** Valores médios e desvio padrão dos índices hematimétricos absolutos (VCM, HCM e CHCM) de eqüinos produtores de soro anticrotálico, segundo os momentos do processo de hiperimunização (fases de hiperimunização, de sangrias de produção, da plasmaferese e de recuperação), São Paulo – SP, 2005. 33
- Tabela 3** Valores médios e desvio padrão, expressos em milhares ( $10^3$ ) por  $\text{mm}^3$ , dos constituintes do leucograma de eqüinos produtores de soro anticrotálico, segundo os momentos de colheita do processo de hiperimunização (fases de hiperimunização, de sangrias de produção, da plasmaferese e de recuperação), São Paulo – SP, 2005 34
- Tabela 4** Valores médios e desvio padrão dos valores de ferro, transferrina, bilirrubinas total (BT), direta (BD) e indireta (BI) do soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro anticrotálico, segundo momentos do processo de hiperimunização (fases de hiperimunização, de sangrias de produção, da plasmaferese e de recuperação), São Paulo – SP, 2005 35

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Variações dos valores médios do número de hemácias no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico durante as várias fases de produção	36
<b>Figura 2</b>	Variações dos valores médios do volume globular no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	37
<b>Figura 3</b>	Variações dos valores médios da taxa de hemoglobina no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	38
<b>Figura 4</b>	Variações dos valores médios do volume corpuscular médio das hemácias no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	39
<b>Figura 5</b>	Variações dos valores médios de hemoglobina corpuscular média das hemácias no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	40
<b>Figura 6</b>	Variações dos valores médios da concentração de hemoglobina corpuscular média nas hemácias no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	41
<b>Figura 7</b>	Variações dos valores médios do número total de leucócitos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	42
<b>Figura 8</b>	Variações dos valores médios do número de neutrófilos bastonetes no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	43
<b>Figura 9</b>	Variações dos valores médios do número total de neutrófilos segmentados no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	44
<b>Figura 10</b>	Variações dos valores médios do número de eosinófilos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	45



<b>Figura 11</b>	Variações dos valores médios do número de basófilos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	46
<b>Figura 12</b>	Variações dos valores médios do número de linfócitos pequenos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	47
<b>Figura 13</b>	Variações dos valores médios do número total de linfócitos grandes no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	48
<b>Figura 14</b>	Variações dos valores médios do número de linfócitos atípicos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	49
<b>Figura 15</b>	Variações dos valores médios do número de linfócitos totais no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	50
<b>Figura 16</b>	Variações dos valores médios do número de monócitos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	51
<b>Figura 17</b>	Variações dos valores médios da concentração de ferro do soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	53
<b>Figura 18</b>	Variações dos valores médios da concentração de transferrina do soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	55
<b>Figura 19</b>	Variações dos valores médios da concentração de bilirrubina total no soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	56
<b>Figura 20</b>	Variações dos valores médios da concentração de bilirrubina direta do soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção	57

**Figura 21** Variações dos valores médios da concentração de bilirrubina indireta do soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção

## RESUMO

PARRA, A.C. **Variações da crase sangüínea durante a hiperimunização e após a sangria e plasmaferese em eqüinos de produção de soro hiperimune anti-crotálico.** [Variation of blood profile during the hyperimmunization and after the bleeding and phasmaferese in produce's equine serum hyperimune anti-crotalic].2005. 134f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Para o estabelecimento do quadro sangüíneo de eqüinos durante a hiperimunização para produção de soro hiperimune anti-crotálico e após as sangrias de produção e a plasmaferese, foram utilizados 20 animais, obedecendo as normas do protocolo de hiperimunização do Instituto Butantan. As amostras foram colhidas antes das inoculações do antígeno (veneno crotálico), antes e depois das sangrias de produção, após as plasmafereses e 15, 30 e 45 dias após a última sangria, totalizando 340 colheitas, realizadas em 17 momentos. Nas amostras, foram determinados valores do hemograma (número de hemácias, volume globular, teor de hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, número de leucócitos, contagem diferencial de leucócitos) e de alguns parâmetros de bioquímica sérica (ferro, transferrina e bilirrubinas). Significativas variações no quadro hematológico dos eqüinos foram observadas na fase de hiperimunização, caracterizando anemia normocítica, normocrômica, sem alterações significativas do leucograma. Além disso, verificou-se diminuição significativa da sideremia associada ao aumento da concentração de transferrina sérica, permitindo classificar-se a anemia, como do tipo ferropriva. Nas fases de sangrias, observou-se evidentes variações no quadro hematológico demonstrando uma anemia hipocitêmica normocítica hiperocrômica pós-sangrias, sem variações nos valores do leucograma, mas com significativas variações nos constituintes bioquímicos (diminuição do ferro sérico e aumento da concentração de transferrina). No período de repouso foi evidente a eficácia da plasmaferese, com

pronta , mas parcial recuperação do hemograma e da sideremia dos animais anêmicos, facilitando o rápido retorno para normalidade hematológica, tornando-os aptos a nova produção de soro hiperimune.

Palavras-chaves: 1 – hematologia 2 – plasmaferese 3 – eqüínos 4 – antivenenos  
5– crotálico 6 - hiperimunização

## ABSTRACT

PARRA, A.C. **Variation of blood profile during the hyperimmunization and after bleeding and plasmapheresis in equine serum hyperimmune anticrotalic's production.** [Variações da crase sangüínea durante a hiperimunização e após sangria e plasmaferese em eqüinos de produção de soro hiperimmune anti-crotálico].2005. 134f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Twenty animals were used to assess the blood profile of horses during hyperimmunization for anticrotalic hyperimmune serum production and after the bleedings of production and the plasmapheresis, obeying the protocol schedule of Instituto Butantan. The samples were obtained before the antigen inoculations (crotalic poison), before and after the bleedings of production, right after the plasmapheresis and 15, 30 and 45 days after the last one, making a total of 340 collections in 17 moments. Samples were analyzed for hemogram (number of erythrocytes, packed cell volume, hemoglobin, MCV, MCH, MCHC, white cell count, differential leukocytes count) and some serum biochemical components (iron, transferrin and bilirubin). Significant variations were observed on the blood profile of the horses throughout the hyperimmunization, showing normocytic, normochromic anemia, without significant alterations on leukogram. Beside that, a significant reduction of the hemosiderin was observed in association with the elevation of the serum transferrin concentration, making possible its classification as an iron deficiency-like anemia. During the bleedings phases, evident variations were observed on the blood profile showing pos-sangrias hypocitemic normocytic, hyperchromic anemia without changing the leukogram values, but with significant variations on the biochemical components (reduction of serum iron and increase of transferrin concentrations). During rest periods, the efficacy of plasmapheresis was evident with a rapid but partial recuperation of the hemogram and the hemosiderin of

the anemic animals, making easier the fast return of hematologic normality and making them capable to a new hyperimmune serum production.

Key words: 1 – hematology 2 – plasmapheresis 3 – equine 4– antivenins  
5 – crotalic 6 – hyperimmunization

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	01
1.1 Reminiscências da produção de soros antiofídicos no Brasil .....	01
1.2 Acidentes causados por serpentes .....	03
<b>2 A PRODUÇÃO DE SOROS ANTIOFÍDICOS</b> .....	05
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	11
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	15
4.1 Grupos experimentais .....	17
4.1.1 Identificação dos animais .....	18
4.1.2 Colheita da amostra de sangue para avaliação do quadro hemático .....	18
4.1.3 Momento das colheitas .....	19
4.2 Metodologia hematológica selecionada .....	22
4.2.1 Técnicas hematológicas para determinação de hemograma .....	23
4.2.1.1 Eritrograma .....	23
A - Contagem do número de eritrócitos .....	23
B - Dosagem de hemoglobina .....	24
C - Determinação do volume globular .....	25
D - Índices hematimétricos absolutos .....	25
4.2.1.2 Leucograma .....	26
A - Contagem do número total de leucócitos .....	26
B - Contagem diferencial dos leucócitos .....	26
4.2.2 Técnicas bioquímicas para dosagens de ferro e bilirrubinas total, e de reação direta e indireta no soro sangüíneo .....	27
A - Dosagem de ferro .....	27
B - Dosagem das bilirrubinas – total e de reação direta e indireta .....	28
4.3 Análise Estatística .....	29
<b>5 RESULTADOS</b> .....	30
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	59
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	88
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	91
<b>ANEXOS</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

Os primeiros registros sobre imunização de animais para fins terapêuticos foram feitos em França por Sewall<sup>A</sup> (1887 apud CHIPPAUX, 1998) que imunizou um pombo contra o veneno de *Sistrurus catenatus* (cascavel anã), usando repetitivas inoculações do veneno tratado com glicerina. O protocolo experimental foi vago, mas os pombos resistiram ao desafio com seis doses letais do veneno. Roux e Yersin<sup>B</sup> (1888 apud CHIPPAUX, 1998) mostraram que o sangue do animal imunizado contra toxina diftérica protegia animais não imunizados contra difteria. Bering e Kitasato<sup>C</sup> (1890 apud CHIPPAUX, 1998) confirmaram a transferência de imunidade passiva contra difteria e tétano. E, posteriormente, numa terapia com antivenenos Calmete<sup>D</sup> (1894 apud CHIPPAUX, 1998) estudou a ação de três protocolos de imunizações observando que o soro hiperimune tinha uma atividade terapêutica; assim sendo Calmete foi considerado pesquisador pioneiro na idealização e produção de antiveneno contra picada de cobras indianas.

### 1.1 REMINISCÊNCIAS DA PRODUÇÃO DE SOROS ANTIOFÍDICOS NO BRASIL

A produção de soro antiofídico, no Brasil, iniciou-se em 1901, quando o ilustre cientista brasileiro Vital Brasil Mineiro da Campanha, em São Paulo, em modesto laboratório, de forma pioneira, produziu o soro hiperimune antibubônico, para ser

---

<sup>A</sup> SEWALL,H. (1887) Experiments on the preventive inoculation of rattlesnake venom. **J.Physiol.**,v.8, p.203 –210.

<sup>B</sup> ROUX,P. and YERSIN,A. (1888). Contribution à l'étude de la diftérie. **Ann.Inst. Pasteur**, 2, p. 629 –649.

<sup>C</sup> VON BERING,E. and KITASATO,S. (1890) Ueber das Zustandekommen der Diphtherie-immunität und der Tetanus- immunität bei Thieren. **Dtsch.Med. Wochenschr.** 16, 1113-1145.

<sup>D</sup> CALMETTE.A. (1894) L'immunisation artificielle des animaux contre le venin des serpents et la therapeutique expermentale des morsures venimeuses. **C.R. Acad. Sci.** v.118, p.288.



utilizado no controle de epidemia que se propagava em várias regiões do mundo e no Brasil, particularmente em São Paulo. O referido laboratório localizava-se em uma grande área pertencente ao governo do Estado, constituindo a Fazenda Butantan, onde se instalaria posteriormente o Instituto Butantan e o Campus Universitário Armando Salles de Oliveira, sede da Universidade de São Paulo. O Instituto foi “moldado” na forma e princípios do Instituto Pasteur, em França, com o mesmo nome da fazenda e que na segunda década do século passado, daria espaço para a instalação da Escola de Medicina Veterinária de São Paulo, o núcleo primordial da atual Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. O Instituto reunia laboratórios de pesquisa e de produção, com grande número de cavalos para produção de plasma hiperimune e vacas para produção de vacinas antivariólica, pois a disseminação da varíola em São Paulo, configurava uma epidemia (RAW, et al, 1991; BIRGEL, 2004; MARTINS, 1995).

Na evolução histórica da produção de soros hiperimunes no Brasil, em 1930, uma companhia particular foi formada para elaboração e distribuição de produtos imunoterápicos e o Instituto Butantan, de forma direta, contratou-a para suprir as atividades produtivas para o Departamento de Saúde do Estado de São Paulo. Em 1983, a companhia privada cessou suas atividades de produção de antivenenos, gerando problemas de saúde pública, por falta desses produtos para atendimento das comunidades. Em consequência, o Ministério da Saúde houve por bem reformar e modernizar o Instituto Butantan, para aumentar a produção de plasma hiperimune, melhorando a produtividade e estabilizando o uso de antivenenos. (RAW, et al, 1991)

Ao início da década de 90, o Instituto Butantan, foi considerado como responsável pela produção de 70% dos antivenenos no Brasil, sendo os demais

30% produzidos sob égide do Instituto Vital Brasil (situado no Rio de Janeiro - RJ, também fundado por Vital Brasil) e Fundação Ezequiel Dias (FUNED, em Belo Horizonte – MG) (RAW, et al, 1991)

## 1.2 ACIDENTES CAUSADOS POR SERPENTES

Os envenenamentos por serpentes descritos na América Central e América do Sul foram determinados, principalmente, por seis gêneros de ofídeos, pertencentes a três distintas famílias de serpentes: *Hydrophidae*, com o gênero *Pelamis*, raramente causando acidentes; *Elapidae*, família onde se destaca o gênero *Micrurus* e finalmente a família *Viperidae*, com o mais significativo número de gêneros de serpentes causadores da maioria dos acidentes ofídicos a saber: 1) *Agkistrodon*; 2) *Bothrops*; 3) *Crotalus* e 4) *Lachesis* (HARRIS e SIMMONS, 1976/77)

O gênero *Crotalus* é representado por duas espécies de serpentes, *Crotalus durissus* e *Crotalus vegrandis*, na América Central e do Sul. Neste grupo de serpentes, existem algumas subespécies: *Crotalus durissus durissus*; *Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus durissus cascavella*. (HARRIS e SIMMONS, 1976/77)

No primeiro triênio da década de 90, foram comunicados ao CNCZAP (Coordenação Nacional de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos), 81.611 casos de acidentes ofídicos em humanos, representando 27.204 casos/ano para o país. A maioria das notificações procedeu das regiões Sudeste e Sul do Brasil, justamente as regiões mais populosas e que contam com melhor organização de serviços de estatística vital. Desses acidentes, 6,2% (5.060 casos) foram provocados por serpentes do gênero *Crotalus*, resultando em 95 óbitos (1,88% dos casos), o maior coeficiente de letalidade foi considerado como conseqüente à freqüente

evolução dos envenenamentos, com quadro clínico de insuficiência renal aguda. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999)

O veneno crotálico das cascavéis sul-americanas possui três princípios tóxicos ativos, com ações: neurotóxica; miotóxica e coagulante. A ação neurotóxica é determinada principalmente, pela fração crotoxina (neurotoxina), indutora de bloqueio neuromuscular (paralisia motora); a ação miotóxica produz lesões de fibras musculares estriadas (rabdomiólise) com liberação de enzima e mioglobina no sangue circulante, que posteriormente serão excretadas pela urina; a ação coagulante decorre de atividade assemelhada à da trombina coagulando o fibrinogênio e originando a fibrina. Ressalte-se que o excessivo consumo de fibrinogênio determina a ocorrência de hipofibrinogenemia e, portanto á incoagulabilidade sangüínea. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999; THOMAZINI & BARRAVIERA,1994). Segundo CORRIGAN et al (1983); THOMAZINI & BARRAVIERA (1994), em envenenamento crotálico, por subespécie: *Crotalus atrox* e *Crotalus. molossus molossus*, predominantes no hemisfério norte do Continente Americano, foi descrita atividade agregatória de plaquetas, ausência de ação de coagulação do fibrinogênio e severas e intensas lesões necróticas.

Os rins são particularmente vulneráveis a ação das toxinas do veneno das serpentes, particularmente das do gênero *Crotalus* devido a primordial função orgânica de filtração do órgão, pelo qual circula grande volume de sangue e pela capacidade bem desenvolvida de concentrar substâncias, inclusive as toxinas para que sejam excretadas juntamente com a urina. (MARTINS et al,1998) Por tais razões nesses acidentes ofídicos descreveu-se com segurança, a ocorrência de insuficiência renal aguda. As lesões renais responsáveis por esse quadro clínico agudo, foram caracterizadas como glomerulonefrites e necroses tubular e cortical

agudas. Atribuindo-se a elas a responsabilidade pela interrupção abrupta da função renal, na evolução do envenenamento, pois os rins perderiam a habilidade de filtrar o sangue e de concentrar a urina. Após a emissão de pequenas quantidades de urina escurecida (oligúria) ocorreria a anúria (MARTINS et al, 1998). Nessas circunstâncias, evidentemente, foram observadas, significativas evidências de insuficiência da função renal, detectável pelas provas bioquímicas de soro sangüíneo, que avaliam esta função.

Os componentes tóxicos do veneno crotálico são indiretamente nocivos ao sistema renal, devido a presença de enzimas proteolíticas, lesando as células renais, por ação da mioglobinemia determinada pela rabdomiólise (MARTINS et al, 1998).

A magnitude das lesões causadas pelo envenenamento crotálico e a severidade das manifestações clínicas observadas nos animais acidentados exigem medidas terapêuticas específicas e urgentes, tornando-se necessária à urgente utilização de soroterapia específica, com doses adequadas e seguindo um protocolo específico de repetições.

## **2 A PRODUÇÃO DE SOROS ANTIOFÍDICOS**

A produção do soro antiofídico utilizando eqüinos para produção de soro anti-crotálico, inicia-se com a extração do veneno das serpentes, previamente anestesiadas com dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), em suas próprias caixas de manutenção em cativeiro. A extração se faz comprimindo as glândulas veneníferas e colhendo o veneno numa placa de petri. A seguir, o veneno deve ser dessecado, quando se cristaliza, para a seguir ser armazenado em frascos fechados a vácuo e mantidos refrigerados a 4°C. Esse veneno cristalizado será a matéria prima para a produção do soro antiveneno. (RAW, et al, 1991)

Na preparação do antígeno, inicialmente faz-se uma mistura de veneno das diferentes subespécies do gênero de ofídio, para com a qual se fará o anti-soro específico. Assim no caso do presente projeto, para a preparação do antígeno crotálico foram utilizados os venenos das serpentes: *Crotalus durissus durissus*; *Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus durissus cascavella*. A mistura desses venenos cristalizados era dissolvida em solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, sendo em seguida, esterilizado e filtrado através de uma membrana de malha de 0,22mm<sup>2</sup> (RAW, et al, 1991). Finalmente, o soro antiofídico usado com propósitos terapêuticos seria obtido a partir do plasma eqüino hiperimunizado, rico em anticorpos específicos a cada um dos venenos ofídicos utilizados (MORAIS 1994).

No caso específico da produção de soro antiofídico do Instituto Butantan da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, o antígeno preparado, como especificado anteriormente, era enviado refrigerado ao Setor de Produção de Plasmas Hiperimunes, do Instituto Butantan, localizado na Fazenda São Joaquim, situada no município de São Roque – SP, onde foram aplicados em eqüinos, de acordo com o protocolo desenvolvido no próprio Instituto, para produção de soro específico hiperimune. (RAW, et al, 1991)

Nos setores de produção de soros hiperimunes foi estabelecido o consenso, que os eqüinos (*Equus caballus*) a serem imunizados, deveriam pesar aproximadamente 400Kg, com higidez certificada por minucioso exame clínico, para produção de plasma hiperimune (RAW, et al, 1991). Aprovados para a formação dos grupos de serviço, esses animais receberiam o antígeno, associado ao adjuvante Freund ou também chamada Emulsão Múltipla completa – EMC (composto de microgotículas de emulsão de óleo mineral e água e micobactéria (BCG – Bacilo Calmete Guerin), estabilizados por substância surfactante), o adjuvante de freund

estimularia a autoimunogenicidade, mas teria como desvantagem a indução da formação de granulomas extensos, eventualmente promovendo a produção de abscessos na região da inoculação do antígeno (HERBERT, 1973), estimulando assim a resposta das células auxiliaadoras dos macrófagos, nas primeiras imunizações, (TIZARD, 1998); nas demais inoculações do antígeno, ele seria substituído pela associação da Emulsão Múltipla Incompleta – EMI (composto de microgotículas de água, estabilizados por surfactante em fase oleosa, tipicamente de óleo mineral, sem micobactéria (BCG), formulação relativamente simples e de boa indução da resposta imune especialmente da resposta hidrofílica (COX e COULTER, 1997) por via subcutânea. O local da aplicação do antígeno (região dorsal) seria previamente lavado com água e sabão, tricotomizado e submetida a anti-sepsia local com solução de álcool iodado a 10%. O número de inoculações seria variável de acordo com o tipo de antígeno utilizado, permanecendo na quase totalidade dos casos, entre três a seis inoculações. Aproximadamente 25% dos animais imunizados, apresentam reações inflamatórias locais durante o ciclo de imunização com veneno crotálico, efeitos que podem ser minimizados com a substituição do adjuvante. Após o número ideal de inoculações, modulada pela experiência da equipe de especialistas, far-se-á uma Sangria Exploratória (colheita de sangue para verificação da titulação específica de anticorpos no soro do animal produtor). Estas provas foram padronizadas e realizadas nos Laboratórios do Instituto Butantan, em São Paulo, e caso a titulação de soro sanguíneo tenha apresentado valores ideais de anticorpos para tal imunização, executa-se a chamada “Sangria de Produção”, colhendo-se um volume que corresponda até 2,0% de peso corpóreo, para obtenção do plasma hiperimune. Tal volume, em geral, corresponde a 8-10 litros de sangue para eqüinos com peso corpóreo variando entre 400 e 500 quilos. A colheita de

sangue se faz por punção da veia jugular externa, com agulha (50 x 60 mm), após adequada anti-sepsia local, recolhendo-se o sangue numa bolsa plástica dupla, em circuito fechado :uma para o sangue e seus elementos celulares e outra para conter o plasma separado. O sistema utilizado na colheita deve manter-se esterilizado durante todos os momentos do procedimento. Para obtenção de plasma hiperimune utiliza-se, como anticoagulante 400mL de solução <sup>1</sup>ACD, devendo essas bolsas ser identificadas (com o número do animal, data e serviço) e mantidas suspensas em refrigeradores em temperatura de 4°C, ressalta-se que a posição suspensa das bolsas facilita a hemossedimentação. Ultimada a hemossedimentação, o que ocorre, aproximadamente, 24 horas após a sangria de produção. A seguir, quando houve a total transferência do plasma para as bolsas específicas para essa finalidade, elas devem ser armazenadas em refrigerados a 4°C. (RAW et al, 1991) Este procedimento é repetido, aproximadamente, três vezes, com o intervalo de 24 horas, durante a execução do protocolo de produção. Após a 2º. e 3º. sangrias de produção, a fração sedimentada do sangue constituída por células: por glóbulos vermelhos, leucócitos e plaquetas. Essa fração, com predomínio de hemácias, por isso chamada, na rotina de serviço, por papa de hemácias; será ressuspensa em 2 litros de solução de cloreto de sódio a 0,9% estéril e será infundida, no mesmo animal, por injeção endovenosa.

Após a execução do protocolo de produção, os equinos utilizados, devem permanecer em repouso cerca de dois meses, ficando, de preferência em liberdade nos pastos da fazenda, onde alimentam-se com ração, capim e água, dentro de programa nutricional previamente estabelecido, para a seguir serem incluídos, no próximo protocolo de produção.

---

<sup>1</sup> ACD - 1,47g de dextrose, 4,8g de citrato de sódio, 1,47g de ácido cítrico, água q.s. -100ml.

Apesar de não estar plenamente avaliado o processo de retorno da fração globular ao equino doador de sangue hiperimunizado, procedimento denominado, rotineiramente de plasmaferese, supõe-se que ele determinaria rápido restabelecimento das condições de saúde do animal.

A possibilidade de uma mais adequada separação das duas frações de sangue dos eqüinos hiperimunizados – fração celular e fração plasmática – estimulou o incremento do número de pesquisas avaliando o uso da plasmaferese em grande escala, tanto, na terapia de doenças associadas à intensa produção de anticorpos circulantes prejudiciais à manutenção da saúde dos animais. (JONES, 1977), como para produção de soros hiperimunes de uso terapêuticos em humanos e em animais,

A plasmaferese já foi recomendada e utilizada no tratamento de mais de 100 doenças de seres humanos, incluindo hematopatias, como, por exemplo: macroglobulinemia; neoplasias; doenças infecciosas; septicemias; remoção de toxinas, (como as paraproteinemias; mieloma múltiplo; anemia hemolítica imuno-mediada; trombocitopenia imuno-mediada; miastenia grave; lupus eritematoso e outras dermatopatias). A plasmaferese, procedimento biotecnológico utilizado, inicialmente na terapia de reposição de déficit sanguíneo de pacientes, consistia na remoção do sangue de doador pré - selecionado, separação do plasma, ressuspensão dos elementos figurados do sangue, em solução salina fisiológica e com reposição dessa suspensão celular por via intravenosa no receptor enfermo.(LEVINE et al, 1970; GREEN et al, 1974; JONES, 1977; MAGDESIAN et al, 1992; BARTGES, 1997). Os estudos pioneiros dessa metodologia foram realizados em coelhos estudando os efeitos do processo nos teores sanguíneos de proteínas e a produção de antivenenos. (CANNON et al, 1943). Experimentos biotecnológicos de



plasmaferese na produção de soros hiperimunes tiveram início em setembro de 1969, no Instituto de Pesquisa Central, em Kasauli (Índia), para após alguns anos de experimentação e padronização ser introduzida na rotina da produção comercial de soros antitetânicos, antidiftéricos e antivenenos, usando eqüinos como animais para elaboração desses soros hiperimunes. (BHARDWAJ et al, 1977). Contudo VAZ e ARAUJO (1949), no Instituto Butantan, em São Paulo, já haviam avaliado a possibilidade da plasmaferese no processo de recuperação de eqüinos sangrados para a produção de soro hiperimune.

A plasmaferese em eqüinos de igual forma foi recomendada para colheita de sangue e produção de imunoglobulinas, a serem utilizadas no controle de algumas enfermidades dos animais domésticos: como exemplo deve-se ressaltar que o plasma assim produzido teria adequada indicação nos casos de deficiência ou risco eminente de doenças hemorrágicas por transferência passiva de imunoglobulinas das éguas para seus potros ou em doenças que determinem severa hipoproteinemia. Um dos fatores limitantes para o uso terapêutico da plasmaferese refere-se a taxa de substituição do plasma do animal doador do sangue. (VAZ e BUENO,1949; PHILLIPS et al, 1974; MCVEY et al, 1989; BROOK,1989; MAGDESIAN et al,1992; MCCLURE et al, 2001)

Face ao significado dos acidentes ofídicos em humanos para Saúde Pública e a importância econômica dessas ocorrências em animais criados com função de exploração econômica, há extrema necessidade da produção de soros antiofídicos, para que os centros de saúde e instituições responsáveis pela saúde animal, tenham sempre à disposição soros hiperimunes, em quantidade e qualidade suficientes para amenizar ou inibir a ação das toxinas dos venenos de serpentes. Todavia, foi considerado como de extrema importância, cuidar-se da manutenção da saúde e

recuperação orgânica dos eqüinos sorodoadores ou produtores de soro hiperimune. Para tanto, deve-se ter pleno conhecimento da fisiopatologia do processo de indução maciça de imunoglobulinas específicas durante o processo de hiperimunização de eqüinos contra veneno ofídicos. Nessas pesquisas, além de considerar o quadro de sintomas locais e sistêmicos determinadas pelas inoculações de antígenos e das lesões externas ou de órgãos internos deveriam ser avaliadas as alterações sanguíneas, incluindo variações do hemograma (eritro e leucograma), bem como da bioquímica clínica do soro sanguíneo (provas de função hepato-renal) e dos teores séricos de ferro e de transferrina (capacitação total de ligação do ferro com a transferrina – CTLF ou TIBC – total iron binding capacity).

### **3 REVISÃO DA LITERATURA**

Na literatura compulsada, poucos foram os trabalhos referidos e pertinentes às avaliações de alterações fisiopatológicas em animais imunizados com venenos para produção de antivenenos. Particularmente, o veneno das serpentes sul-americanas *Crotalus durissus terrificus* tem sido referido, baseado em sua atividade tóxica de natureza hemolítica e neurotóxica. A presença de hemoglobinemia com ausência de hematúria foi considerada como expressão fundamental da atividade hemolítica do veneno, sendo o diagnóstico de hemoglobinúria estabelecido somente indiretamente com base na coloração escurecida da urina e pelo teste de benzidina para pesquisa de sangue oculto em fluidos. (ROSENFELD et al, 1960, KELEN et al, 1960 e AZEVEDO – MARQUES et al, 1987) Todavia, deve-se ressaltar que essas conclusões já haviam sido referidas e avaliadas anteriormente, por inúmeros

pesquisadores que verificaram, clínica e experimentalmente, a atividade hemolítica do veneno crotálico, principalmente pela observação da coloração escurecida da urina humana, conseqüente à hemoglobinúria (McCOLLOUGH e GENNARO, 1966; AMORIM e MELLO, 1969; VITAL BRASIL, 1980) A terapia com melhores resultados nos envenenamentos determinadas por acidentes ofídicos e por isso mais aceitas e recomendadas para o tratamento desses envenenamentos é pela administração de antivenenos, contudo, este procedimento deve ser realizado rapidamente após a ocorrência do evento para neutralizar a ação do veneno inoculado e para possibilitar a reversão dos danos causados pelo agente deletério. Mas, cada antiveneno é específico para o agente causador do envenenamento.(SANCHEZ, et al, 2003). Ao avaliar o efeito da sangria de animais de imunização, Vaz e Araújo (1949) verificaram que na fase de hiperimunização de eqüinos para produção de soro antiofídico de uso terapêutico determinava diminuição de taxa de hemoglobina e de volume globular, sendo respectivamente antes da imunização e antes da sangria, iguais a 15,0 g/dl; 37,1% e 13,4 g/dl ; 33,4%.

ESTRADA et al (1992) utilizaram 6 eqüinos adultos (de 3 a 9 anos), clinicamente sadios, machos e fêmeas, entre 400 e 500kg, em experimento para determinar, tanto as manifestações clínicas, como as variações hematológicas causadas por inoculação de antígeno polivalente (composto de veneno de *Botrops asper*, *Crotalus durissus* e *Lachesis muta*), observando diminuição dos teores de hemoglobina e do volume globular durante o processo de produção de soro hiperimune.

ANGULO et al (1997a) utilizaram eqüinos adultos (entre 3 e 4 anos de idade), hiperimunizados com venenos de *Botrops asper*, *Crotalus durissus durissus* e *Lachesis muta stenophrys*, para avaliar anormalidades comumente observadas e

referidas em envenenamentos crotálicas de eqüinos destacando: anemia de origem hemolítica (diminuição do volume globular – menor do que 32%, praticamente sem alteração da taxa de hemoglobina); leucocitose com neutrofilia e linfocitose, hipofibrinogenemia (menor que 400mg/dl), aumento da atividade enzimática da CK (creatinaquinase), AST (aspartato aminotransminase) durante os diferentes estágios do protocolo de imunização. Semelhante alteração hematológica também fora observada por DICKISON et al (1996) em casos de envenenamento crotálico em eqüinos. Porém, nos animais submetidos ao processo de hiperimunização com antígenos das mesmas serpentes (ANGULO et al, 1997a) não se observaram alterações sistêmicas típicas de um envenenamento crotálico como: hemorragias; coagulopatias; choque vascular e falência renal, consideradas como alterações típicas e referidas em acidentes crotálicos em humanos (AMORIM e MELO, (1952); McCOLLOUGH e GENARO (1966); AZEVEDO e MARQUES (1987)). Em procedimentos para produção de plasma hiperimune antiveneno de serpentes *Botrops asper*, *Crotalus durissus durissus* e *Lachesis muta stenophrys*, ÂNGULO et al (1997a) relataram apenas alterações no local da inoculação: edema, abscessos, fístulas e fibrose. Na opinião dos referidos pesquisadores, alterações observadas após as inoculações de 9mg e 18mg do antígeno de veneno crotálico, certamente, foram reflexo da lesão muscular (especialmente lesão da musculatura esquelética) da região das inoculações, entretanto a presença da peçonha botrópica, introduziu no processo, uma toxina com capacidade para determinar necrose tecidual.

COSTA<sup>E</sup> et al (1989 apud THOMAZINI e BARRAVIEIRA, 1994) observaram leucopenia em ratos após 30 minutos da inoculação do veneno crotálico, seguido de intensa leucocitose com neutrofilia.

---

<sup>E</sup> COSTA, P.I. GARCIA DE LIMA, E. LAURE, C.J. Rattlesnake venom: Action upon erythrocytes and leucocytes of rats. *Acta Physiol. Pharmacol. Latinoam.*, 39: 359-373, 1989.

Segundo ROSENFELD (1971), envenenamentos determinados por acidentes ofídicos causados por serpentes do gênero *Crotalus* promoveram apenas em 31% dos casos (9/29 pacientes do Hospital Vital Brasil do Instituto Butantan) ocorriam hemorragias.

Complementando os relatos clínicos de casos de acidentes ofídicos em humanos, VITAL BRASIL (1980), afirmou que o veneno crotálico possuía maior potencial de toxicidade em relação a outros venenos de serpentes, determinando hemólise e hemoglobinemia, bem como, conseqüentemente hemoglobinúria. Além do mais, demonstrou a ação neurotóxica do veneno crotálico no cão e no homem, e por apresentar reduzida atividade proteolítica, não provocaria hemorragias. Ressaltou ainda, VITAL BRASIL, (1980) neste trabalho, que uma das principais ações deletérias do veneno crotálico era a ação hemolítica, determinada pela crotoxina, fração tóxica maior dessa peçonha.

ESTRADA et al (1991), observaram em pesquisa realizada com 8 cavalos saudáveis, machos e fêmeas, que metade destes animais apresentava pequeno decréscimo no teor de hemoglobina e do volume globular. Após a reposição da massa de células suspensas em solução salina fisiológica no equino hiperimunizado (plasmaferese) não detectaram aumento significativo do volume globular. O processo foi utilizado para que houvesse recuperação dos equinos doadores, antes de realizar-se outra sangria de produção. Alguns desses animais desenvolveram lesão tecidual no local da inoculação do veneno, caracterizada por edema e fibrose, que raramente desenvolviam abscessos ou originavam fístulas. Essas lesões originavam-se da ativa ação miotóxica das toxinas crotálicas e conseqüentes hemorragias localizadas. O tratamento local dessas lesões com anti-sépticos resultava em evolução favorável das lesões e suas cicatrizações.

A utilização da plasmaferese, segundo ESTRADA et al (1991) desse procedimento possibilitou a diminuição da extensão das alterações hemodinâmicas causadas por sangria de grande magnitude. Realmente, na avaliação dos resultados verificou-se, também que a infusão de solução salina compensava o déficit de fluido e eletrólitos determinados pela depleção do plasma hiperimune, bem como atuou na prevenção de hemoconcentração, pois os mencionados pesquisadores não observaram sinais de desidratação, como também não foram notadas manifestações sistêmicas como hipotensão, hemorragias e choque nos eqüinos produtores de plasma hiperimune utilizados nesta pesquisa.

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

Com a finalidade de estudar o hemograma de eqüinos produtores de soro hiperimune anticrotálico do Instituto Butantan e avaliar o efeito da plasmaferese após as sangrias de produção, foram utilizados 20 animais sadios, mantidos na Fazenda São Joaquim, em São Roque -SP em condições ideais de manejo, Desses eqüinos foram colhidas 340 amostras de sangue, segundo o protocolo de hipersensibilização anti-crotálico do Instituto Butantan, delineado no Quadro 1.

**Quadro 1** - Protocolo de hipersensibilização de eqüinos com veneno crotálico, utilizando animais mantidos na Fazenda São Joaquim – Instituto Butantan, São Roque –SP

<b>Dia</b>	<b>Procedimento</b>
01	Inoculação do antígeno (veneno crotálico)
15	Inoculação do antígeno (veneno crotálico)
22	Inoculação do antígeno (veneno crotálico)
26	Inoculação do antígeno (veneno crotálico)
32	Inoculação do antígeno (veneno crotálico)
39	Sangria Exploratória
41	1ª Sangria de Produção
43	2ª Sangria de Produção e Plasmaferese
46	3ª Sangria de Produção e Plasmaferese

Preparo do antígeno – O antígeno utilizado na hiperimunização dos eqüinos foi preparado pela mistura do veneno de três subespécies do gênero *Crotalus* : *Crotalus durissus durissus*, *Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus durissus cascavella*. A mistura era dissolvida em solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, esterilizada e filtrada em membrana com malha de 0,22mm<sup>2</sup>.

Inoculação do antígeno crotálico – A primeira inoculação do antígeno era associada à aplicação do adjuvante Freund, nas demais, a associação era feita com a emulsão múltipla – EMC (emulsão de água e óleo estabilizada com substância surfactante, com micobactéria – BCG/Bacilo de Calmete e Guerin).

Aplicação do antígeno crotálico – O antígeno era inoculado, por via subcutânea, na região dorsal, próxima à cernelha, sendo a região previamente lavada com água e sabão, tricotomizada e submetida a ação anti-séptica da solução álcool-iodado a 10%. No sistema de hiperimunização utilizou-se o esquema apresentado no quadro1.

Sangrias pós-hiperimunização com veneno crotálico – Os momentos de sangria: exploratória, para avaliação da produção de anticorpos e 1<sup>a</sup>., 2<sup>a</sup>. e 3<sup>a</sup>. sangrias de produção, foram realizadas, respectivamente, 39; 41; 43 e 46 dias após o início do processo de produção de soro eqüino hiperimune anti-veneno crotálico. Após as duas últimas sangrias de produção, realizava-se a plasmaferese, ou seja, a reinjeção da fração globular, ressuspendida em 2 litros de salina fisiológica, na corrente circulatória do próprio animal soro produtor.

Colheitas de amostras de sangue para avaliação das condições hematológicas dos eqüinos soro produtores - As colheitas dessas amostras de sangue foram realizadas em momentos determinados pelo delineamento experimental do projeto de pesquisa e detalhadas em item específico desta dissertação.

As colheitas foram efetuadas durante as primeiras horas do dia, antes e/ou depois de cada procedimento descrito no protocolo de hipersensibilização, com será detalhado neste capítulo. As amostras de sangue, devidamente acondicionadas, eram transportadas para o Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sendo examinadas no mesmo dia.

#### **4.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS**

Animais - Na presente pesquisa foram utilizados 20 eqüinos sorodadores, machos, sem raça definida, com peso médio de 400Kg, idade variando de 5 a 15 anos, considerados clinicamente sadios e aptos para submeterem ao processo de hiperimunização para produção de soro anti-crotálico.



Os eqüinos assim definidos constituíram um grupo do protocolo de produção de plasma hiperimune anti-crotálico (antiveneno de serpentes do gênero *Crotalus* sp), sendo mantidos tanto na fase pré-experimental quanto no momento da hipersensibilização e nas fases de colheita de produção, bem como o período de recuperação, na Fazenda São Joaquim, do Instituto Butantan, situada no município de São Roque - Estado de São Paulo.

#### **4.1.1 IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS**

Os animais selecionados foram identificados por número, marcados do lado direito da garupa, com nitrogênio líquido ou ferro quente, para melhor visualização de tais marcações, recebendo as numerações: 17; 26; 33; 47; 49; 100; 116; 128; 140; 153; 162; 166; 217; 220; 257; 270; 285; 305; 315; 317.

#### **4.1.2 COLHEITA DA AMOSTRA DE SANGUE PARA AVALIAÇÃO DO QUADRO HEMÁTICO**

Após assepsia local, as amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular externa com a utilização do sistema vacutainer<sup>2</sup> (agulhas 25 X 8 mm e tubos de vidro siliconizados para colheita a vácuo, com capacidade de 5,0 ml, contendo como anticoagulante EDTA (ácido etileno diamido tetracético a 15%). Essas amostras, imediatamente após a colheita eram cuidadosamente homogeneizadas e a seguir armazenadas num recipiente refrigerado próprio para transporte. Nesse momento, para a realização das determinações dos teores sangüíneos das bilirrubinas e do ferro, fazia-se outra colheita de sangue em frasco estéril, descontaminado para minerais (tubos de vidro siliconizados para colheita de

---

<sup>2</sup> Sistema vacutainer – Becton Dickinson

amostras de sangue a vácuo, com capacidade para 10ml) para obtenção de soro sanguíneo. Após a coagulação do sangue, o soro era separado por centrifugação a 300rpm, durante 10 minutos. A dosagem das bilirrubinas foi realizada imediatamente após a obtenção do soro e as determinações da conservação sérica de ferro após conservação da amostra congeladas, durante no máximo 30 dias.

No momento da colheita, com sangue “in natura” distendiam-se em lâminas de vidro dois esfregaços sangüíneos, secos imediatamente e identificados para posterior fixação e coloração, reservando-as para a contagem diferencial dos leucócitos.

As amostras assim colhidas, acondicionadas em recipiente refrigerado e encaminhado ao Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, onde foram manipuladas, examinadas ou adequadamente conservadas para posteriores análises laboratoriais.

#### **4.1.3 MOMENTO DAS COLHEITAS**

Cada momento de colheita de sangue dos eqüinos submetidos ao protocolo de hiperimunização para produção de soro anti-crotálico, foi considerado um momento (ou grupo experimental), cujos resultados foram avaliados comparativamente durante o desenvolvimento dos procedimentos da pesquisa e na apresentação dos resultados. As colheitas, obedecido o protocolo de hiperimunização, foram feitas, segundo o delineamento proposto no Quadro 2.

**QUADRO 2 – Caracterização dos momentos (grupos experimentais), utilizados para delinear a oportunidade das colheitas das amostras de sangue.**

Momentos	Fase do protocolo	Amostra		Observações
		Sangue total	Soro	
1 a 5	Seleção dos animais	X	X	Antes das inoculações do antígeno (veneno crotálico)
6	Sangria exploratória	X	X	Antes da sangria exploratória
7 e 8	1ª Sangria de produção	X	X	- antes e depois da 1ª. sangria de produção, respectivamente;
9, 10 e 11	2ª Sangria de Produção e 1ª. plasmaferese	X	X	- antes e depois da 2ª. sangria de produção e após plasmaferese, respectivamente;
12, 13 e 14	3ª Sangria de Produção e 2ª.plasmaferese	X	X	- antes e depois da 3ª. sangria de produção e após a plasmaferese, respectivamente;
15	Fase de Recuperação do equino	X	X	- 15 dias após a última sangria de produção;
16		X	X	- 30 dias após a última sangria de produção;
17		X	X	- 45 dias após a última sangria de produção;
Nº de animais	20	20	20	-
Nº de momentos	17	17	17	-

## Especificações dos momentos de colheitas das amostras de sangue

- **Momentos 1 a 5** - As colheitas das amostras de sangue foram feitas nos eqüinos selecionados para produção de plasma hiperimmune ocorrendo antes da **inoculação do antígeno** (veneno), visando observar as variações dos parâmetros hematológicos.
- **Momento 6** - As colheitas de amostras de sangue foram feitas antes da **sangria exploratória**, que visava avaliar o desenvolvimento do processo de hiperimunização, quantificando os anticorpos plasmáticos. Os resultados hematológicos objetivaram avaliar as variações do quadro hemático nessa fase da hiperimunização;
- **Momentos 7 e 8** - As colheitas de amostras de sangue foram realizadas antes e depois da **1ª. sangria de produção**, respectivamente, visando observar as variações dos parâmetros hematológicos examinados até o momento e aquelas conseqüentes à sangria de até 2% de sangue do animal.
- **Momentos 9, 10 e 11** - As colheitas de amostras de sangue foram realizadas antes e depois da **2ª. sangria de produção**, e após a **1ª.plasmaferese**, respectivamente, visando observar as variações dos parâmetros hematológicos examinados até o momento após sangria e a influência da plasmaferese sobre a recuperação hematopoiética.

- **Momentos 12,13 e 14** - As colheitas de amostras de sangue foram realizadas antes e depois da **3ª. sangria de produção**, e após a **2ª.plasmaferese**, respectivamente, visando observar as variações dos parâmetros hematológicos examinados até o momento após sangria e a influência da plasmaferese sobre a recuperação hematopoiética.
  
- **Momentos 15, 16 e 17** - As colheitas de amostras de sangue foram realizadas 15, 30 e 45 dias após a última sangria de produção, objetivaram determinar e avaliar a recuperação hematopoiética dos equinos utilizados na produção de plasma hiperimune anti-crotálico.

#### **4.2 METODOLOGIA HEMATOLÓGICA SELECIONADA**

Análises hematológicas das amostras de sangue colhidas durante o desenvolvimento desta pesquisa foram realizadas nos Laboratórios de Pesquisa do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo – USP/CUASO (Campus Universitário Armando Salles de Oliveira – São Paulo –SP), obedecendo aos padrões de excelência aí determinados.

#### 4.2.1. TÉCNICAS HEMATOLÓGICAS PARA DETERMINAÇÃO DE HEMOGRAMA

As amostras de sangue colhidas dos eqüinos da fazenda São Joaquim – Instituto Butantan, submetidas ao protocolo de hiperimunização anti-crotálico, foram submetidas a exames laboratoriais para determinação de hemograma completo constituído de duas séries clássicas para avaliação do quadro hemático dos animais, ou seja, estabelecimento do **eritrograma** - contagem do número de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, determinação de volume globular e índices hematimétricos absolutos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração corpuscular média (CHCM) e determinação de **leucograma** – contagem global e diferencial dos leucócitos.

##### 4.2.1.1 - Eritrograma

**A - Contagem do número de eritrócitos** - A contagem do número de eritrócitos foi realizada utilizando-se o “**Animal blood counter**” – ABC VET<sup>3</sup>, cujo princípio de contagem está fundamentado na variação de impedância, gerada pela passagem de hemácias através de micro-orifício calibrado. Para tanto, a amostra de sangue será previamente diluída em solução eletrolítica específica condutora de corrente elétrica, ressalta-se que a condutividade elétrica desse diluente difere significativamente da não-condutividade elétrica das células sangüíneas. No procedimento da técnica, a suspensão era aspirada pelo micro-orifício calibrado, possuindo o equipamento dois eletrodos, colocados ao lado do orifício e a corrente elétrica ao passar pelo orifício, determinando o aumento da resistência elétrica

---

<sup>3</sup> ABC-VET- ABX Diagnostics

(impedância) entre os dois eletrodos, sendo tal aumento diretamente proporcional ao volume das células examinadas. A ocorrida diferença de impedância caracteriza o registro de um impulso correspondente a célula contada. Os resultados das contagens de hemácias foram expressos em milhões de células por milímetro cúbico ( $10^6/\text{mm}^3$ ). (MANUAL TÉCNICO – ABC-VET, 2002)

**B - Dosagem de hemoglobina** - A dosagem de hemoglobina foi determinada pelo sistema “**Animal blood counter**”- ABC VET<sup>3</sup>, obedecendo a programação recomendada pelas normas do equipamento, apresentando as seguintes fases:

a) no processo de determinação da hemoglobina, inicialmente avaliava a calibração do aparelho, com dupla determinação em padrão de hemoglobina, caso a diferença entre essas medidas iniciais fossem exageradas, realizava-se a terceira determinação;

b) cada ciclo de provas de dosagem de hemoglobina em branco era realizado apenas com o reativo, comparando o resultado com o das análises da prova em branco de hemoglobina previamente executadas;

c) a seguir, aos 3,04ml da diluição inicial - 1/300 da amostra de sangue, utilizada no sistema para contagem do número de hemácias, acrescenta-se 0,56 ml do reativo hemolisante; assim a hemoglobina era liberada pela lise das hemácias, estabilizando-se pela formação de um composto cromogêneo, sem cianeto;

e) a cor desenvolvida nesta reação, era então avaliada por espectrofotometria com componente óptico (equipamento localizado atrás da câmara de contagem de células sangüíneas), com comprimento de onda de 550nm;

---

<sup>3</sup> ABC-VET- ABX Diagnostics

f) O resultado da dosagem de hemoglobina da amostra de sangue era, então, expressa em g/dl. (MANUAL TÉCNICO – ABC-VET® ,2002).

**C – Determinação do volume globular e volume corpuscular médio –** O volume globular foi determinado utilizando o sistema do “**Animal blood counter**” – ABC VET<sup>3</sup>, cujo princípio físico baseia-se na amplitude do impulso gerado pela passagem das células pelo micro orifício, sendo a magnitude dessa amplitude, diretamente proporcional ao volume da células analisadas. A partir do estabelecimento do volume corpuscular das hemácias, o valor do volume globular era como uma função da integração numérica do VCM. O resultado do volume globular foi expresso em número relativo, ou seja, em percentagem (%). O volume corpuscular médio foi expresso em *fl* (fentolítro). (MANUAL TÉCNICO – ABC-VET, 2002)

**D – Índices hematimétricos absolutos** - A exceção do VCM – volume corpuscular médio (expresso em fentolítros – *fl*), que foi determinado automaticamente pelo sistema “**Animal blood counter**” – ABC VET<sup>3</sup>, como mencionado anteriormente, os demais índices hematimétricos (HCM – Hemoglobina corpuscular média e CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média) foram calculados como recomendou BIRGEL (1982), a partir dos valores determinados para o número de hemácias, teor de hemoglobina e do volume globular. Para tanto utilizaram-se as seguintes fórmulas matemáticas:

---

<sup>3</sup> ABC-VET- ABX Diagnostics



$$\text{HCM} = \frac{\text{teor de hemoglobina X 10}}{\text{número de hemácias}} \quad (\text{Valor expresso em picogramas – pg})$$

$$\text{CHCM} = \frac{\text{teor de hemoglobina X 100}}{\text{volume globular}} \quad (\text{Valor expresso em percentagem - \%})$$

#### 4.2.1.2 - Leucograma

**A - Contagem do número total de leucócitos** - A contagem do número total de leucócitos foi feita com o uso do “**Animal blood counter**” – ABC VET<sup>3</sup>, cujo princípio baseia-se na variação de impedância, gerada pela passagem destas células através do micro-orifício calibrado. As amostras de sangue devem ser previamente suspensas em solução eletrolítica específica e condutora de corrente. A suspensão a seguir era aspirada através do micro-orifício calibrado, com dois eletrodos colocados ao seu lado. A corrente elétrica passando através do referido orifício aumenta a resistência elétrica (impedância) entre os dois eletrodos. O aumento varia proporcionalmente na dependência do volume das células que ultrapassar o orifício, sendo o resultado expresso em milhares de células por milímetro cúbico ( $10^3/\text{mm}^3$ ) (MANUAL TÉCNICO – ABC-VET, 2002).

**B - Contagem diferencial dos leucócitos** - As contagens diferenciais dos leucócitos das amostras do sangue dos eqüinos que constituíram os grupos experimentais foram feitas em esfregaços distendidos com sangue “in natura”, em lâminas de vidro lapidadas que após adequada identificação, eram fixados e corados com o corante de Rosenfeld, utilizando a seguinte técnica:

---

<sup>3</sup> ABC-VET- ABX Diagnostics

a) fixação do esfregaço, recobrimo-o com 1 ml do corante durante 1-3 minutos;

b) para a coloração das células, acrescentava-se 2ml de água bidestilada, recentemente fervida, homogeneizando a mistura, variava-se o tempo de coloração entre 10 e 13 minutos, na dependência do número de células do esfregaço e das características e envelhecimento da solução do corante Rosenfeld (0,97g de Giensa em pó, 0,53g de May Gruwald e metanol q.a.p 1 litro);

c) a seguir, o esfregaço era lavado com água bidestilada, deixando-se escorrer o excesso e quando necessário, secava-se o esfregaço entre lâminas de papel de filtro;

d) após a perfeita secagem do esfregaço, ele era examinado em microscópio de campo claro, com objetiva de Imersão, com cerca de 800X.

A diferenciação dos leucócitos deu-se pela identificação de 100 células, sendo os resultados expressos tanto em valores relativos (%) como em valores absolutos ( $\times 10^3 / \text{mm}^3$ ). (BIRGEL, 1982).

#### **4.2.2. Técnicas Bioquímicas para dosagens de ferro e de bilirrubinas no soro sangüíneo**

**A - Dosagem de ferro** - O ferro foi analisado por método colorimétrico utilizando-se **Analisador bioquímico automático LIASYS<sup>5</sup>** e reativos específicos para dosagem de ferro<sup>6</sup>. Na realização desse método colorimétrico promovia-se uma reação onde íon  $\text{Fe}^{+++}$  (forma férrica) se reduzia a  $\text{Fe}^{++}$  (forma ferrosa) pela ação de

---

<sup>5</sup> Liasys- MAS- Analyser Medical Sistem

<sup>6</sup> Reativo para dosagem de ferro –Raichem- Division of Hemagen Diagnostics

agente redutor do reativo (solução de hidroxilamina). Após completar-se essa redução, o íon ferroso reagirá com um agente complexante (ferene), sendo esta uma reação com desenvolvimento de cor e a intensidade da coloração é diretamente proporcional à concentração de ferro da amostra. O resultado será quantificado e expresso em mg/dl. A metodologia desse procedimento bioquímica permitiu também, a avaliação da capacidade total de ligação do ferro com a transferrina sérica (CTLF ou segundo abreviação do idioma inglês – TIBC – total iron binding capacity), que é expressa em mg/dl, praticamente essa CTF é considerada como sendo a fração transferrina.

**B - Dosagem de Bilirrubina** - A dosagem das bilirrubinas foi realizada com o uso de reativos específicos para dosagem de Bilirrubina<sup>7</sup>, baseados no método colorimétrico direto (Jendrassik-Grof) para a determinação das Bilirrubinas direta e total, em sangue e outros líquidos biológicos.

O fundamento do Método pode ser assim caracterizado: a bilirrubina reage, especificamente com o ácido sulfanílico diazotado, produzindo um pigmento vermelho (azobilirrubina) cuja intensidade de cor é avaliada por espectrofotometria com 530 nm (nanômetros) de comprimento de onda. A bilirrubina conjugada (direta) reage diretamente com o diazoreativo e sua avaliação é imediata, mas para se determinar a reação de toda a bilirrubina presente na amostra emprega-se um revelador aquoso de benzoato de cafeína, permitindo a determinação da bilirrubina total. Por diferença, obtem-se a concentração sérica da bilirrubina de reação indireta. Os resultados, tanto da bilirrubina total e suas frações de reação direta ou indireta, foram expressos em mg/dl.

---

<sup>7</sup> Reativo para dosagem de bilirrubina – CELM-nº 1721

### 4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O cálculo dos valores da média aritmética, do desvio-padrão e a variação dos resultados obtidos para os parâmetros hematológicos avaliados nesta pesquisa, bem como para realizar os testes estatísticos, comparando as médias obtidas nos grupos experimentais, foram determinados utilizando o programa de computador S.A.S – Statistical Analysis System (S.A.S. – Institute, 1985).

Inicialmente, na avaliação das variáveis estudadas, os resultados foram submetidos a análise de variância, e os contrastes entre médias determinadas pelo teste de Duncan, ambos com níveis de significância igual ou menor a 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## 5 RESULTADOS

Os resultados obtidos em 340 amostras de sangue ou de soro, colhidas de 20 eqüinos, sem raça definida, criados na Fazenda São Joaquim, pertencente ao Instituto Butantan, na região de São Roque – SP, para avaliação do hemograma e bilirrubinas e sideremia de eqüinos soroprodutores, durante o processo de hiperimunização com veneno crotálico e eficácia da plasmaferese, foram apresentados em 4 tabelas e 21 figuras, sendo os resultados individualizados, apresentados em 17 tabelas do anexo.

Como foi anteriormente ressaltado, os resultados foram distribuídos em 4 tabelas procurando facilitar a leitura e a interpretação dos mesmos: na tabela 1 foram distribuídos os valores médios e desvios padrões dos constituintes do eritrograma (número de hemácias, volume globular e hemoglobina); na tabela 2 apresentaram-se os valores médios e desvios padrões dos índices hematimétricos absolutos (volume corpuscular médio - VCM; hemoglobina corpuscular média - HCM e concentração de hemoglobina corpuscular média - CHCM; na tabela 3 foram dispostos os valores médios e desvios padrões dos constituintes do leucograma dos eqüinos dos vários grupos experimentais, destacando-se o número de leucócitos e constituintes do diferencial de leucócitos e a distribuição dos tipos de leucócitos diferenciados no exame dos esfregaços sangüíneos em polimorfonucleares neutrófilos (bastonetes e segmentados); polimorfonucleares eosinófilos e basófilos; mononucleares linfócitos, destacando o número total destas células e as diferenciando em linfócitos pequenos, grandes e atípicos e; monócitos e; por fim, na tabela 4, foram detalhados os valores médios e desvios padrões dos teores de ferro, transferrina, e bilirrubinas – total e de reações direta e indireta.

Além das tabelas, os valores das variáveis avaliadas e detectadas no transcurso do delineamento experimental foram distribuídas em gráficos, evidenciando por si só, a explicação do desempenho durante processo de hiperimunização estudado.

**Tabela 1:** Valores médios e desvio padrão dos constituintes do eritrograma de equinos produtores de soro anticrotálico, segundo momentos do processo de hiperimunização (fases de hiperimunização, de sangrias de produção, da plasmaferese e de recuperação), SÃO PAULO – SP, 2005.

Fases do processo de hiperimunização		Inoculação do antígeno					Sangrias					Sangrias e plasmafereses				Recuperação		
Elementos do Eritrograma	Momentos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
n° de hemácias (x10 <sup>6</sup> mm <sup>3</sup> )	m	10,19 <sup>ab</sup>	9,33 <sup>cd</sup>	9,62 <sup>bcd</sup>	9,49 <sup>cd</sup>	9,61 <sup>bcd</sup>	9,35 <sup>de</sup>	9,14 <sup>def</sup>	8,63 <sup>fg</sup>	7,45 <sup>i</sup>	7,10 <sup>i</sup>	8,19 <sup>gh</sup>	7,64 <sup>hi</sup>	7,33 <sup>i</sup>	8,06 <sup>gh</sup>	8,83 <sup>ef</sup>	10,07 <sup>abc</sup>	10,35 <sup>a</sup>
	s	±0,19	±0,26	±0,17	±0,21	±0,24	±0,18	±0,15	±0,20	±0,22	±0,20	±0,23	±0,22	±0,19	±0,21	±0,19	±0,19	±0,17
Volume globular (%)	m	46,1 <sup>a</sup>	41,7 <sup>b</sup>	42,4 <sup>b</sup>	42,2 <sup>b</sup>	41,9 <sup>b</sup>	40,8 <sup>bc</sup>	40,2 <sup>bc</sup>	38,1 <sup>c</sup>	32,0 <sup>e</sup>	30,6 <sup>e</sup>	35,5 <sup>d</sup>	33,1 <sup>de</sup>	31,7 <sup>e</sup>	35,0 <sup>d</sup>	40,8 <sup>bc</sup>	46,7 <sup>a</sup>	47,6 <sup>a</sup>
	s	±0,76	±1,18	±0,62	±0,93	±0,90	±0,75	±0,74	±1,10	±0,97	±0,90	±1,21	±0,98	±0,99	±1,15	±0,79	±0,79	±0,62
Hemoglobina (g/dl)	m	16,55 <sup>a</sup>	15,27 <sup>bcd</sup>	15,18 <sup>bcd</sup>	15,32 <sup>bcd</sup>	14,92 <sup>cd</sup>	15,58 <sup>bc</sup>	15,16 <sup>bcd</sup>	14,48 <sup>de</sup>	12,55 <sup>gh</sup>	11,99 <sup>h</sup>	13,75 <sup>ef</sup>	13,24 <sup>fg</sup>	12,42 <sup>gh</sup>	13,48 <sup>f</sup>	15,51 <sup>bc</sup>	15,64 <sup>bc</sup>	16,05 <sup>ab</sup>
	s	±0,30	±0,41	±0,23	±0,30	±0,29	±0,29	±0,25	±0,28	±0,32	±0,30	±0,36	±0,39	±0,32	±0,32	±0,32	±0,26	±0,63

m – média; s – desvio padrão; valores com letras diferentes, na linha, apresentam diferença estatisticamente significativa (p≤0,05);

Os momentos de colheita (fases do processo de hiperimunização) foram assim distribuídos:

- 1 a 5 - colheitas de amostra de sangue e soro antes de cada inoculação do antígeno crotálico;
- 6 - colheitas de amostra de sangue e soro antes da sangria exploratória;
- 7 e 8 - colheitas de amostra de sangue e soro antes e depois da 1<sup>a</sup>.sangria de produção;
- 9, 10 e 11 - colheitas de amostra de sangue e soro, respectivamente antes e depois da 2<sup>a</sup>. sangria de produção e após a plasmaferese;
- 12, 13 e 14 - colheitas de amostra de sangue e soro respectivamente antes e depois da 3<sup>a</sup>. sangria de produção e após a plasmaferese;
- 15, 16 e 17 - colheitas de amostras de sangue e soro 15, 30 e 45 dias após a 3<sup>a</sup>.Sangria de produção e 2<sup>a</sup>.plasmaferese (período de recuperação dos animais).

**Tabela 2:** Valores médios e desvio padrão dos índices hematimétricos absolutos (VCM, HCM e CHCM) de eqüinos produtores de soro anticrotálico, segundo os momentos do processo de hiperimunização (fases de hiperimunização, de sangrias de produção, da plasmaferese e de recuperação), São Paulo – SP, 2005.

Fases do processo de hiperimunização		Inoculação do antígeno					Sangrias					Sangrias e plasmafereses				Recuperação		
Elementos do Eritograma	momentos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
		VCM (fl)	m	44,15 <sup>c</sup>	44,75 <sup>abc</sup>	44,20 <sup>c</sup>	44,45 <sup>bc</sup>	43,80 <sup>c</sup>	43,65 <sup>c</sup>	44,15 <sup>c</sup>	44,30 <sup>c</sup>	43,35 <sup>c</sup>	43,20 <sup>c</sup>	43,30 <sup>c</sup>	43,45 <sup>c</sup>	43,30 <sup>c</sup>	43,35 <sup>c</sup>	46,20 <sup>ab</sup>
	s	±0,81	±0,64	±0,61	±0,60	±0,57	±0,58	±0,66	±0,63	±0,60	±0,62	±0,62	±0,58	±0,61	±0,66	±0,48	±0,40	±0,40
HCM (pg)	m	15,80 <sup>ef</sup>	16,40 <sup>cde</sup>	15,81 <sup>ef</sup>	16,16 <sup>def</sup>	15,60 <sup>f</sup>	16,69 <sup>bcd</sup>	16,60 <sup>cd</sup>	16,85 <sup>bcd</sup>	16,91 <sup>bc</sup>	16,98 <sup>abc</sup>	16,83 <sup>bcd</sup>	17,36 <sup>ab</sup>	16,98 <sup>abc</sup>	16,81 <sup>bcd</sup>	17,60 <sup>a</sup>	15,55 <sup>f</sup>	15,55 <sup>f</sup>
	s	±0,18	±0,21	±0,18	±0,15	±0,21	±0,22	±0,18	±0,23	±0,24	±0,27	±0,23	±0,29	±0,23	±0,25	±0,24	±0,15	±0,19
CHCM (%)	m	35,91 <sup>de</sup>	36,64 <sup>cde</sup>	35,81 <sup>de</sup>	36,39 <sup>cde</sup>	35,67 <sup>e</sup>	38,30 <sup>abc</sup>	37,84 <sup>bcd</sup>	38,29 <sup>abc</sup>	39,23 <sup>ab</sup>	39,45 <sup>ab</sup>	39,01 <sup>ab</sup>	40,16 <sup>a</sup>	39,43 <sup>ab</sup>	38,94 <sup>ab</sup>	38,04 <sup>abc</sup>	33,42 <sup>f</sup>	33,73 <sup>f</sup>
	s	±0,34	±0,24	±0,41	±0,31	±0,36	±0,72	±0,78	±0,84	±0,92	±0,89	±0,88	±1,00	±0,91	±0,90	±0,22	±0,15	±0,29

VCM – Volume Corpuscular Médio, HCM – Hemoglobina Corpuscular Média, CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; m – média; s – desvio padrão; valores com letras diferentes, na linha, apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ). Os momentos de colheita (fases da do processo de hiperimunização) foram distribuídos como definido na tabela 1.



**Tabela 3:** Valores médios e desvio padrão, expressos em milhares ( $10^3$ ) por  $\text{mm}^3$ , dos constituintes do leucograma de equinos produtores de soro anticrotálico, segundo os momentos de colheita do processo de hiperimunização (fases de hiperimunização, de sangrias de produção, da plasmaferese e de recuperação), São Paulo – SP, 2005.

Fase do processo de hiperimunização		Inoculação do antígeno					Sangria					Sangrias e plasmaferese				Recuperação		
Elementos do Leucograma	Momentos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
		n° de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	12,13 <sup>abc</sup>	11,87 <sup>abc</sup>	13,36 <sup>ab</sup>	13,72 <sup>a</sup>	12,32 <sup>abc</sup>	12,92 <sup>abc</sup>	13,48 <sup>ab</sup>	12,37 <sup>abc</sup>	13,67 <sup>a</sup>	11,84 <sup>abc</sup>	12,51 <sup>abc</sup>	12,74 <sup>abc</sup>	11,17 <sup>abc</sup>	11,04 <sup>abc</sup>	10,34 <sup>c</sup>
	s	±0,55	±0,83	±0,74	±0,66	±0,67	±0,80	±0,94	±0,90	±0,99	±0,97	±0,89	±0,78	±0,78	±0,96	±0,54	±0,80	±0,45
N. Bast. ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	0,05 <sup>ab</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,05 <sup>ab</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,05 <sup>ab</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,05 <sup>ab</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,05 <sup>ab</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>
	s	±0,05	±0,82	±0,05	±0,0	±0,05	±0,0	±0,0	±0,0	±0,0	±0,0	±0,05	±0,0	±0,0	±0,05	±0,0	±0,0	±0,0
N. seg. ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	5,82 <sup>abc</sup>	5,95 <sup>abc</sup>	6,86 <sup>abc</sup>	7,77 <sup>a</sup>	6,17 <sup>abc</sup>	6,72 <sup>abc</sup>	6,64 <sup>abc</sup>	6,87 <sup>abc</sup>	7,09 <sup>ab</sup>	6,57 <sup>abc</sup>	7,35 <sup>a</sup>	6,89 <sup>abc</sup>	6,42 <sup>abc</sup>	6,15 <sup>abc</sup>	4,74 <sup>c</sup>	5,08 <sup>bc</sup>	4,71 <sup>c</sup>
	s	±0,43	±0,76	±0,58	±0,60	±0,56	±0,63	±0,74	±0,83	±0,80	±0,86	±0,79	±0,62	±0,67	±0,75	±0,36	±0,49	±0,27
Eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	0,39 <sup>b</sup>	0,30 <sup>b</sup>	0,31 <sup>b</sup>	0,30 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,27 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,24 <sup>b</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,27 <sup>b</sup>	0,19 <sup>b</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,25 <sup>b</sup>	0,28 <sup>b</sup>
	s	±0,05	±0,04	±0,05	±0,04	±0,03	±0,04	±0,32	±0,04	±0,04	±0,03	±0,04	±0,05	±0,04	±0,03	±0,04	±0,05	±0,03
Basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	0,06 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>
	s	±0,02	±0,02	±0,02	±0,02	±0,02	±0,02	±0,03	±0,01	±0,03	±0,02	±0,01	±0,01	±0,02	±0,02	±0,01	±0,02	±0,02
L. peq. ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	4,43 <sup>a</sup>	4,36 <sup>a</sup>	4,70 <sup>a</sup>	4,08 <sup>abc</sup>	4,54 <sup>a</sup>	4,69 <sup>a</sup>	4,60 <sup>a</sup>	4,05 <sup>abc</sup>	4,72 <sup>a</sup>	4,88 <sup>abc</sup>	3,40 <sup>bc</sup>	3,97 <sup>abc</sup>	3,26 <sup>c</sup>	3,38 <sup>bc</sup>	4,25 <sup>ab</sup>	4,44 <sup>a</sup>	4,49 <sup>a</sup>
	s	±0,24	±0,29	±0,25	±0,32	±0,26	±0,23	±0,45	±0,21	±0,21	±0,26	±0,24	±0,23	±0,29	±0,24	±0,24	±0,26	±0,29
L. Gde ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	0,97 <sup>a</sup>	0,62 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,73 <sup>a</sup>	0,63 <sup>a</sup>	0,88 <sup>a</sup>	0,61 <sup>a</sup>	0,91 <sup>a</sup>	0,55 <sup>a</sup>	0,72 <sup>a</sup>	0,96 <sup>a</sup>	0,66 <sup>a</sup>	0,57 <sup>a</sup>	0,72 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,85 <sup>a</sup>
	s	±0,14	±0,12	±0,13	±0,11	±0,13	±0,12	±0,18	±0,14	±0,15	±0,11	±0,09	±0,13	±0,12	±0,11	±0,07	±0,13	±0,12
L. Atípico ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	0,25 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,32 <sup>a</sup>
	s	±0,04	±0,05	±0,04	±0,07	±0,06	±0,09	±0,05	±0,07	±0,06	±0,07	±0,07	±0,06	±0,04	±0,10	±0,05	±0,11	±0,08
L. Totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	5,66 <sup>abc</sup>	5,26 <sup>abcd</sup>	5,81 <sup>ab</sup>	5,23 <sup>abcd</sup>	5,58 <sup>abc</sup>	5,63 <sup>abc</sup>	5,76 <sup>ab</sup>	4,92 <sup>bcde</sup>	5,96 <sup>a</sup>	5,71 <sup>cde</sup>	4,50 <sup>de</sup>	5,21 <sup>abcd</sup>	4,17 <sup>e</sup>	4,37 <sup>de</sup>	5,17 <sup>abcd</sup>	5,51 <sup>abc</sup>	5,67 <sup>abc</sup>
	s	±0,28	±0,33	±0,29	±0,31	±0,27	±0,31	±0,37	±0,28	±0,23	±0,31	±0,27	±0,28	±0,26	±0,31	±0,26	±0,37	±0,27
Monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	m	0,19 <sup>abc</sup>	0,13 <sup>abc</sup>	0,15 <sup>abc</sup>	0,22 <sup>a</sup>	0,15 <sup>abc</sup>	0,19 <sup>abc</sup>	0,20 <sup>ab</sup>	0,16 <sup>abc</sup>	0,15 <sup>abc</sup>	0,14 <sup>abc</sup>	0,21 <sup>ab</sup>	0,17 <sup>abc</sup>	0,12 <sup>abc</sup>	0,14 <sup>abc</sup>	0,09 <sup>c</sup>	0,16 <sup>abc</sup>	0,10 <sup>bc</sup>
	s	±0,04	±0,03	±0,03	±0,03	±0,02	±0,04	±0,04	±0,02	±0,03	±0,04	±0,04	±0,03	±0,01	±0,03	±0,02	±0,03	±0,02

m – média; s – desvio-padrão; N. Bast – neutrófilos bastonetes; N. seg – neutrófilos segmentados; L. peq. – linfócitos pequenos; L. Gde – linfócitos grandes; L. Atípicos – Linfócitos atípicos; L. Totais - Linfócitos Totais; valores com letras diferentes, na linha, apresentam diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) Obs: Os momentos de colheita de sangue e soro foram definidos na tabela 1.

**Tabela 4:** Valores médios e desvio padrão dos valores de ferro, transferrina, bilirrubinas total (BT), direta (BD) e indireta (BI) do soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro anticrotálico, segundo momentos do processo de hiperimunização (fases de hiperimunização, de sangrias de produção, da plasmaferese e de recuperação), São Paulo – SP, 2005.

Fases do processo de hiperimunização		Inoculação do antígeno					Sangria					Sangria e plasmaferese				Recuperação		
Elementos do Eritrograma	momentos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
		Ferro (mg/dl)	m s	202,59 <sup>a</sup> ±36,07	120,04 <sup>cde</sup> ±12,17	156,0 <sup>abcde</sup> ±25,54	127,21 <sup>bcde</sup> ±8,20	113,33 <sup>de</sup> ±7,49	101,03 <sup>e</sup> ±8,99	179,07 <sup>abcd</sup> ±36,08	122,32 <sup>cde</sup> ±13,81	132,9 <sup>abcde</sup> ±18,66	196,52 <sup>ab</sup> ±26,75	146,1 <sup>abcde</sup> ±16,77	136,6 <sup>abcde</sup> ±14,45	118,24 <sup>cde</sup> ±12,56	154,3 <sup>abcde</sup> ±37,14	184,1 <sup>abcd</sup> ±19,92
Transferrina (mg/dl)	m s	188,68 <sup>de</sup> ±20,70	244,68 <sup>cd</sup> ±20,28	151,15 <sup>e</sup> ±24,35	211,47 <sup>cde</sup> ±12,75	226,25 <sup>cde</sup> ±20,66	259,32 <sup>bcd</sup> ±12,56	179,20 <sup>de</sup> ±20,60	223,14 <sup>cde</sup> ±22,92	332,66 <sup>ab</sup> ±36,08	343,46 <sup>a</sup> ±37,51	279,60 <sup>abc</sup> ±35,91	286,52 <sup>abc</sup> ±23,61	285,64 <sup>abc</sup> ±26,18	240,21 <sup>cd</sup> ±19,14	176,38 <sup>de</sup> ±21,63	226,49 <sup>cde</sup> ±28,48	256,99 <sup>bcd</sup> ±17,87
BT (mg/dl)	m s	0,76 <sup>b</sup> ±0,06	0,65 <sup>d</sup> ±0,03	0,82 <sup>b</sup> ±0,06	0,85 <sup>b</sup> ±0,06	0,89 <sup>a</sup> ±0,08	1,07 <sup>a</sup> ±0,07	0,90 <sup>b</sup> ±0,06	0,85 <sup>b</sup> ±0,07	0,77 <sup>b</sup> ±0,09	0,65 <sup>b</sup> ±0,06	0,73 <sup>b</sup> ±0,06	1,07 <sup>a</sup> ±0,08	1,09 <sup>a</sup> ±0,07	0,92 <sup>b</sup> ±0,06	0,78 <sup>b</sup> ±0,05	0,89 <sup>b</sup> ±0,06	0,79 <sup>b</sup> ±0,05
BD (mg/dl)	m s	0,11 <sup>b</sup> ±0,02	0,10 <sup>b</sup> ±0,01	0,11 <sup>b</sup> ±0,01	0,17 <sup>b</sup> ±0,02	0,16 <sup>b</sup> ±0,02	0,15 <sup>b</sup> ±0,02	0,14 <sup>b</sup> ±0,04	0,16 <sup>b</sup> ±0,02	0,14 <sup>b</sup> ±0,02	0,15 <sup>b</sup> ±0,02	0,14 <sup>b</sup> ±0,02	0,20 <sup>a</sup> ±0,05	0,16 <sup>b</sup> ±0,01	0,18 <sup>b</sup> ±0,05	0,17 <sup>b</sup> ±0,02	0,12 <sup>b</sup> ±0,01	0,12 <sup>b</sup> ±0,01
BI (mg/dl)	m s	0,18 <sup>a</sup> ±0,04	0,18 <sup>a</sup> ±0,05	0,24 <sup>a</sup> ±0,07	0,22 <sup>a</sup> ±0,06	0,37 <sup>a</sup> ±0,11	0,42 <sup>a</sup> ±0,12	0,41 <sup>a</sup> ±0,12	0,37 <sup>a</sup> ±0,11	0,32 <sup>a</sup> ±0,10	0,28 <sup>a</sup> ±0,09	0,33 <sup>a</sup> ±0,10	0,40 <sup>a</sup> ±0,12	0,41 <sup>a</sup> ±0,12	0,34 <sup>a</sup> ±0,09	0,23 <sup>a</sup> ±0,06	0,33 <sup>a</sup> ±0,10	0,27 <sup>a</sup> ±0,07

m – média; s – desvio-padrão; BT – Bilirrubina Total; BD – Bilirrubina Direta; BI – Bilirrubina Indireta; valores médios com letras diferentes, na linha, apresentam diferença estatisticamente significativa (p≤0,05).

Obs: Os momentos de colheita de sangue e soro foram definidos na tabela 1.

### 5.1 Variação do número de hemácias no sangue de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 1 e figura 1 assim como a interpretação da análise estatística demonstraram que a dinâmica das hemácias na fase de hiperimunização dos animais não ocorreu variações significativas (momentos 1 a 6 – inoculação dos antígenos anti-crotálico). Os momentos representando as fases de sangria de produção (7 ao 10) caracterizaram-se por significativa diminuição do número de hemácias e no momento de sangrias e plasmaferese, o número de hemácias aumentava após a infusão dos elementos figurados do sangue dos eqüinos produtores do soro hiperimmune. Após as sangrias e respectivas plasmaferese – momentos 11 e 14, e no período de recuperação (momentos 15 a 17), houve tendência a recuperação da hematopoiese após 15 dias e plena recuperação após 30 – 45 dias de repouso.

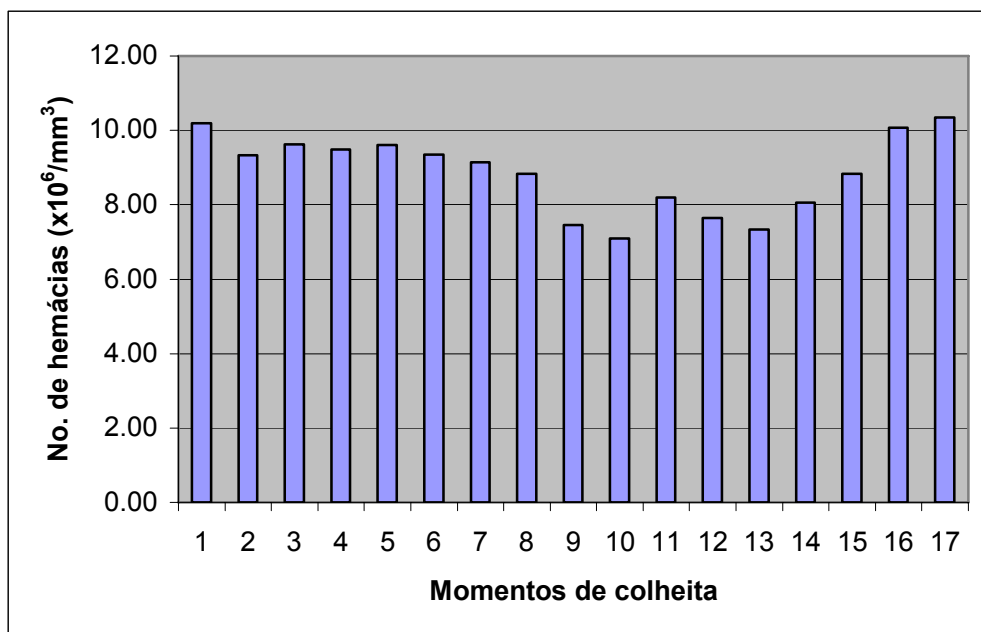


Figura 1 - Variações dos valores médios do número de hemácias no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

## 5.2 Variação do volume globular do sangue de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 1 e figura 2 assim como a interpretação da análise estatística demonstraram que o volume globular apresentou discreta, mas significativa diminuição de seus valores no início da fase de hiperimunização. Fato que se acentuou-se nos momentos de sangria de produção, estabilizando-se com discreta recuperação dos resultados após a plasmaferese (momentos 11 e 14). Houve evidente recuperação do volume globular nos momentos 15 a 17, que correspondeu à fase de recuperação e descanso desses animais.

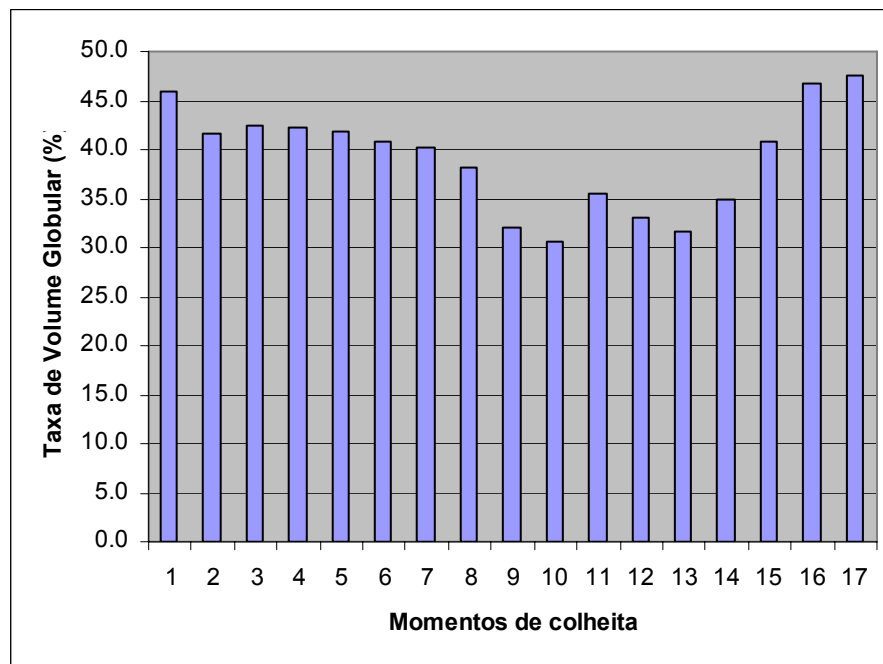


Figura 2: Variações dos valores médios do volume globular no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.3 Variações dos teores de hemoglobina no sangue de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico.

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 1 e configurados na figura 3 assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram discreta diminuição da taxa de hemoglobina durante as fases iniciais da hiperimunização dos animais (momentos 1 a 5); diminuição que acentuou-se na fase de sangrias não seguidas de plasmaferese (momentos 9 e 10). Na fase de sangria seguida de plasmaferese (momentos 11 a 14), observou-se tendência a recuperação dos teores de hemoglobina sangüínea, que tornou-se evidente na fase de recuperação (momentos 15 a 17), e após 45 dias de recuperação, o valor médio de teor de hemoglobina correspondia àqueles obtidos nos animais antes de iniciarem-se os procedimentos de hiperimunização.

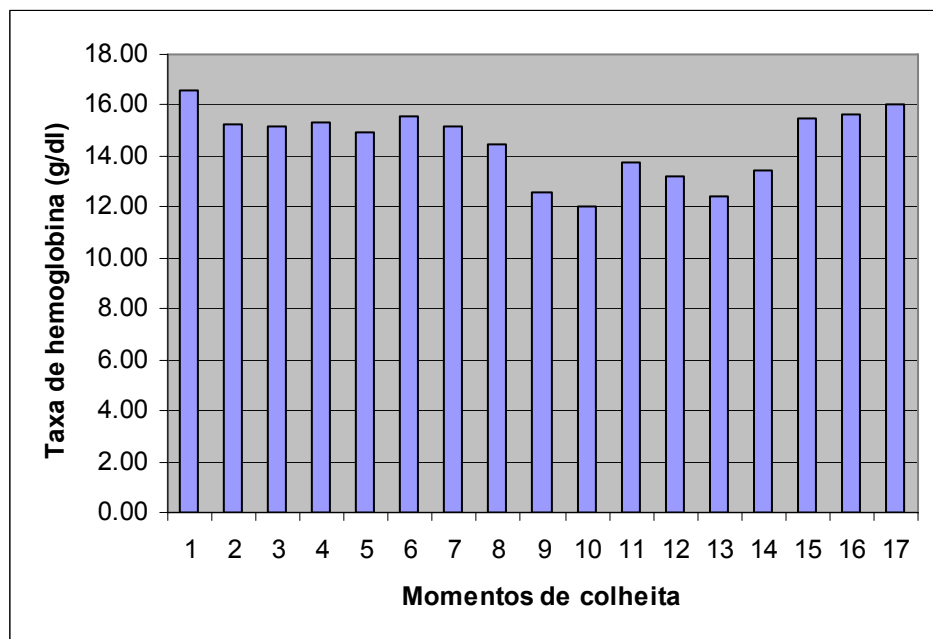


Figura 3: Variações dos valores médios da taxa de hemoglobina no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

#### 5.4 Variações do volume corpuscular médio das hemácias de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 2 e figura 4 assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que os valores do volume corpuscular mantiveram a estabilidade dos resultados durante as várias fases do processo biotecnológico de produção do plasma hiperimune antiveneno crotálico, pois entre os resultados das amostras colhidas nos vários momentos experimentais (1 a 14) não se demonstrou diferenças estatisticamente significativas. Todavia na fase de recuperação dos eqüinos de produção, isto é, a partir do momento 15 até 17, notou-se aumento do volume corpuscular médio com discreta, mas significativa macrocitose.

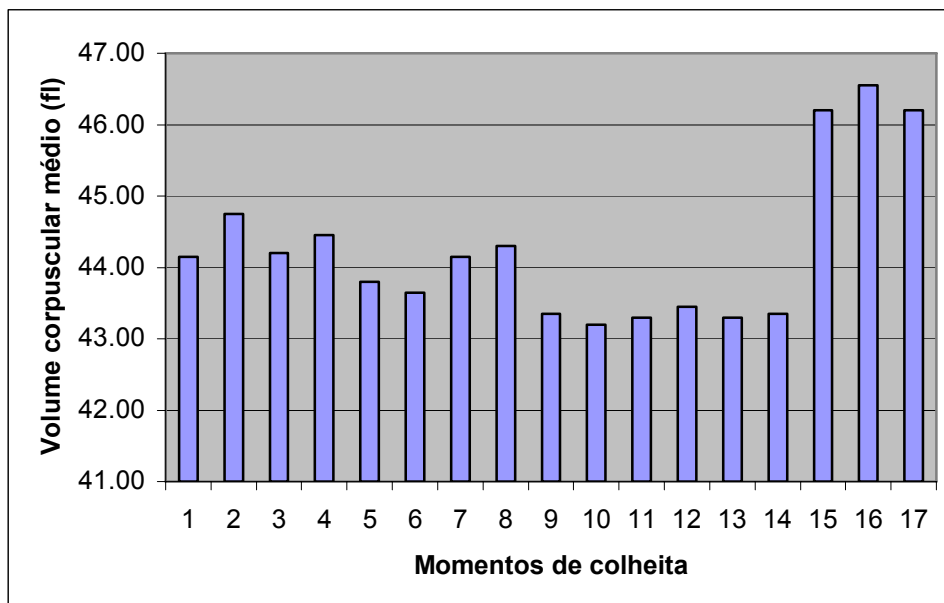


Figura 4: Variações dos valores médios do volume corpuscular médio das hemácias no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.5 Variações do valor de hemoglobina corpuscular média das hemácias de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico.

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 2 e detalhados na figura 5, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que os valores da hemoglobina corpuscular média (HCM) sofreram oscilações de pequena amplitude durante todo o processo de hiperimunização dos animais para produção de soro anticrotálico, observando discretas diminuições e aumentos de seus valores, tendo os maiores valores sido observados entre os momentos 6 e 15. Durante o período de recuperação dos animais a partir de 30 dias pós última plasmaferese (momentos 16 e 17), o valor da HCM se equivalia ao observado antes dos procedimentos de hiperimunização. Além do mais, cabe destacar que nos momentos 12 e 15, correspondentes, respectivamente ao momento que antecedia a 3<sup>a</sup>. sangria de produção e ao que sucedia a 2<sup>a</sup>.plasmaferese, a HCM fora significativamente maior que aqueles obtidos na fase inicial do processo de hiperimunização dos eqüinos.

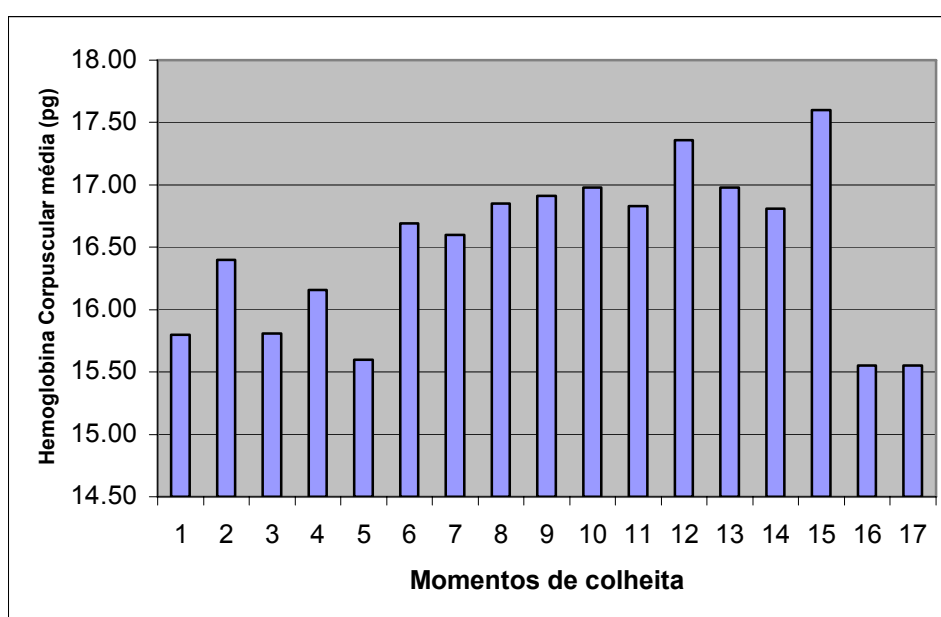


Figura 5: Variações dos valores médios de hemoglobina corpuscular média das hemácias no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

## 5.6 Variações da concentração de Hemoglobina Corpuscular média das hemácias de equinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 2 e configurados na figura 6, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) apresentou discreta, mas significativa oscilação dos resultados durante o processo de hiperimunização e produção de soro anticrotálico, observando-se: significativo aumento da CHCM nos períodos de sangria e plasmaferese (momentos 6 a 14) e diminuição desse valor no período de recuperação dos animais (momentos 16 e 17), caracterizando a ocorrência de hipocromia nas hemácias.

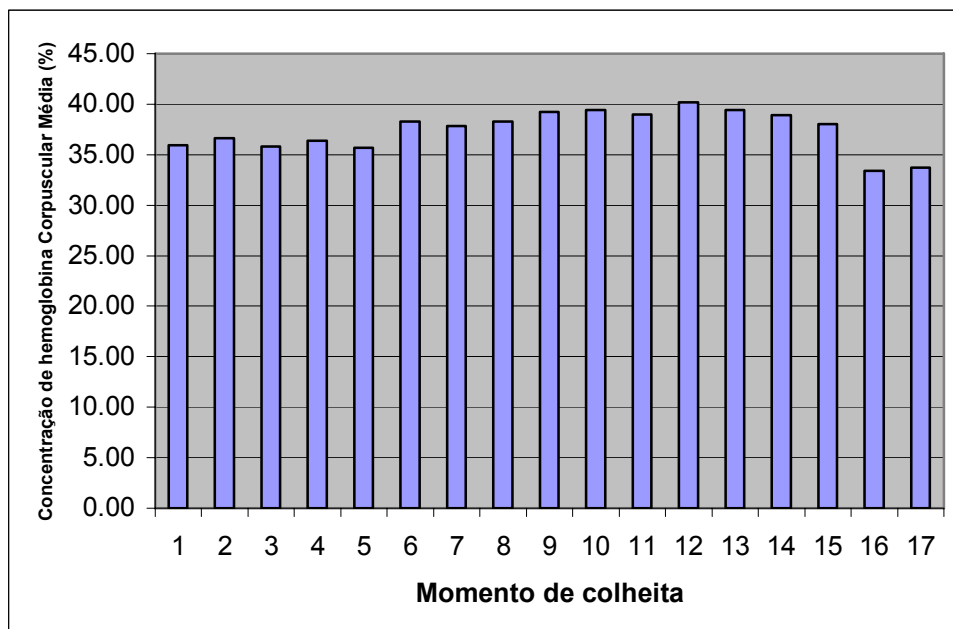


Figura 6: Variações dos valores médios de concentração de hemoglobina corpuscular média nas hemácias no sangue de equinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.



### 5.7 Variações do número de leucócitos de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e figura 7, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram oscilações de pequena amplitude entre as médias obtidas nos diferentes momentos de colheita, e cuja as diferenças foram estatisticamente significativas. Os valores máximos de números de leucócitos foram detectados nos momentos 3 e 4 (final de hiperimunização); 7 e 9 (respectivamente, antes da 1<sup>a</sup>. e 2<sup>a</sup>. sangria de produção) respectivamente 13.360 – 13.720 leucócitos/mm<sup>3</sup> e; 13.480 - 13.670 leucócitos/mm<sup>3</sup>. A partir do momento 10 (momento após a segunda sangria) houve uma tendência a estabilização dos resultados. Porém, na fase de descanso ou recuperação dos animais (momentos 15, 16 e 17), observaram-se os menores valores do número total de leucócitos com diferença significativa em relação aos resultados da fase de inoculação dos antígenos (respectivamente: 10.340 , 11.170 e 10.900 leucócitos/mm<sup>3</sup>).

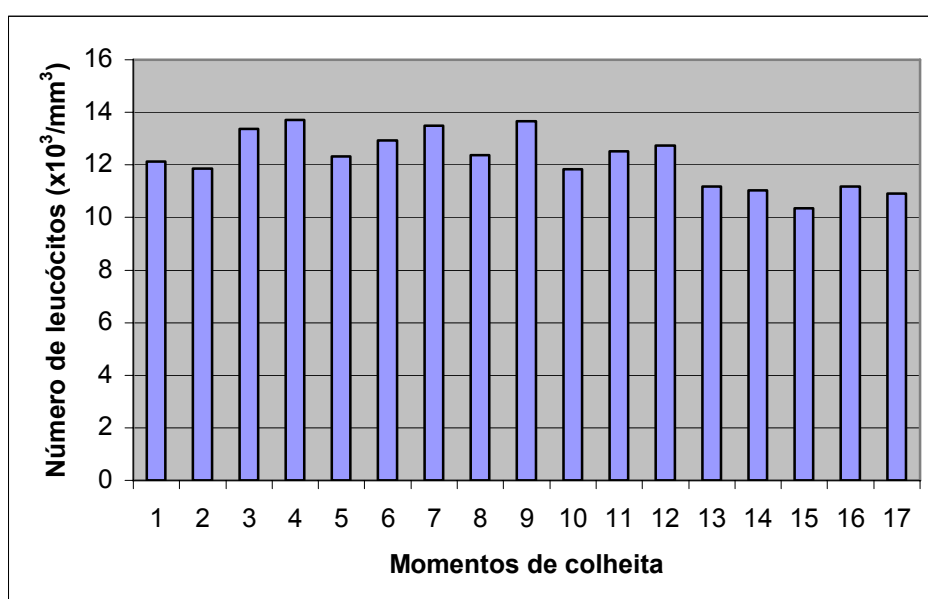


Figura 7: Variações dos valores médios do número total de leucócitos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.8 Variações do número de neutrófilos bastonetes de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e figura 8 assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que a variação do número de neutrófilos com núcleo em bastonetes durante a evolução do processo de produção de soro hiperimmune antiveneno crotálico em eqüinos não caracterizou variações biologicamente significativas.

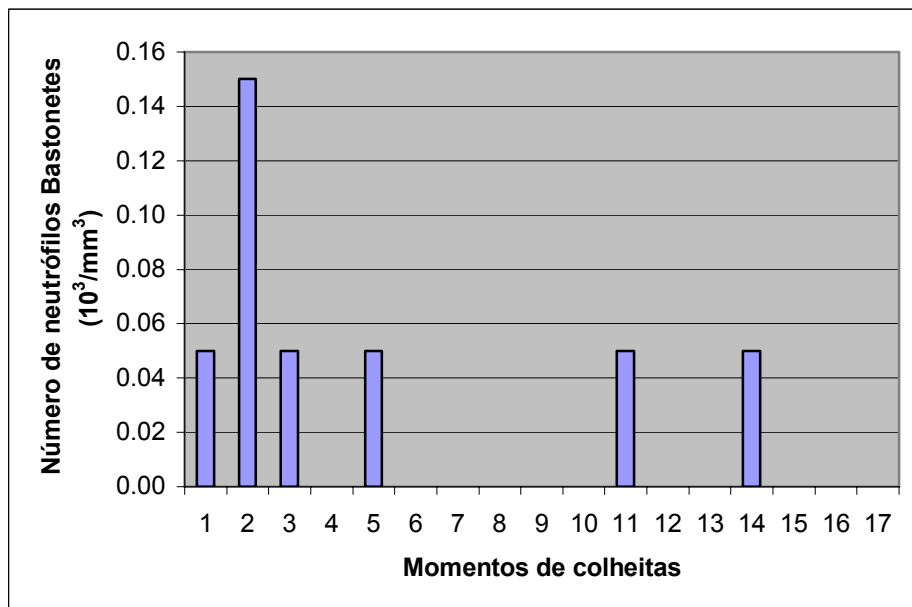


Figura 8: Variações dos valores médios do número de neutrófilos bastonetes no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.9 Variações do número de neutrófilos segmentados de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e figura 9, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que apesar da ocorrência inicial de aumento do número de neutrófilos no momento 4, referente a fase final da hiperimunização dos animais pela inoculação da peçonha crotálica, mas não se caracterizou uma neutrofilia, pois as diferenças não foram estatisticamente significativa, mas observando a dinâmica dos neutrófilos segmentados durante a produção de soro hiperimune anticrotálico, verificou-se oscilação de pequena amplitude durante todo o processo, com pico de curva de variação ao final da fase de hiperimunização (momento 4 – 7.770 neutrófilos por ml de sangue) e valores mínimos na fase de repouso dos animais (momentos 15 e 16, respectivamente 4.740 e 4.710 neutrófilos segmentados por ml de sangue).

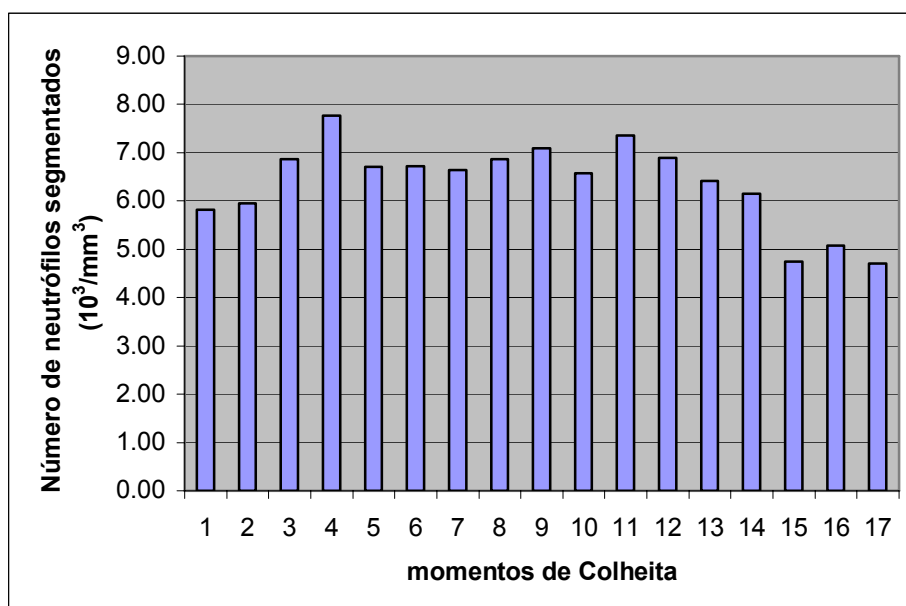


Figura 9: Variações dos valores médios do número total de de neutrófilos segmentados no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.10 Variações do número de eosinófilos de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e figura 10, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que durante todo processo estudado, o número de eosinófilos não apresentou variações estatisticamente significativas, com exceção feita para o resultado médio obtido nas amostras colhidas no momento 7, (referente à colheita realizada anterior a primeira sangria de produção, quando houve significativo aumento do número absoluto de eosinófilos circulantes).

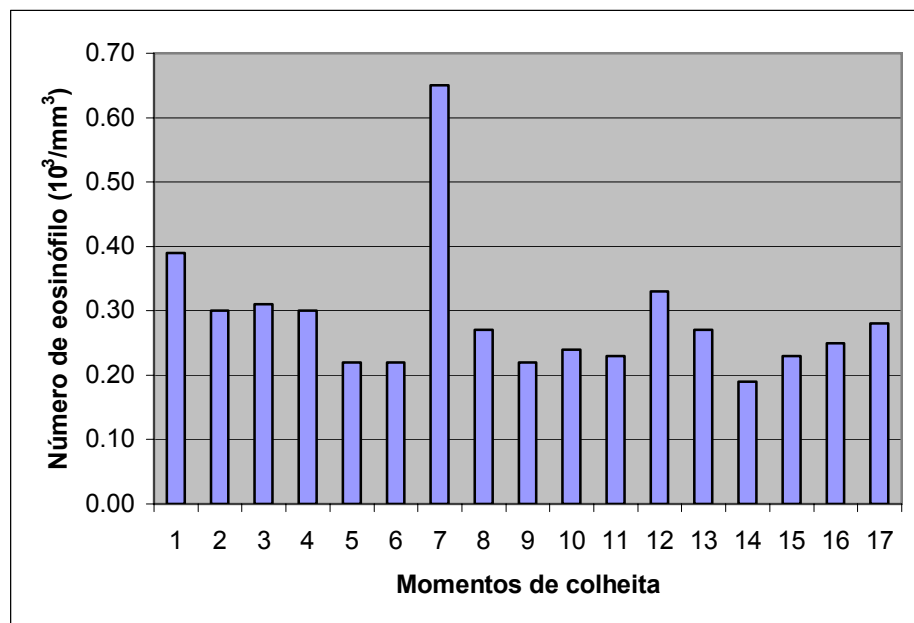


Figura 10: Variações dos valores médios do número de eosinófilos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.11 Variações número de basófilos de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e figura 11, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que as variações dos valores médios do número de polimorfonucleares basófilos obtidos nos vários momentos do processo de produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas; observaram-se oscilações de pequena amplitude não dignos de nota ou significado biológico..

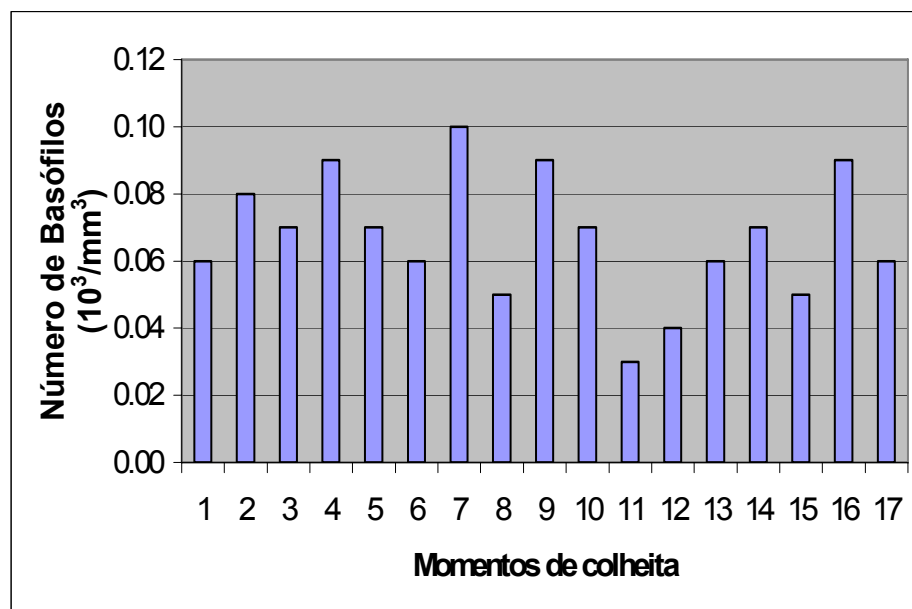


Figura 11: Variações dos valores médios do número de basófilos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.12 Variações número de linfócitos pequenos de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 4 e figura 12, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram ocorrência de oscilações de pequena amplitude durante todo processo de produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, tendo sido maior valor obtido no momento 10 (colheita de amostras após a 2<sup>a</sup>.sangria de produção). Todavia, não se demonstrou haver diferenças significativas com os resultados anteriores. Os valores mínimos foram observados no momento 11 (após a 1<sup>a</sup>. plasmaferese) e 13 e 14 (após a 3<sup>a</sup>.sangria de produção e 2<sup>a</sup>.plasmaferese, respectivamente). Ressalta-se que as diferenças entre esses valores mínimos de linfócitos pequenos, com aqueles obtidos na fase inicial do processo de produção de soro hiperimune anticrotálico foram estatisticamente significativos, no período de repouso dos animais, a partir de 15 dias após a última sangria, os resultados demonstraram recuperação quanto ao número de linfócitos pequenos, em comparação com os resultados do momento 1, quando iniciou-se preparação desses animais para o processo de hiperimunização.

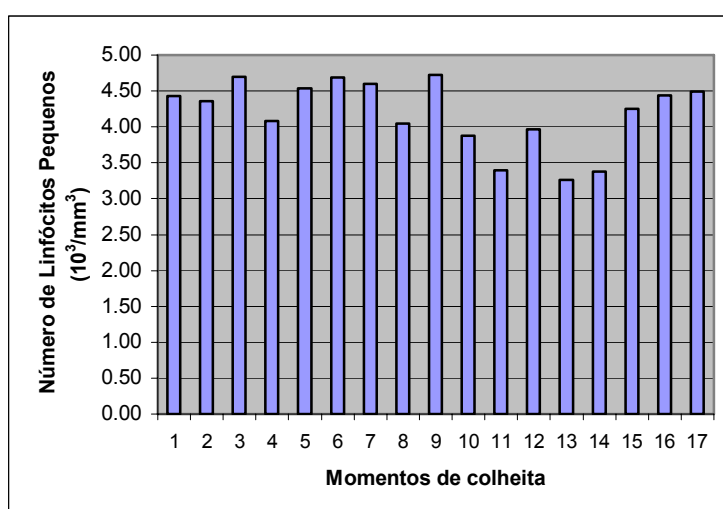


Figura 12: Variações dos valores médios do número de linfócitos pequenos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.13 Variações número de linfócitos grandes de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e figura 13, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que o número de linfócitos grandes não apresentaram variações estatisticamente significativas.

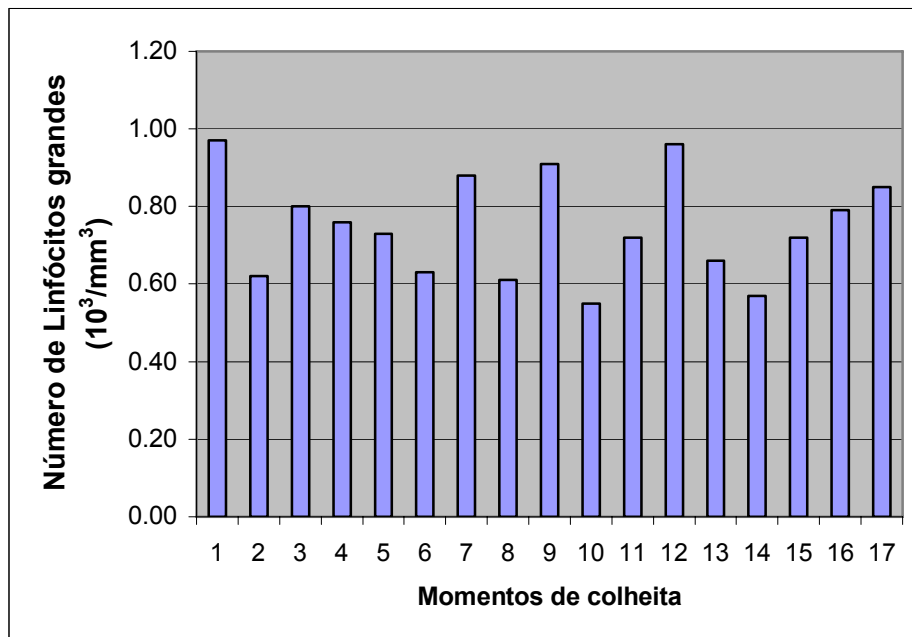


Figura 13: Variações dos valores médios do número total de linfócitos grandes no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

#### 5.14 Variações número de linfócitos atípicos de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e figura 14, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que o número de linfócitos atípicos apresentou oscilações, com pequena amplitude de variação em todos os momentos de colheitas, não sendo as diferenças entre os resultados obtidos estatisticamente significativas.

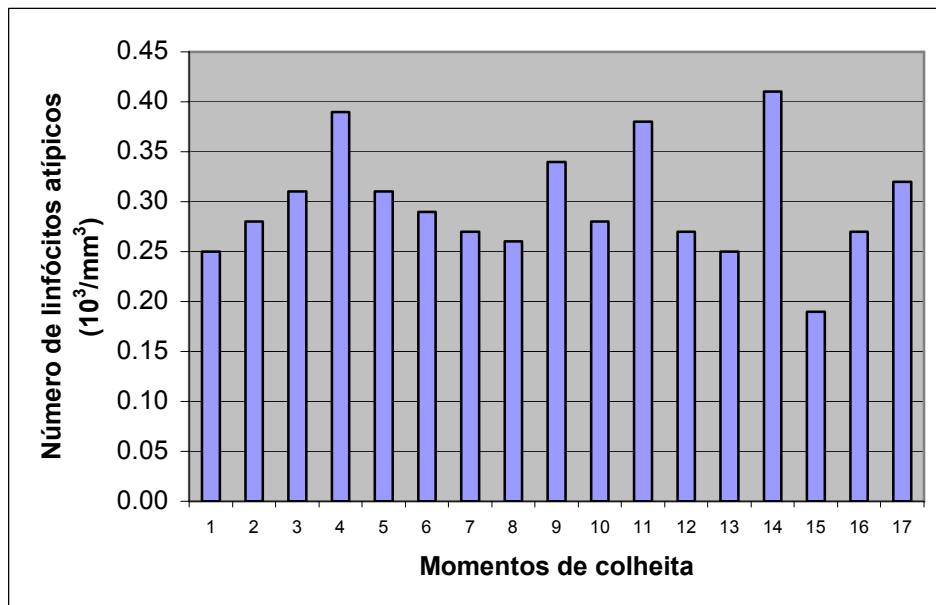


Figura 14: Variações dos valores médios do número de linfócitos atípicos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.



### 5.15 Variações número de linfócitos totais de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e figura 15, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram oscilações de pequena amplitude durante as fases de hiperimunização e inicial das sangrias de produção. Mas, após a 1<sup>a</sup>. plasmaferese observou-se significativa diminuição do número total de linfócitos, persistindo esses valores mínimos, nos momentos 13 e 14: correspondentes às colheitas pós 3<sup>a</sup>.sangria de produção e 2<sup>a</sup>. plasmaferese. Ressalta-se, que nas fases de recuperação, correspondentes aos momentos 15, 16 e 17, referentes as colheitas feitas 15, 30 e 45 dias após encerrarem-se os momentos de sangria de produção e após a última plasmaferese, os valores do número total de linfócitos equivaleram-se aos determinados no início do processo de hiperimunização de eqüinos com veneno crotálico.

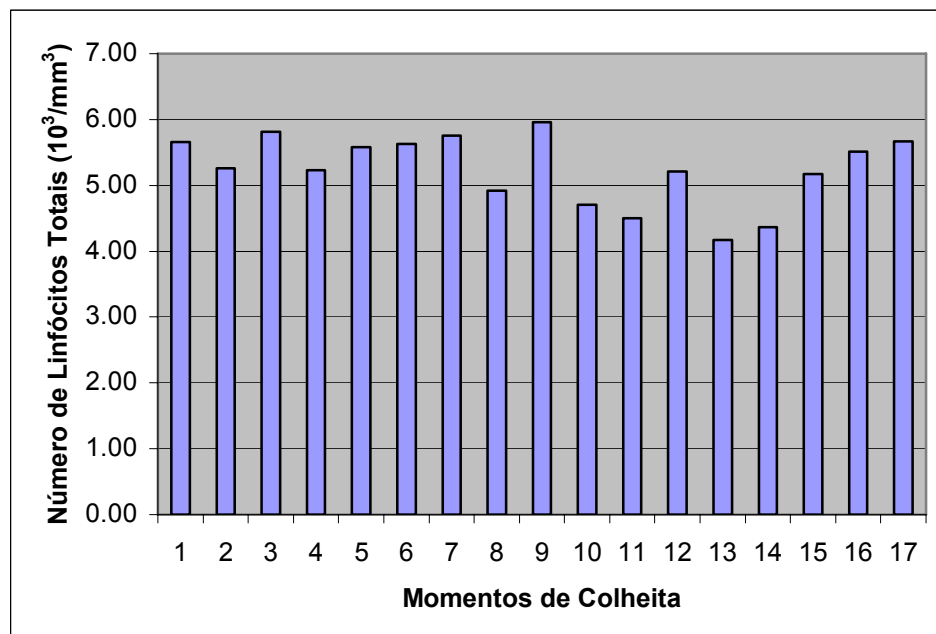


Figura 15: Variações dos valores médios do número de linfócitos totais no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.16 Variações número de monócitos de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e figura 16 assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que os valores de monócitos mostraram oscilação de pequena amplitude. Apesar disso, observou-se diminuição significativa do número de monócitos na fase de recuperação dos eqüinos produtores de soro anticrotálico.

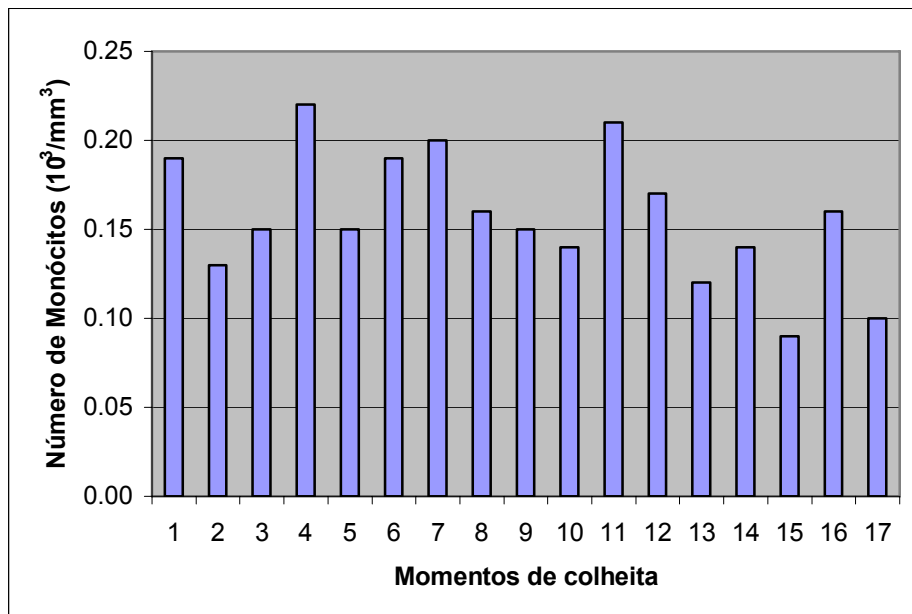


Figura 16: Variações dos valores médios do número de monócitos no sangue de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### **5.17. Variações da concentração de ferro sérico de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico.**

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 3 e distribuídos na figura 17, assim como a interpretação da análise estatística demonstraram que concentração de ferro no soro de eqüinos, utilizados para produção de soro hiperimmune antiveneno crotálico, apresentou inúmeras e significativas variações. Algumas com real importância biológica no processo dessa produção de soro hiperimmune. Na fase de indução da hiperimunização, observou-se significativa e gradativa diminuição dos teores de ferro sérico, atingindo-se o valor mínimo ( $101,03 \pm 8,99$  mg/dl) no momento 6, correspondente aos resultados obtidos nas amostras colhidas antes da sangria exploratória. Após a 1<sup>a</sup>. sangria de produção (momento 8, quando o resultado médio era igual a  $122,32 \pm 13,81$  mg/dl), observou-se aumento continuado e significativo até as colheitas do momento 10 (após a 2<sup>a</sup>.sangria de produção, atingindo-se o valor médio de  $196,52 \pm 26,75$  mg/dl), diminuindo a seguir, com obtenção de valor significativamente menor, antes da 3<sup>a</sup>.sangria de produção, isto no momento 3 ( $118,24 \pm 12,56$  mg/dl). A seguir, a concentração de ferro sérica aumentou gradativamente, estabilizando-se na fase de recuperação dos animais, equivalendo, então, seus valores aos da fase inicial do processo de hiperimunização dos eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico.

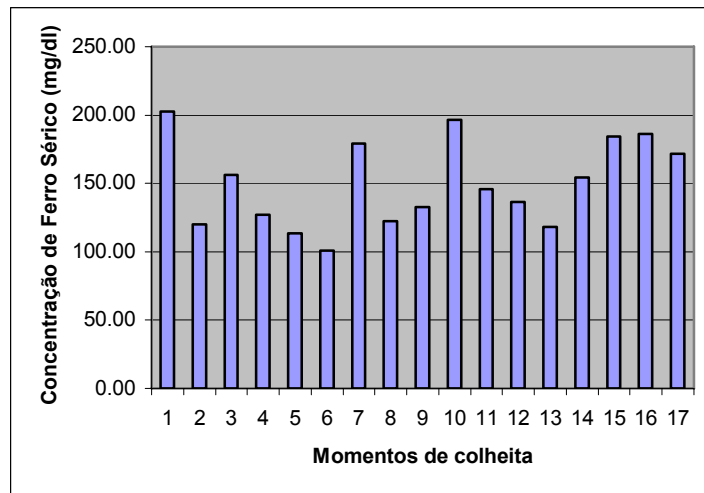


Figura 17: Variações dos valores médios da concentração de ferro do soro sanguíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### **5.18 Variações da concentração de transferrina sérica de eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico.**

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 4 e configurados na figura 18, assim como a interpretação da análise estatística demonstraram um aumento da concentração de transferrina e conseqüentemente da capacitação total de ligação dos íons de ferro. A oscilação inicial foi de pequena amplitude, para a partir do momento 2 da fase de preparação dos animais, para a seguir, durante a hiperimunização apresentar significativa redução dos valores séricos de transferrina, alcançando os valores mínimos no decorrer do processo de produção de soro antiveneno crotálico, no momento 3 ( $151,15 \pm 24,35$  mg/dl). Em seguida, observou-se gradativo e significativo aumento, alcançado no momento 6 (antes da sangria exploratória, valor de  $259,32 \pm 12,56$  mg/dl). Após a pequena oscilação da concentração sérica de transferrina, nos momentos 7 e 8 (antes e depois da 1ª sangria de produção) seguiu-se significativo aumento nos momentos 9 e 10, ou seja, nas amostras colhidas antes e depois da 2ª sangria de produção (respectivamente  $322,66 \pm 36,08$  mg/dl e  $343,46 \pm 37,51$  mg/dl). Esses foram os valores máximos da capacitação de ligação aos íons de ferro, no soro sanguíneo dos eqüinos no processo de hiperimunização para produção de soro antiveneno crotálico. Tanto após as plasmafereses: momentos 11 e 14, as oscilações dos resultados foram de menor magnitude; bem como no período de recuperação dos animais além de oscilações terem sido de pequena magnitude, seus valores equivaleram-se aos iniciais do processo de hiperimunização.

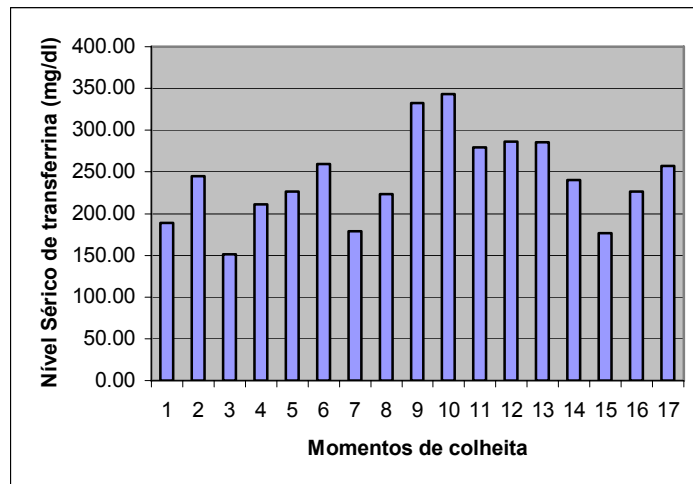


Figura 18: Variações dos valores médios da concentração de transferrina do soro sanguíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

### 5.19 Variações da concentração de bilirrubina total em eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico.

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 4 e distribuídos na figura 19, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que o nível sérico de bilirrubina total apresentou oscilações de pequena magnitude e, as diferenças entre os resultados determinados nas amostras colhidas nos diferentes momentos das quatro fases do processo de produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, não demonstraram diferenças estatisticamente significativas.

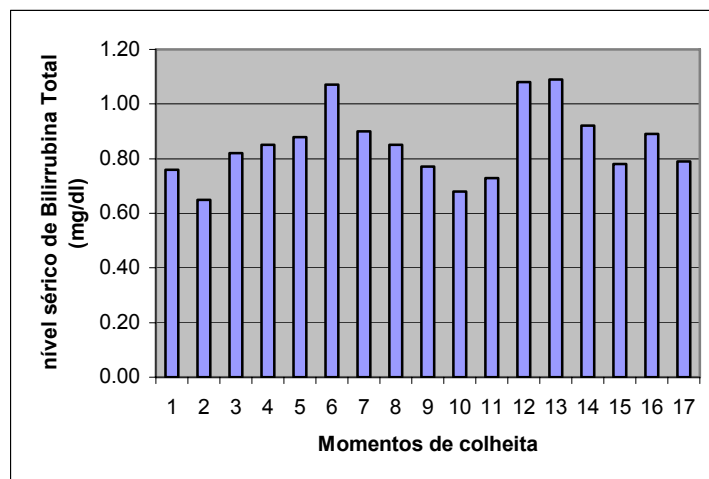


Figura 19: Variações dos valores médios da concentração de bilirrubina total no soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

## 5.20 Variações da concentração de bilirrubina direta em eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 4 e figura 20, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que as variações dos teores médios de bilirrubina de reação direta dos eqüinos submetidos a procedimentos de produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, não demonstraram existência de diferenças estatisticamente significativas. Resultados assemelhados aos observados nas determinações do valoro total de bilirrubina sérica.

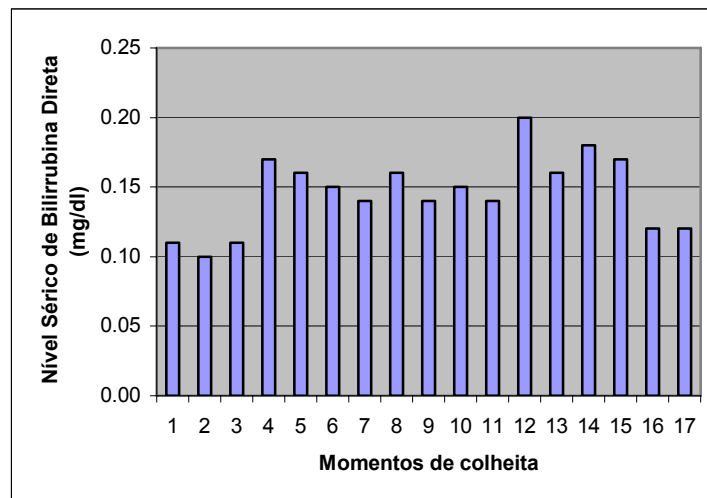


Figura 20: Variações dos valores médios da concentração de bilirrubina direta do soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.



### 5.21 Variações da concentração de bilirrubina indireta em eqüinos submetidos a hiperimunização para produção de soro anticrotálico

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 4 e delineados na figura 21, assim como a interpretação da análise estatística, demonstraram que os teores séricos de bilirrubina indireta não apresentaram variações significativas durante todo o processo biotecnológico de produção de soro hiperimmune antiveneno crotálico estudado.

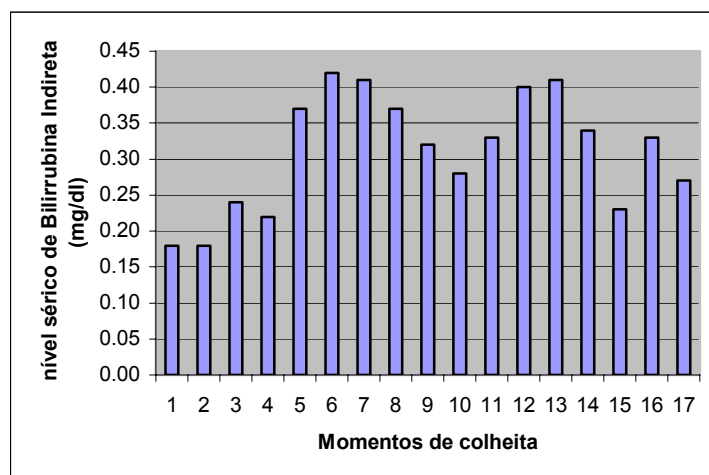


Figura 21: Variações dos valores médios da concentração de bilirrubina indireta do soro sangüíneo de eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico, durante as várias fases de produção. Segundo momentos de colheita definida nas páginas 21 e 22.

## **6. Discussão**

### **6.1. Considerações gerais: reminiscências e a produção**

Nas décadas finais do século XIX, os pesquisadores preocupados com a resolução dos problemas de saúde pública, causados por inúmeras enfermidades, que arruinavam cidades, países e continentes, algumas responsáveis por endemias ou epidemias que dizimavam as populações, resultando em grande morbidade e mortalidade, iniciaram estudos relativos à imunização de animais e utilização de soros hiperimmune no tratamento de doenças infecto-contagiosa de humanos. Isso foi ressaltado em trabalhos pioneiros publicados por ilustres pesquisadores: ROUX e YERSIN, 1888 (apud CHIPPAUX, 1998) neutralizando com soro hiperimmune a toxina diftérica e por BERING e KITASATO, 1890 (apud CHIPPAUX, 1998) confirmando os resultados anteriores, no controle da difteria e, no tratamento do tétano. A seguir, ainda na última década do século XIX, os cientistas passaram a se preocupar com os acidentes causados por animais peçonhentos. Esses acidentes eram relatados principalmente, nas regiões tropicais e subtropicais, onde os neocolonizadores provenientes de países ricos e desenvolvidos social, econômico e cientificamente, viviam e trabalhavam em condições propícias à ocorrência de acidentes ofídicos. Embasado nesses acontecimentos, CALMETE, 1894 (apud CHIPPAUX, 1998) determinou um protocolo de imunização de eqüinos para produção de soro hiperimmune de uso terapêutico no tratamento de acidentes ofídicos, causados por serpentes do continente asiático.

O Brasil não poderia ficar afastado, tanto dos problemas que atingiram a população, repercutindo na Saúde Pública, face a ocorrência de surtos epidêmicos ou endêmicos de peste bubônica, varíola e febre amarela, como também, os

cientistas brasileiros não poderiam se alienar da resolução desses problemas de ordem sanitária, que afligiam as populações das maiores cidades brasileiras. Nessa linha de pensamento caberia destacar, segundo RAW et al (1991) que, coube ao eminente pesquisador Vital Brasil Mineiro da Campanha participar ativamente dos movimentos então desenvolvidos em prol da Saúde Pública em nosso País. Inicialmente, em seu modesto laboratório em São Paulo, produziu o soro hiperimune antibubônico. Mas tendo vivido no interior do Estado – em Botucatu, sensibilizara-se com o grande número de acidentes ofídicos, com significativa mortalidade de pessoas submetidas a tratamentos empíricos e destituídos de valor científicos. Assim sendo, quando por providências do Doutor Emílio Ribas – Diretor dos Serviços Sanitários do Estado, que criando, na Fazenda Butantan, o Instituto Soroterápico, e indicando o Doutor Vital Brasil, para realizar sua instalação, chefia-lo e orientar a preparação do soro antipestoso, assim, deu-se o passo inicial para resolução dos mencionados problemas. A implantação dos Laboratórios do Instituto, permitiu ao ilustre médico brasileiro continuar os estudos com venenos ofídicos das serpentes sul-americanas e suas características imunológicas associada à produção, em eqüinos, de soro terapêutico antiofídico. Além do mais, no evoluir das atividades do Instituto Butantan, o destino lhe destinaria uma posição de fundamental importância para o Ensino da Medicina Veterinária: a instalação do primeiro curso de graduação desta profissão em São Paulo, sediando, na segunda década do século passado, pela reformulação do Instituto de Veterinária, o curso de Medicina Veterinária, no Instituto Butantan, subordinado à secretaria da Agricultura, Comércio e Obras Públicas do Estado de São Paulo (Lei 1965 de 18 de dezembro de 1919 – segundo BIRGEL, 1995), onde, em 1923, na primeira turma do curso de Medicina Veterinária se formaria Gabriel Silvestre Teixeira de Carvalho, que na

década de 50 do século passado, seria designado Magnífico Reitor da Universidade de São Paulo e que fora no período 1938 a 1944, Professor Catedrático Regente da cadeira de Patologia e Clínicas Médicas (2ª cadeira – Animais Poligástricos) (MARTINS,1995). Na Evolução dos tempos, o Instituto Butantan tornou-se responsável pela quase totalidade de soros hiperimunes antivenenos produzidos no Brasil (RAW et al 1991). A partir do final do século passado, a tradicional e excelente tecnologia foi atualizada, face à modernização dos Laboratórios do Instituto, com auxílio do Ministério da Saúde. Com a modernização e adaptações técnicas, à moderna biotecnologia, o Instituto Butantan estabilizou a produção biológica de soros hiperimunes, com melhor aproveitamento e recuperação da saúde dos eqüinos produtores desses imunoterápicos. A produção visou as espécies de serpentes de ocorrência mais freqüente na América do Sul, principalmente dos gêneros *Crotalus* e *Botrops* , responsáveis pela maioria dos acidentes ofídicos em humanos e nos animais domésticos de produção (HARRIS e SIMONS, 1976/77). A bibliografia compulsada realçou a ocorrência de aproximadamente 27.000 acidentes ofídicos em humanos no Brasil, no primeiro triênio da década de 90, do século passado, das quais cerca de 500 causados por serpentes do gênero *Crotalus*, com várias subespécies e diferentes tipos de veneno, causando quadros clínicos graves com variada patogenia, lesões, sintomas e evolução (CORRIGAN et al, 1983; THOMAZINI e BARRAVIEIRA, 1994; MARTINS et al , 1998; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999). A prevalência dos acidentes ofídicos em animais domésticos, principalmente em espécies criadas com fins econômicos, não mereceram semelhantes e acuradas pesquisas, na área de conhecimento da medicina veterinária.

A magnitude do problema de saúde pública, representado pela ocorrência freqüente de acidentes ofídicos no Brasil e, particularmente, no Estado de São Paulo tornou necessário o empenho multidisciplinar dos técnicos do Instituto Butantan para o desenvolvimento de tecnologia própria e adequada para a produção de soros hiperimunes, de excelente qualidade e em quantidade suficiente para o tratamento dos seres humanos acidentados, com excesso suficiente para permitir o uso desses imunoterápicos em animais de produção, que com freqüência são acidentados por picadas de serpentes. Baseados nesses princípios, o Instituto Butantan desenvolveu, no decorrer do tempo, tecnologia de produção de soros hiperimunes em eqüinos, mantidos na Fazenda São Joaquim, em São Roque, no Estado de São Paulo (RAW et al, 1991; MORAIS, 1994); incluindo os conceitos emanados de trabalhos de COX e COULTER, 1997; TIZARD, (1998). Na Fazenda São Joaquim foram mantidos e hiperimunizados com veneno crotálico, os 20 eqüinos utilizados nesta dissertação para realização de estudos a respeito das variações da crase sangüínea no decorrer do processo de hiperimunização para produção de soro hiperimmune antiveneno crotálico, bem como para avaliar as conseqüências das sangrias de produção e das subseqüentes plasmafereses, finalizando com o período de recuperação, preparando-os para serem reutilizados.

A plasmaferese, experimentalmente estudada em coelhos (CANNON et al, 1943), foi padronizada em procedimentos biotecnológicos de terapia de recuperação da deficiência sangüínea de paciente anêmico (LEVINE et al, 1970; GREEN et al, 1974). A seguir, na evolução histórica dos protocolos terapêuticos de doenças auto-imunes ou de inúmeras outras entidades mórbidas, os pesquisadores perceberam, de forma pioneira que a separação das duas fases do sangue de eqüinos hiperimunizados – fração celular e fração plasmática, permitia a retirada da fase

líqüida de sangue, seguida pela reintrodução da fase globular na circulação sangüínea de potros enfermos (anemia hemolítica dos potros causada por iso-eritrocitolise), possibilitando a recuperação da saúde e manutenção da vida dos potros (JONES, 1977). A seguir, a plasmaferese passou a ser utilizada na terapia de mais de 100 doenças de humanos (JONES, 1977; MAGDESIAN et al, 1992; BATGES, 1997).

Mas, na literatura compulsada verificou-se que o estudo pioneiro da plasmaferese em eqüinos produtores de soro hiperimmune antitetânico, antidiftérico e antiofídicos, foi realizado na Índia, na década de 60, do século XX (BHARDWAY et al, 1977). Todavia, em 1949, VAZ e ARAÚJO, responsáveis pela produção de soro hiperimmune, no Instituto Butantan – SP, avaliando as conseqüências da sangria de eqüinos de imunização, estudaram as possibilidades do reaproveitamento dos glóbulos vermelhos após as sangrias de produção, porém, não observaram efeitos benéficos em tal procedimento ao afirmarem: “Poderá ser útil essa prática (plasmaferese)”, no entanto, os dados hematológicos comparativos com e sem reinjeção de glóbulos não refletiram diferenças marcantes e, além do mais, haviam destacado, anteriormente, “de acordo com os dados, podemos verificar que, com o descanso de um mês após a sangria, o cavalo está novamente apto a receber injeções imunizantes, para futuramente, outra vez, ser sangrado”, o que permite inferir-se que a metodologia de reposição da fração globular seria desnecessária.

Apesar de várias pesquisas terem ressaltado os méritos da plasmaferese no processo de recuperação dos eqüinos de produção de soro hiperimmune, os resultados dessas pesquisas, detectaram alguns obstáculos à prática generalizada da referida biotecnologia: alguns relacionados às dificuldades e praticidade dos procedimentos, outros referentes à ocorrência de fatores limitantes relacionados ao

volume de plasma retirados nos procedimentos da sangria de produção e; alguns mais raros, considerando não ser a plasmaferese necessária para a perfeita recuperação do animal soroprodutor (VAZ e ARAUJO, 1949; PHILLIPS et al, 1974; MCVEY et al, 1989; BROOK, 1989; MAGDESIAN et al, 1992; McCLURE et al, 2001).

No desenvolvimento do delineamento experimental proposto nesta dissertação de mestrado, houve plena possibilidade de acompanhar todo o processo de hiperimunização; quando nos eqüinos utilizados pela primeira vez na produção de soro hiperimmune praticamente, não se observou alteração patológica no local da inoculação do veneno crotálico, que recomendasse a interrupção dos procedimentos biotecnológicos. As reações locais verificadas representaram apenas processos inflamatórios circunscritos ao ponto de inoculação do antígeno, raramente, com formação de abscessos e, sem qualquer repercussão clínica sistêmica. Assim sendo, pode-se afirmar que, a severidade das manifestações clínicas locais causadas pela sistemática aplicação dos antígenos, não foi considerada suficiente para recomendar a exclusão de qualquer um dos animais dos grupos experimentais. Por tal razão, as manifestações clínicas observadas não foram detalhadas nesta pesquisa e consideradas integrantes comuns e rotineiras do procedimento de hiperimunização de eqüinos para produção de soro anticrotálico.

Fato a ser ressaltado, relacionou-se ao processo de hiperimunização, pois alguns animais, quando submetidos à primeira fase da metodologia (hiperimunização) não responderam de maneira satisfatória, não apresentando níveis plasmáticos mínimos de anticorpos nas sangrias de avaliação (sangria exploratória). De acordo com o delineamento proposto nesta pesquisa, esses eqüinos foram substituídos na formação dos grupos experimentais e, as razões de

tal ocorrência, bem como a verificação do desenvolvimento desses animais num segundo processo de hiperimunização será motivo de pesquisa seqüencial.

Nas demais fases dos procedimentos de produção de soro hiperimune anticrotálico; sangrias de produção; plasmaferese e fase de recuperação não se percebeu qualquer contratempo na rotina estabelecida e utilizada no setor de produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, que dificultasse a praticidade de sua aplicação ou que recomendasse modificação dos procedimentos.

## **6.2 A fase de hiperimunização de eqüinos produtores de soro hiperimune crotálico**

No delineamento experimental caracterizou-se como fase de hiperimunização, aquela incluindo a seleção dos animais para formarem os grupos experimentais ou, seja, nos momentos de colheita das amostras antes das inoculações do veneno crotálico, associado nas primeiras inoculações ao adjuvante de Freund, segundo estabelecido por protocolo de produção do instituto Butantan (RAW et al, 1991). Todavia face à tendência da formação de reações inflamatórias locais e a possibilidades da ocorrência de abscessos, como afirmou HERBERT (1973), e resposta imunitária de macrófagos nessas primeiras inoculações, como estabeleceu TIZARD (1998), o protocolo recomendou, nas demais inoculações dos antígenos - veneno crotálico, sua associação à EMI – emulsão Múltipla incompleta. Essas medidas produziram eficientes resultados na produção de anticorpos (COX e COULTER, 1997). Realmente, seguindo a orientação do protocolo de produção de plasma hiperimune do Instituto Butantan, os resultados foram satisfatórios, mas no final da fase de hiperimunização, que durou 39 dias, 13 eqüinos do serviço de



produção deste tipo de plasma, não apresentaram títulos de anticorpos antiveneno crotálico suficientes para se submeterem às sangrias de produção. Eles foram substituídos, completando-se por outros eqüinos, o número de animais idealizado no delineamento experimental desta dissertação ou seja, totalizando 20 animais.

## **A - Avaliação do eritrograma**

### **A.1 - Variações do eritrograma durante a fase de hiperimunização de eqüinos produtores de soro hiperimune anticrotálico**

Na fase inicial da hiperimunização, observou-se diminuição do valor dos elementos mensuráveis do eritrograma: número de hemácias, volume globular e taxa de hemoglobina. Entretanto, essas variações não determinaram alterações significativas dos índices hematimétricos absolutos: VCM – volume corpuscular médio; HCM – hemoglobina corpuscular média e CHCM – concentração hemoglobínica corpuscular média. Demonstrou-se assim, na fase de hiperimunização, ocorrência de deficiência eritrocitária, sendo a diminuição dos elementos mensuráveis do eritrograma proporcional, de forma a caracterizar um quadro hipocitêmico, normocítico e normocrômico, isto é, sem alteração dos valores dos índices hematimétricos absolutos. Os resultados assemelharam-se ao referido por VAZ e ARAÚJO (1949) e por ESTRADA et al (1992), que verificaram serem maiores os valores da taxa de hemoglobina e do volume globular antes da imunização dos animais, do que os determinados nos momentos anteriores à sangria de produção. TOMAZINI e BARRAVIEIRA (1994) ao estudarem as alterações hematológicas nos acidentes provocados por animais peçonhentos,

demonstraram na patogênese desses acidentes em humanos causados por serpentes do gênero *Crotalus* do continente norte americano, que as lesões não eram causadas pela coagulação do fibrinogênio e conseqüentes hemorragias por hipofibrinogenemia, mas por ação da fração tóxica proteolítica causadora de lesões necróticas no local do ferimento. Semelhantes características de patogênese e das lesões anatomo-patológicas seriam referidas por DICKINSON et al (1996). Em 32 casos de envenenamento crotálico (cascavel norte-americana – Rattlesnake, no Estado do Colorado – EUA), destacaram ocorrência de aumento de volume no local da mordedura (edema), febre, epistaxis (as lesões iniciais, com a inoculação da peçonha, freqüentemente foram no focinho) e sangramentos, apesar da ocorrência de hiperfibrinogenemia, com aumento da atividade sérica da creatina quinase (CK). Em conseqüência, nas manifestações clínicas apresentadas e anteriormente referidas na evolução do quadro clínico detectava-se a associação de anemia, caracterizada por volume corpuscular menor do que 32%, mas na apresentação dos quadros clínicos, os mencionados pesquisadores não destacaram a identificação da espécie da cascavel, causadora do acidente; todavia pela sintomatologia descrita, poderiam ser considerados como causados por serpentes, do espécies *Crotalus atrox* e *Crotalus molossus molossus* (cascaveis norte-americanas). O veneno das serpentes dessas espécies diferem, pela constituição de suas toxinas, daquele descrito em cascavéis sul-americanas (*Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus durissus cascavella*), possuidoras de peçonha contendo uma fração tóxica de intensa ação coagulante do fibrinogênio plasmático e, determinante de sangramentos por hipofibrinogenemia, sem lesões necróticas nos locais de inoculação do veneno. Assim sendo, os resultados apresentados por DICKINSON et

al (1996) não poderiam servir de base para avaliação crítica dos valores obtidos nesta dissertação com aqueles apresentados no mencionado artigo.

Nas cascavéis sul-americanas, do gênero *Crotalus* e subespécie *durissus* foi descrita fração tóxica, com ação hemorrágica causadora de hemoglobinemia e hemoglobinúria. Em casos de acidentes crotálicos em humanos descreveu-se, tanto a ocorrência de hemoglobinúria oculta, isto é, detectada apenas por exames de urina que pesquisam a ocorrência de sangue oculto ou miohemoglobinúria na urina (ROSENFELD et al, 1960; KELEN et al, 1960; AZEVEDO-MARQUES et al, 1987) como também hemoglobinúria evidente, quando a urina permaneceria translúcida, avermelhada e sem a presença de grande quantidade de hemácias (McCOLLOUGH e GENARO,1960; AMORIM e MELO,1969; VITAL BRASIL,1980). Todavia, ROSENFELD(1971), analisando o quadro clínico de 29 pacientes do Hospital Vital Brasil, do Instituto Butantan – Secretaria da Saúde do estado de São Paulo observou que apenas uma menor parcela (31% - 9/29) dos pacientes de acidentes ofídicos determinados por serpentes do gênero *Crotalus* apresentavam hemorragias.

## **A.2 - Variações do eritrograma durante a fase de sangrias de eqüinos produtores de soro hiperimune anti-veneno crotálico.**

O número de hemácias, volume globular e taxa de hemoglobina apresentaram significativa diminuição na fase de hiperimunização dos eqüinos com o antígeno crotálico, atingindo os valores mínimos dessa fase, momento 6, (antes da sangria exploratória) respectivamente:  $9,35 \pm 0,18$  hemácias/mm<sup>3</sup>;  $40,8 \pm 0,75\%$  e  $15,58$  g/dl, para o número de hemácias, volume globular e teor de hemoglobina.

Após serem colhidas as primeiras amostragens para avaliar a influência das sangrias exploratória, primeira e segunda sangrias de produção, observou-se que os valores mínimos dos elementos mensuráveis do eritrograma, obtidos no momento 10 (depois da segunda sangria de produção) respectivamente:  $7,10 \pm 0,20$  hemácias/mm<sup>3</sup> ;  $30,6 \pm 0,90\%$  e,  $11,99 \pm 0,30$  g/dl. A ocorrência da anemia foi evidenciada de forma categórica nesta fase da produção de soro hiperimune antiveneno crotálico e a diminuição desses valores expressos em termos de números relativos à magnitude do número de hemácias por mm<sup>3</sup> , do volume globular e do teor de hemoglobina foram, respectivamente: 24,1%; 25,0% e 23,0%. O decréscimo, proporcional dos três elementos mensuráveis do eritrograma – número de hemácias, volume globular e taxa de hemoglobina, caracterizaria os casos clínicos de anemias hemolíticas, como as que ocorrem imediatamente após hemorragias com perdas de grandes volumes de sangue. Segundo conceitos hematimétricos de classificação das anemias, elas seriam caracterizadas como hipocitêmicas, normocíticas e normocrômicas. Essas afirmações foram confirmadas ao se fazer a avaliação dos índices hematimétricos absolutos, na evolução da fase de sangrias exploratória e a de produção, porém antes de se fazer a plasmaferese. Pois as oscilações dos valores do volume corpuscular médio (VCM); hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM) variaram, respectivamente, entre:  $43,20 \pm 0,62$  e  $44,30 \pm 0,63$  fl;  $16,60 \pm 0,18$  e  $16,98 \pm 0,27$  pg;  $37,84 \pm 0,78$  e  $39,45 \pm 0,89$  %. Destaque-se as diferenças entre esses resultados não foram estatisticamente significativas.

Os resultados obtidos na presente dissertação concordaram, na essência com os referidos por VAZ e ARAUJO (1949), pois eles observaram que na fase de sangria dos eqüinos utilizados para produção de soro hiperimune antiveneno

crotálico havia decréscimo do número de hemácias e do teor de hemoglobina, variando em valores relativos, respectivamente, entre: 31,2 e 32,9% e; 25,2 e 31,4%. Para esses autores, as diferenças entre os valores do volume globular obtidos antes e após as sangrias de produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, variou entre 37,1 e 33,4%.

Da mesma forma, em que pese as pequenas considerações feitas, inicialmente por ÂNGULO et al (1997a), à respeito das variações dos elementos constituintes do eritrograma durante a hiperimunização de eqüinos para produção de soro antiveneno ofídico, eles destacaram que os valores obtidos para o volume globular (29 a 36%) eram evidentemente menores do que os observados em animais sadios. Todavia, em relação às variações dos teores de hemoglobina, os resultados obtidos nesta dissertação discordaram daqueles referidos pelos pesquisadores citados, pois eles não observaram variações significativas ao compararem os resultados obtidos com os valores considerados padrões de referência. Paradoxalmente, ÂNGULO et al (1997b), avaliaram os efeitos da plasmaferese em cavalos, verificando que após a plasmaferese, o valor do hematócrito aumentava de  $36,2 \pm 1,2\%$  para  $41,5 \pm 0,7\%$  face à hemoconcentração, para a seguir estabilizarem-se, após hidratação, apresentando então valor médio igual a  $33,0 \pm 0,5\%$ .

Os presentes resultados não podem ser discutidos com aqueles referidos por DICKINSON et al (1996), pois esses autores trabalharam com eqüinos acidentados por serpentes cascavéis da América do Norte, portanto, possuidora de toxina proteolítica, com possibilidade de sangramentos graves, como por exemplo, epistaxis e assim sendo a anemia que descreveram seria secundária a sangramentos causados pela ação necrosante do veneno. Patogenia diversa da descrita por vários pesquisadores brasileiros (AMORIM e MELO,1952;

ROSENFELD et al,1960; KELEN et al,1960; AZEVEDO-MARQUES, 1987; MARTINS et al,1998).

Os resultados descritos nesta dissertação concordaram com aqueles observados por ÂNGULO et al (1997b), que detectaram significativa diminuição dos valores do volume globular e do teor de hemoglobina dos eqüinos produtores de soro hiperimmune antiveneno de serpentes, respectivamente  $30,0\pm 1,0\%$  e  $11,4\pm 0,5$  g/dl, significativamente menores do que os determinados no grupo controle, mantido em idênticas condições de manejo, mas não inoculados com peçonha:  $40,0\pm 3,0\%$  e  $15,9\pm 1,1$ g/dl.

### **A.3 - Variação do eritrograma durante a fase de sangria e após a plasmaferese em eqüinos produtores de soro hiperimmune antiveneno crotálico**

Apesar de VAZ e ARAUJO (1949), apesar de, em trabalho pioneiro, terem considerado ser útil a técnica de injetar nos eqüinos produtores de soro hiperimmune os elementos figurados do sangue, resultantes das sangrias de produção, após essa fração celular, ser ressuspensa em solução fisiológica, eles afirmaram que os valores hematológicos de grupos de eqüinos com e sem reinjeção de glóbulos não apresentavam diferenças consideráveis. Todavia, os resultados observados durante a execução do delineamento experimental desta dissertação de mestrado discordaram das retro-mencionada afirmação, pois: 1) os números de hemácias atingiram valores mínimos após a segunda e terceira sangrias de produção (respectivamente,  $7,10\pm 0,20$  e  $7,33\pm 0,19 \times 10^6$  hemácias por  $\text{mm}^3$ ) e a diferença entre os resultados não era estatisticamente significativa), porém apresentaram aumentos significativos, após a 1<sup>a</sup>. e 2<sup>a</sup>. plasmaferese (respectivamente,  $8,19\pm 0,23$  e

8,06±0,21 hemácias/mm<sup>3</sup>), cabendo destacar que a diferença entre esses valores também, não era significativa); 2) resultados assemelhados foram observados para as determinações do volume globular – os valores mínimos foram obtidos após a 2<sup>a</sup>. e 3<sup>a</sup> sangrias de produção (respectivamente, 30,6±0,90 e 31,7±0,99%, a diferença entre esses valores não foi significativa), apresentando significativo aumento após a 1<sup>a</sup>. e 2<sup>a</sup>. plasmaferese (respectivamente, 35,5±1,21 e 35,0±1,15%, a diferença entre esses valores, também, não foi significativa); 3) variações assemelhadas apresentaram os teores de hemoglobina, com valores mínimos atingidos após a 2<sup>a</sup>. e 3<sup>a</sup>. sangrias de produção (respectivamente, 11,99± 0,30 e 12,42±0,32 g/dl, com diferença não significativa), mas a seguir houve aumento significativo dos valores após a 1<sup>a</sup>. e 2<sup>a</sup>. plasmafereses (respectivamente, 13,75± 0,36 e 13,48± 0,32 g/dl – diferença não significativa). A avaliação dos detalhados resultados demonstrou a ocorrência de uma intensa anemia imediatamente após as sangrias de produção, com significativa e rápida recuperação do quadro eritrocitário mensurável após as plasmafereses.

Ressaltou-se que a recuperação do quadro eritrocitário, imediatamente após as plasmafereses foi evidente e suas magnitudes, em valores relativos foram os seguintes: recuperação do número de hemácias por milímetro cúbico variou entre 10,0 e 14,1%; semelhante recuperação foi verificada no volume globular, entre 10,4 e 16,0%; sendo menos marcante a recuperação dos teores de hemoglobina, ficando essa recuperação entre 8,5 e 14,7%.

A recuperação do quadro eritrocitário após a plasmaferese em eqüinos segundo MAGDESIAN et al (1992) refletiria uma hemoconcentração causada por deficiência na rehidratação dos animais, evidenciada por maior valor do volume globular e aumento do teor de proteína total no plasma sanguíneo. Sem contestar “in

totum”, essas afirmações, considerando que a hemoconcentração causada pela sangria, com depleção de 2% de volume sangüíneo, não seria imediatamente compensada pelo volume de líquidos repostos na plasmaferese. Todavia, segundo a tecnologia, atualmente utilizada pelo Instituto Butantan na produção de soros hiperimunes, a desidratação pós-plasmaferese foi considerada como biologicamente pouco significativa. Pois, considerando-se que, numa sangria de produção, há extração de aproximadamente 4,6 litros de plasma e, na plasmaferese, com ressuspensão da fração globular em 2 litros de solução de sódio a 0,9%, determinaria uma rehidratação correspondente a 41,2% do volume de plasma retirado nas sangrias. Além do mais, a plasmaferese foi recomendada, sem contestações para o tratamento de várias enfermidades dos humanos (JONES,1977; BARTGES,1997), sendo também, considerada como método eficiente no tratamento de eqüinos (MAGDESIAN et al, 1992) e introduzida como método biotecnológico na produção de soro hiperimunizado, em eqüinos (LEVINE et al,1970; BHARDWAJ et al, 1972; GREEN et al, 1974).

Apesar das significativas diminuições dos valores dos elementos mensuráveis do quadro eritrocitário caracterizando um quadro de anemia pós-sangria, recuperado pronta mas parcialmente, com as plasmafereses, as variações dos índices hematimétricos absolutos não foram significativas, pois os resultados obtidos mantiveram-se constantes e as variações não apresentaram valor biológico ou diferenças estatisticamente significativas. Os valores médios dos índices hematimétricos absolutos após a 2<sup>a</sup>. e 3<sup>a</sup>. sangrias de produção e aqueles das plasmaferese que as sucederam (1<sup>a</sup>. e 2<sup>a</sup>. plasmafereses foram, respectivamente, para: VCM, entre  $43,20 \pm 0,6\%$  /  $43,30 \pm 0,61\%$  e  $43,30 \pm 0,62\%$  /  $43,55 \pm 0,66\%$ ; HCM:  $16,98 \pm 0,27\text{pg}$  /  $16,98 \pm 0,27\text{pg}$  e  $16,83 \pm 0,23\text{pg}$  /  $16,81 \pm 0,25\text{pg}$ ; CHCM:  $39,45 \pm 0,89\%$



/  $39,43 \pm 0,91\%$  e  $39,01 \pm 0,88\%$  /  $39,94 \pm 0,90\%$ ). Dessa forma, percebeu-se que durante a evolução das fases de sangrias e plasmafereses, os índices hematimétricos absolutos apresentaram oscilações, sem que se detectassem, entre os resultados, diferenças estatisticamente significativas. A anemia observada durante o processo biotecnológico de produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, em eqüinos, segundo a classificação hematimétrica dessas hemopatias foi considerado do tipo de anemia hipocitêmica normócítica e hiperocrômica (isto é, com diminuição evidente do número de hemácias, mantendo o tamanho celular, mas com aumentos significativos da hemoglobina corpuscular média e da concentração de hemoglobina corpuscular média), caracterizando diminuição mais intensa do número de hemácias do que do volume globular e do teor de hemoglobina.

Os resultados obtidos nesta dissertação endossaram o efeito benéfico da plasmaferese na recuperação hematológica dos eqüinos produtores de soros hiperimune e recomendam sua utilização, rotineira, para ser alcançada uma rápida e melhor recuperação da saúde desses animais.

#### **A.4 – Variação do eritrograma durante a fase de recuperação dos eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico**

O delineamento experimental proposto nesta pesquisa permitiu avaliar a recuperação do quadro hemático de eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico durante 45 dias, demonstrando os resultados demonstraram que o protocolo estabelecido pelo Setor de Produção de Soros do Instituto Butantan permitiu rápida recuperação eritropoiética dos animais de produção.

Os resultados obtidos para os elementos mensuráveis do quadro eritrocitário dos eqüinos produtores de soro hiperimmune antiveneno crotálico demonstraram que após a 2<sup>a</sup>. plasmaferese, os eqüinos ainda apresentavam anemia normocítica com hiperchromia, com os seguintes valores, respectivamente:  $8,06 \pm 0,21$  hemácias/mm<sup>3</sup>;  $35,0 \pm 1,15\%$  para volume globular e;  $13,48 \pm 0,32$ g/dl de hemoglobina. Com o evoluir dos procedimentos, na fase de recuperação do animal observou-se progressivo aumento dos valores médios dos parâmetros analisados, sendo aos 15, 30 e 45 dias dessa fase, respectivamente: para eritrócitos –  $8,83 \pm 0,19$  /  $10,07 \pm 0,19$  e  $10,35 \pm 0,17$  hemácias/mm<sup>3</sup>; para volume globular –  $40,8 \pm 0,79$  /  $46,7 \pm 0,79$  e  $47,6 \pm 0,62\%$ ; para a taxa de hemoglobina –  $15,51 \pm 0,3$  /  $15,64 \pm 0,26$  e  $16,05 \pm 0,63$  g/dl.

As diferenças entre os valores obtidos nessa fase e aqueles do primeiro momento de colheita das amostras, permitiram afirmar: 1) ainda após a 2<sup>a</sup>. plasmaferese, os eqüinos dos grupos experimentais, permaneciam anêmicos; 2) após 15 dias de repouso, os animais mostraram sinais evidentes de recuperação eritrocitopoiética, mas permaneceram ainda acometidos por anemia de pequena severidade; 3) após 30 dias de repouso, os eqüinos utilizados para a produção de soro hiperimmune estabilizaram os valores mensuráveis do eritrograma e puderam ser considerados sadios e os parâmetros sangüíneos destes momentos equivaleram-se quantitativamente aos dos dois momentos iniciais do procedimento biotecnológico em curso; 4) a recuperação dos teores de hemoglobina foi mais precoce (observada já aos 15 dias desta fase) do que para o número de hemácias e volume globular (observada, apenas, após 30 dias desta fase).

A análise dos índices hematimétricos absolutos demonstrou que após a 2<sup>a</sup>. plasmaferese, os eqüinos produtores de soro hiperimmune antiveneno crotálico apresentavam anemia normocítica com hiperchromia (VCM –  $43,35 \pm 0,48$ f; HCM –

16,81±0,25pg e CHCM – 38,94±0,90%). Na evolução da fase de recuperação, observou-se aumento significativo do VCM (46,20±0,48 fl ;46,55±0,40 fl e 46,20±0,40 fl , respectivamente, 15, 30 e 45 dias após a 2ª. plasmaferese), ocorrendo predomínio de hemácias maiores, com macrocitose, associado a aumento significativo da HCM (hipercromia – 17,60±0,24pg), para após 30 dias apresentar hipocromia (15,55±0,15 e 15,55±0,19pg). A CHCM, 15 dias após a última plasmaferese mantinha maiores valores (38,04±0,22%) para a seguir apresentarem hipocromia (33,42±0,15 e 33,73±0,29%).

Os resultados ora apresentados não puderam ser discutidos de uma forma crítica, por falta de referências na bibliografia compulsada, com resultados de pesquisas pertinentes ao tema. A maioria dos estudos referentes à produção de soros hiperimunes, recuperação dos animais soroprodutores e às variações do hemograma desses eqüinos, durante os procedimentos biotecnológicos não apresentaram resultados completos do eritograma, nem se dedicaram a todas as fases da produção de soros hiperimunes de uso terapêutico (VAZ e ARAUJO, 1949; ESTRADA et al, 1992; MAGDESIAN et al, 1992; ÂNGULO et al, 1997a; ÂNGULO et al, 1997b).

## **B - Avaliação do leucograma**

### **B1 – Variações do leucograma durante a fase de hiperimunização dos eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico**

Na fase de hiperimunização dos eqüinos para produção de soro antiveneno crotálico não foi detectada variação significativa do número total de leucócitos, mesmo tendo-se informações que alguns animais apresentaram reação inflamatória

no local das inoculações dos antígenos. De forma idêntica, não se observou variações marcantes na distribuição do número absoluto de polimorfonucleares neutrófilos (com núcleo em bastonete ou segmentado), polimorfonucleares eosinófilos e basófilos e dos leucócitos mononucleares, tanto de linfócitos típicos, pequenos, grandes, e dos linfócitos atípicos, bem como de monócitos. Os resultados apresentados nesta dissertação concordaram com os obtidos por MAGDESIAN et al (1992), que não demonstraram a existência de variações entre os valores obtidos na contagem diferencial dos leucócitos de eqüinos submetidos a repetidas plasmafereses.

Os presentes resultados não concordaram com aqueles apresentados por ÂNGULO et al (1997b), destacando ocorrência de leucocitose, com linfocitose entre 3 e 48 horas após a inoculação do antígeno, que no caso era uma mistura da peçonha de serpentes das espécies *Botrops asper*, *Crotalus durissus durissus* e *Lachesis muta stenophrys*. Essa diferença de interpretação dos resultados talvez pudesse ser atribuída aos tipos de venenos utilizados: os referidos pesquisadores incluíram em seus experimentos venenos que apresentavam uma fração tóxica proteolítica, o que poderia determinar uma reação inflamatória local mais severa, condicionando a resposta leucocitária mais evidente. Além do mais, o processo biotecnológico de produção de soros hiperimunes antiveneno de serpentes em eqüinos, utilizado pelo Instituto Butantan na elaboração dos soros de uso terapêutico foi internacionalmente considerado de excelente qualidade e por isso, os animais produtores do soro hiperimune não apresentaram manifestações secundárias indesejáveis durante os procedimentos biotecnológicos, que pudessem determinar alterações significativas do leucograma.

Não houve possibilidade de se fazer uma análise crítica comparativa com os resultados obtidos por DICKINSON et al (1996), que avaliaram isoladamente casos clínicos de acidentes crotálicos em eqüinos e, em 15 animais examinados 5 (33%) apresentaram leucocitose e em apenas um (6,7%) caracterizou a ocorrência de leucopenia. Ressaltou-se, ainda, que apesar dos autores não caracterizarem o gênero e espécie das cascavéis, provavelmente eram serpentes do Continente Norte Americano e, portanto, possuindo na peçonha, uma forte fração tóxica proteolítica, que é predominantemente no veneno de serpentes do gênero *Atrox*, comum no Hemisfério Norte do continente americano. Além do mais, dificultando a comparabilidade dos resultados, houve diferenças de doses, que foram mínimas no procedimento da indução da hiperimunização e máximas, nas inoculações que ocorreram nos eventos dos acidentes ofídicos, detalhados no trabalho de DICKINSON et al (1996).

## **B2 - Variações do leucograma durante as fases de sangrias e plasmafereses dos eqüinos produtores de soro hiperimmune antiveneno crotálico**

Nos procedimentos de produção de soro hiperimmune antiveneno crotálico em eqüinos, nas fases de sangria e plasmafereses, as variações do leucograma foram de pequena magnitude pois: 1 – o número total de leucócitos apresentaram oscilações, que não demonstraram significado biológico; 2 – em relação à distribuição dos tipos de leucócitos, em termos de valores absolutos não se observaram variações significativas dos polimorfonucleares neutrófilos, basófilos e eosinófilos (com exceção do valor máximo obtido antes da primeira sangria de produção –  $0,65 \pm 0,32 \times 10^3$  células/mm<sup>3</sup>) e dos monócitos; 3 – detectou-se, que após

as sangrias de produção e mesmo após as plasmafereses ocorria diminuição significativa do número total de linfócitos; sendo na maioria das vezes determinadas por variações do número absoluto dos linfócitos pequenos (o número absoluto total dos linfócitos e de linfócitos pequenos, antes da 1<sup>a</sup>. sangria - momento 7, após a 2<sup>a</sup>.sangria de produção – momento 10, após a 1<sup>a</sup>. plasmaferese – momento 11, depois a 3<sup>a</sup>. sangria de produção – momento 13 e 2<sup>a</sup>. plasmaferese – momento 14, foram respectivamente:  $5,76 \pm 0,37$  e  $4,60 \pm 0,45 \times 10^3$  células/mm<sup>3</sup> ;  $5,71 \pm 0,31$  e  $4,88 \pm 0,26$  células/mm<sup>3</sup>;  $4,50 \pm 0,27$  e  $3,40 \pm 0,24$  células/mm<sup>3</sup> ;  $4,17 \pm 0,26$  e  $3,26 \pm 0,29$  células/mm<sup>3</sup>;  $4,37 \pm 0,31$  e  $3,38 \pm 0,24$  células/mm<sup>3</sup>). Os presentes resultados confirmaram a única referência encontrada na bibliografia compulsada e apresentada por MAGDESIAN et al (1992).

### **B3 – Variações do leucograma durante a fase de recuperação dos eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico**

Na fase de recuperação dos eqüinos utilizados na produção de soro hiperimune antiveneno crotálico observou-se variações de pequena magnitude dos elementos componentes do leucograma. Os valores mínimos do número total de leucócitos foram determinados no início da fase de recuperação (momento 15 –  $10,34 \pm 0,54 \times 10^3$  leucócitos/mm<sup>3</sup>), sendo essa diminuição dos leucócitos conseqüente à diminuição do número de polimorfonucleares neutrófilos (momento 15, 16 e 17, respectivamente  $4,74 \pm 0,36$  ;  $5,08 \pm 0,49$  e  $4,71 \pm 0,27 \times 10^3$  neutrófilos segmentados/mm<sup>3</sup>).

A variação da constituição do leucograma durante a fase de recuperação dos eqüinos de produção de soro hiperimune não pôde ser comparada com os

resultados de pesquisas equivalentes, pois estas além de escassas, não se dedicaram especificamente, ao assunto. Apenas, VAZ e ARAÚJO (1949) estudaram a recuperação dos animais após a produção de soro hiperimune antiveneno de serpentes, mas considerando aspectos hematológicos da recuperação, avaliaram somente o quadro eritrocitário e verificaram perfeita recuperação clínica e hematológica da maioria dos animais utilizados, sem restrições para o reaproveitamento desses eqüinos na produção de soro hiperimune de uso terapêutico.

### **C – Avaliação de parâmetros bioquímicos séricos de eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico**

O delineamento experimental desta dissertação de mestrado objetivou avaliar alguns parâmetros bioquímicos do sangue de eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico, em várias fases desse procedimento biotecnológico. Face a multiplicidade qualitativa e quantitativa dos elementos químicos constituintes do plasma e soro sangüíneos optou-se por alguns, mais diretamente relacionados com o processo de produção de soro hiperimune de uso terapêutico, particularmente os que poderiam ter relação com sangrias severas ou com possíveis processos hemolíticos pós manipulação do sangue resultante das sangrias de produção, separação do soro hiperimune e a ressuspensão de glóbulos sangüíneos em solução salina fisiológica, bem como a reinjeção endovenosa, nos próprios animais. A opção foi determinar os níveis de ferro sérico, a capacidade total de ligação do ferro – que indiretamente foi expressada como transferrina sérica, possibilitando classificar anemia, segundo as reservas de ferro orgânico, em

anemias ferroprivas ou não ferroprivas e avaliar o grau de depleção dessas reservas. E, numa eventual possibilidade da instalação de processo hemolítico, secundário à realização da plasmaferese, optou-se pela determinação dos teores de bilirrubina total e de suas frações: bilirrubinas de reação direta e de reação indireta.

Na literatura compulsada, os pesquisadores optaram por outras possíveis formas de avaliar a repercussão do processo de produção de soro hiperimune nas condições orgânicas dos animais utilizados nesse procedimento biotecnológico. A preocupação foi detectada no trabalho publicado em 1949 por VAZ e ARAUJO, que além de recomendarem a determinação do volume globular e dosagem de hemoglobina, no controle das condições orgânico-funcionais dos equinos soroprodutores, preconizaram a determinação da densidade do plasma, pois a dosagem de proteína sérica era mais trabalhosa, interferindo com a rotina dos procedimentos. Preocupavam-se esses pesquisadores com a possibilidade da depleção protéica dos animais. Mas, recentemente, houve a preocupação com as possibilidades das ocorrências, tanto da hipoproteinemia, como da hemoconcentração pós-plasmaferese ou para avaliar o aumento dos teores de proteína sérica por síntese de imunoglobulinas (ESTRADA et al,1992; ÂNGULO et al,1997a e ÂNGULO et al,1997b).

Alguns pesquisadores não deram tanta ênfase às provas bioquímicas que avaliassem o comprometimento hematológico dos equinos submetidos aos procedimentos de produção de soro hiperimune, e assim, preferiram determinar possíveis modificações sistêmicas das condições físicas desses animais, pela determinação da função hepática, por avaliação da atividade enzimática da desidrogenase láctea (LDH), aspartato aminotransferase - AST (antigamente, transaminase glutâmico-oxalacético - TGO), alanina amino-transferase - ALT,



antigamente transaminase glutâmico-piruvica – TGP), associada ou não à avaliação da atividade enzimática da gamaglutamil transferase – GGT (ESTRADA et al,1992; ÂNGULO et al,1997a e ÂNGULO et al,1997b). Mas esse, não foi o objetivo imediato do delineamento experimental, ora proposto. Além do mais, nas pesquisas pertinentes ao assunto, verificou-se a preocupação de se avaliar, também: a ocorrência de lesões musculares, no local das inoculações dos antígenos, pela determinação da atividade enzimática da creatino-quinase – CK (ESTRADA et al, 1992; ÂNGULO et al,1997a); distúrbios da função renal – pela determinação dos teores de uréia e creatinina séricas (ÂNGULO et al,1997b) e; das condições de hidratação dos eqüinos pela dosagem de alguns eletrólitos sangüíneos - sódio (Na) e potássio (K) no soro sangüíneo (ÂNGULO et al, 1997a e ÂNGULO et al,1997b).

### **C1 – Variação de parâmetros bioquímicos séricos durante a fase de hiperimunização dos eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico**

Durante a fase de hiperimunização dos eqüinos produtores de soro antiveneno crotálico observou-se gradativa e significativa diminuição dos teores séricos de ferro, ocorrência acompanhada de aumento da capacidade total de ligação do ferro, expressada por aumento da concentração sérica de transferrina. Ressaltou-se que esses resultados foram coerentes com aqueles obtidos no eritrograma dos animais, demonstrando que a anemia detectada apresentava fatores etiológicos relacionados à condição ferropriva. Não se observando, nesta fase da produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, variações significativa das concentrações séricas de bilirrubinas total, de reação direta e indireta, podendo-

se afirmar não ter, nesta fase, ocorrido crises hemolíticas ou distúrbios hepáticos. Os referidos resultados concordaram com as considerações apresentadas por ESTRADA et al,1992, que detectaram a ocorrência de anemia de pequena severidade nesta fase de hiperimunização dos eqüinos produtores de soro antiveneno ofídico.

## **C2 – Variação de parâmetros bioquímicos séricos durante a fase de sangrias de produção e plasmaferese dos eqüinos produtores de soro hiperimmune antiveneno crotálico**

Os valores mínimos da sideremia durante a produção de soro hiperimmune antiveneno crotálico em eqüinos foram atingidos ao final da fase de hiperimunização e obtidos nas amostras colhidas antes da sangria exploratória ( $101,03 \pm 8,99$  mg/dl – momento 6). Após essa sangria, no momento correspondente a colheita anterior à 1ª. sangria de produção, observou-se aumento do teor sérico de ferro, para se caracterizar, novamente, após a 2ª, sangria de produção, aumento da sideremia, presumivelmente causado pela mobilização do ferro da reserva orgânica. Os valores ora considerados foram acompanhados de forma inversamente proporcional pela capacitação total de combinação com os íons de ferro, pois os maiores teores de transferrina sérica corresponderam aos momentos, nos quais os teores de ferro sérico eram menores, demonstrando que o plasma desses animais apresentava maior afinidade de combinação e capacidade de transportar o mencionado íon para o tecido hematopoiético, participando da síntese da hemoglobina. Os resultados foram coerentes com aqueles obtidos no eritograma, pois nesses períodos demonstrava-se a ocorrência de anemia do tipo hipocitemica, normocítica, caracterizada por hiperchromia, face aos maiores valores da HCM e da CHCM. A

respeito, julgou-se oportuno destacar, que apesar dos valores séricos de ferro não se diferenciarem significativamente dos determinados na fase inicial da produção e soro hiperimune havia possibilidade da depleção das reservas orgânicas de ferro, sendo os valores mantidos pela mobilização desses íons das referidas reservas.

Na fase de sangrias de produção não houve variações significativas das concentrações da bilirrubina total e de suas frações. Portanto, não se observou qualquer manifestação da ocorrência de crises hemolíticas ou de hemólise secundária por falha dos procedimentos biotecnológicos.

No seqüencial do processo de para produção de soro hiperimune antiveneno crotálico em eqüinos, observou-se após as sangrias de produção, os efeitos benéficos da plasmaferese, para a renovação das reservas orgânicas de ferro e a manutenção da sideremia. Pois observou-se: que após a 1<sup>a</sup>. plasmaferese, a sideremia, depois de redução inicial igual a 25,7%, manteve-se estável (momento 11 –  $146,10 \pm 16,77$  mg/dl e momento 12 –  $136,60 \pm 14,45$  mg/dl) para imediatamente após a plasmaferese realizada, complementarmente, a 3<sup>a</sup>.sangria de produção, os valores séricos de ferro apresentaram aumento equivalente a 30,5%, passando de  $118,24 \pm 12,56$  mg/dl (momento 13) para  $154,30 \pm 37,14$  mg/dl (momento 14). Nesses momentos, que correspondem às sangrias e plasmaferese, as taxas séricas de transferrina variavam, mantendo valores médios de grande magnitude (entre  $240,21 \pm 19,14$  mg/dl e  $286,52 \pm 23,91$  mg/dl) apenas menores do que os verificados nesta fase, antes e após a 2<sup>a</sup>. sangria de produção (momento 9 –  $332,66 \pm 36,08$  mg/dl e momento 10 –  $343,46 \pm 37,51$  mg/dl). As observações, caracterizariam condição fisiopatológica com grande aptidão dos íons ferro unirem-se à transferrina para seu transporte aos órgãos hemoformadores, bem como evidenciou que apesar dos teores séricos de ferro se manterem estáveis as reservas orgânicas,

evidentemente diminuíram. Nos referidos momentos, houve concordância dos resultados bioquímicos com aqueles do eritrograma, quando se caracterizou anemia hipocitêmica, normocítica, com hiperchromia, comprovada por maiores valores da HCM e CHCM (respectivamente maiores do que 16,83 pg e 39,01%), havendo na sua etiopatogenia, uma significativa influência da condição ferropriva.

Na fase de execução das duas plasmafereses, programadas no protocolo do Instituto Butantan para produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, em eqüinos e, realizadas imediatamente após as 2<sup>a</sup>. e 3<sup>a</sup>. sangrias de produção, observou-se significativo aumento dos teores de bilirrubina total ( $0,73 \pm 0,06$  mg/dl – momento 11, após 1<sup>a</sup>. plasmaferese;  $1,07 \pm 0,08$  mg/dl – momento 12, antes da 3<sup>a</sup>. sangria de produção;  $1,09 \pm 0,08$  mg/dl depois da 3<sup>a</sup>. sangria e,  $0,92 \pm 0,06$  mg/dl). As variações das frações das bilirrubinas, ou seja, bilirrubinas de reação direta e indireta não apresentaram diferenças significativas. As mencionadas variações, exclusivamente, das concentrações de bilirrubinas total, nessa fase final de sangrias de produção e plasmaferese, não puderam ser categoricamente elucidadas e explicadas. Assim sendo, aceita-se as considerações apresentadas por ESTRADA et al (1992), ao observarem pequenas, mas significativas variações da atividade enzimática da transaminase glutâmico-oxalacética – TGO durante as fases de hiperimunização, sangrias e plasmaferese de eqüinos produtores de soro antiveneno ofídico. Pois esses pesquisadores afirmaram: apesar de pequenas, as diferenças foram estatisticamente significativas, mas os valores jamais se colocaram fora do âmbito das variações dos valores padrões de referência para espécie animal em questão. Assim sendo, como concluiu ESTRADA et al (1992) na presente análise dos resultados, pode-se afirmar, que os eqüinos se mantiveram dentro dos padrões usuais da sanidade, todavia, o procedimento repercutiu sobre as condições

fisiológicas dos eqüinos produtores de soro hiperimune para uso terapêutico. As manifestações, pouco intensas, observadas, em animais utilizados pela primeira vez, poderiam se intensificar, em novas hiperimunizações, tornando-se as referidas manifestações mais intensas, apresentando, como destacaram VAZ e ARAUJO (1949), apresentando agravamento das condições orgânicas (emagrecimento, caquexia, anemias crônicas) e distúrbios cardio-hepato-renais (edemas subcutâneos e derrames das cavidades) e quase sempre, em necropsias, comprovando a ocorrência de amiloidose hepática.

### **C3 – Variações de parâmetros bioquímicos séricos durante a fase de recuperação dos eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico**

O delineamento experimental proposto nesta dissertação de mestrado previu a avaliação da crase sangüínea durante uma fase de 45 dias de recuperação após as sangrias de produção a as plasmafereses. Os parâmetros bioquímicos séricos avaliados – concentração sérica de ferro, teor de transferrina e bilirrubinas (total e frações de reações direta e indireta) se recuperaram imediatamente, pois os valores médios obtidos 15, 30 e 45 dias após a 3<sup>a</sup>.sangria e 2<sup>a</sup>.plasmaferese, equivaliam-se aos valores obtidos na fase inicial de hiperimunização dos animais. A pronta recuperação das condições bioquímicas referidas comprovou-se, estatisticamente, pois as diferenças obtidas na fase inicial da produção e ao final, durante o repouso dos animais não foram significativas. Além do mais, a recuperação dos parâmetros bioquímicos do soro sangüíneo foi muito mais rápido do que o observado para os constituintes do eritrograma, quer fossem os elementos mensuráveis – número de

hemácias, volume globular e teor de hemoglobina ou os índices hematimétricos absolutos, obtidos por cálculo – VCM, HCM e CHCM.

## 7. CONCLUSÕES

O delineamento proposto e executado para avaliar o quadro hemático de eqüinos submetidos aos procedimentos biotecnológicos estabelecidos por protocolo específico para a produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, para uso terapêutico, obedecidas quatro fases fundamentais do mencionado processo – hiperimunização, sangrias, plasmaferese e recuperação, permitiram as conclusões a seguir detalhadas.

1 - Em que pese a ineficiente produção de anticorpos, na maioria dos eqüinos submetidos aos procedimentos da primeira produção de soro hiperimune antiveneno crotálico, em alguns casos foram obtidos bons resultados e a produção foi alcançada sem que ocorressem efeitos indesejáveis que ocasionassem interrupção dos procedimentos biotecnológicos, exigissem medicação específica dos eqüinos de produção, a dessangria de urgência ou o sacrifício dos animais.

2 - Os procedimentos de hiperimunização determinaram significativas variações do quadro hematológico dos eqüinos, caracterizadas por:

a - diminuição dos valores mensuráveis do eritrograma – número de hemácias, volume globular e teor de hemoglobina e não se detectando alterações significativas dos índices hematimétricos absolutos, a anemia resultando, dentro do conceito hematimétrico de classificação foi considerada como anemia normocítica normocrômica;

b – não foram demonstradas variações significativas dos elementos constituintes do leucograma;

c – gradativa e significativa diminuição dos teores séricos de ferro, associada ao aumento da concentração sérica de transferrina, permitindo classificar-se a anemia como ferropriva.

3 - Na fase de sangrias exploratória e de produção, bem como após a realização das plasmaferese, comprovaram-se evidentes e significativas variações de elementos constituintes de quadro hematológico de eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico, destacando-se:

a – ocorrência de quadro clínico característico de anemia hipocitemica, normocítica e hiperocrômica após as sangrias de produção, associada a variações não significativas dos elementos constituintes do leucograma, mas com significativas alterações de alguns constituintes bioquímicos do soro sangüíneo – significativa diminuição da sideremia e incremento da capacidade total de combinação com o íon ferro, evidenciado pelo aumento da concentração de transferrina, caracterizando a anemia como de origem ferropriva;

b – a plasmaferese demonstrou ser um excelente procedimento para a recuperação hematológica dos eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico, com pronta e parcial recuperação do hemograma e da sideremia dos animais anêmicos;

c – a anemia continuava com características típicas de hipocitemia, normocítica e hiperocromica.

4 – Na fase de recuperação dos eqüinos produtores de soro hiperimune antiveneno crotálico houve rápido retorno para a normalidade hematológica desses animais, destacando-se:

a – após 30 dias de repouso houve recuperação e estabilização dos valores mensuráveis do eritrograma – número de hemácias, volume globular e teor de hemoglobina, porém com alterações das características dos eritrócitos – macrocitose e hipocromia;



b – a recuperação da constituição bioquímica do soro sangüíneo foi imediata e os resultados estabilizaram-se 15 dias após as últimas sangrias e plasmaferese, demonstrando rápida mobilização das reservas orgânicas de ferro;

c – a influência da produção de soro hiperimune na função hepática, pois observou-se a possibilidade do procedimento biotecnológico determinar alterações do fígado.

## 8. REFERÊNCIAS

AMORIM M. de F.; MELLO, R.F. (1952) Nefrose do nefron intermediário no envenenamento crotálico humano. Estudo anatomo-patológico. **Memórias do Instituto Butantan**. v.24, p.281.

ANGULO, Y., ESTRADA, R., GUTIÉRREZ, J.M. (1997a) Clinical and laboratory alteration in horses during immunization with snake venoms for the production of polyvalent (crotalinae) antivenom. **Toxicon**, v.35, n.1, p.81-90.

ANGULO, Y.; ESTRADA, R.; GUTIÉRREZ, J.M. (1997b) Effects of bleeding in horses immunized with snake venoms for antivenom production. **Rev.Biol.trop.**, v.45(3): p.1215 – 1221.

AZEVEDO-MARQUES, M.M.; HERING, S.E.; CUPO, P.; Evidence that *Crotalus durissus terrificus* (South american Rattlesnake) Envenomation in humans causes myolysis rather than hemolysis. **Toxicon**, Vol.25. no.11, pp.1163 – 1168, 1987.

BARTGES, J. Therapeutic plasmapheresis. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (small animal)**, vol.12. n.3 (august), 1997: pp 170-177.

BHARDWAJ, K.R.; SAHAI, G.; THOMAS, A.K. Plasmapheresis in hyperimmunized horses – Technique and observations. **Indian Journal Medicine Research**, 65, 2, February, 1977, pp.260-265.

BIRGEL, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**. Local: SPMV – Sociedade Paulista de Medicina Veterinária. 1982. p.2 –34.

BIRGEL, E.H. A História da Faculdade. 60 Anos – Semana Histórico-Cultural alusiva aos 60 Anos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 1995, São Paulo. **Anais...** São Paulo: FMVZ, 1995, p.5 – 24.

BIRGEL, E.H. (2004) O ensino da Medicina Veterinária em São Paulo. **INFOVET** – Informativo da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP, v. 12, nº88, p.7 – 8.

BROOK, D. Aspects of Plasma Production. **Equine Veterinary Science**. V.8, n.6, p.303 – 306, 1989.

CANNON,P.R.; CHASE,W.E.; WISSLER, R.W. The relationship of the protein reserves to antibody production in: the effect of a low protein diet and of plasmapheresis upon the formation of agglutiness. **Journal immunology**, 47 (1943), p.133.

CHIPPAUX,J.P.; GOYFFON,M. Venoms: antivenoms and Immunotherapy (Review article). **Toxicon**. V.36., n. 06. p.823-846. 1998.

CORRIGAN,J.J.J.; JETER, M.; FERLAN,I. In vitro, effects of *Crotalus molossus molossus* (Blacktail rattlesnake) venom on human platelets, fibrinolysis and fibronogen, comparison with *C. atrox* and *C. adamanteus*. **Toxicon**, p 77-80, 1983. Supplement 3.

COX, J.C.; COULTER, A.R. Adjuvants: a classification and review of their modes of action. **Vaccine**, v.15, n.3, p 248-256, 1997.

DICKINSON,C.E.; TRAUB,J.L.; DARGATZ, D.A.; BENNETT,D.G.; KNIGHT,A.P. Rattlesnakes venom poisoning in horse: 32 cases (1973 – 1993). **JAVMA**, v.208, n°11, june 1, 1996. p.1866 – 1871.

ESTRADA ,R.; ROBLES,A.; ALVARADO,J.; ROJAS,E.; GONZALVES,N.; SEGURA,E.; GUTIERREZ,J.M. Development of antibody response and clinical and hematological alterations in horses immunized with snake venoms for the production of antivenom in Costa Rica. **Memórias do Instituto Butantan**, v.53; n.2, p.181-190, 1991.

ESTRADA,R.; CHAVES,F.; ROBLES, A.; ROJAS, E.; SEGURA, E.; GUTIÉRREZ, J.M.; Valores hematológicos y de enzimas séricas en caballos inoculados con venenos de serpientes para la producción de antivenenos en Costa Rica. **Rev. Biol. Trop.**,40 (1):95-99, 1992.

GREEN,E.M.; WARD,G.M. A simple method for repeated plasmapheresis of the horse. **Laboratory animal science**. V.24. n.6. 1974, pp. 948-951.

HARRIS,H.S., SIMMONS,R.S. (1976/77). A new subspecies of *crotalus durissus* (Serpentes: Crotalidae) from the Rupununi savanna of Southwestern Guyana. **Memórias do Instituto Butantan** . (São Paulo). 40/41: 305 –311.

HERBERT,W.J. Mineral-oil adjuvants and the immunization of laboratory animals. In: **Handbook of experimental Immunology**. Ed. By D.M.Weir, Second Ed.; Blackwell Scientific Publications. Oxford, London. Edinburch Melbourne (1973).

JONES, B.M.J.V. Plasmapheresis: great econmy in the use of horses. **The New England journal of medicine**. v.297. n.21,1977, p. 1173-75.

KELEN, E.M.A.; ROSENFELD,G.; NUDEL,F. Hemolytic activity of animal venoms: II. Variation in relation to erythrocyte species. **Mem. Inst. Butantan**, v.30: p.133 – 142, 1960 – 62.

LEVINE, L.; BRODERICK, J.E. The plasmapheresis of hyperimmunized horses. **Bull world Health Organ.** 1970: 42 (6): 998-1000

MCLURE, J.T.; DELUCA, J.L.; LUNN, D.L.; MILLER, J. Evaluation of IgG concentration and IgG subisotypes in foals with complete or partial failure of passive transfer after administration of intravenous serum or plasma. **Equine Veterinary Journal** (2001), v.33 (7), p.681-686.

MCVEY, S.; LOAN, R.W. Total and antigen-specific serum immunoglobulin isotype concentrations in hyperimmunized cattle that have undergone plasmapheresis. **American Journal Veterinary Research**, v.50, n.5, may 1989. p. 758-761.

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, July 1992. p.1149-53.

**MANUAL TÉCNICO – ABC-VET® - ABX Diagnósticos – Montpellier – França, 2002.**

MARTINS, A.M.; MONTEIRO, H.S.A.; JUNIOR, E.O.G. MENEZES, D.B.; FONTELES, M.C. Effects of *Crotalus durissus cascavella* venom in the isolated rat kidney. **Toxicon** v.36 (10). p. 1441-1450. 1998.

MARTINS, E.O.; **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.** Edição do Autor, São Paulo – SP (1995).

McCOLLOUGH, N.; GENNARO, J.; The diagnosis, symptoms, treatment and sequella of envenomation by *Crotalus adamantus* and *Genus agkistrodon*. **Memórias do Instituto Butantan.** Simp.Internac. 33(1): 175 – 178, 1966.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de acidentes por animais peçonhentos.** Brasília: Fundação nacional da Saúde, 1999. 131p il.

MORAIS, J.F.; FREITAS, M.C.W.; YAMAGUCHI, I.K.; SANTOS, M.C. SILVA, W.D. Snake antivenoms from hyperimmunized horses: comparison of the antivenom activity and biological properties of their whole IgG and F(ab')<sub>2</sub> fragments. **Toxicon**, vol.32.n.6, pp 725-734, 1994.

PHILLIPS, A.W.; COURTENAY, J.S.; RUSTON, R.D.H.; MOORE, J.; BAKER, C.; EPPSH, B.S. Plasmapheresis of horses by extracorporeal circulation of blood. **Research Veterinary Science.** 1974(16), p.35-39.

RAW, I.; GUIDOLIN, R.; HIGASHI, H.G.; KELEN, E. M.A. Antivenins in Brazil: Preparation. 1991. p.557-81. in TU, A.T. **Reptile Venoms and Toxins.** V.5

ROSENFELD,G. Symptomatology, pathology and treatment of snake animals bites in South America. In: **Venomous Animals and their venoms**. P.345. New York: Academic Press.

ROSENFELD, G.; KELEN, E.M.A.; NUDEL,F. **Hemolytic activity of animal venoms: I. Classification in different types and activities**. Mem. Inst. Butantan, 30: p.117-132, 1960 – 62.

SANCHEZ,E.E.; GALAN, J.A.; PEREZ,J.C.;RODRIGUEZ-COSTA,A. CHASE,P.B. The efficacy of two antivenoms against the venom of North American snakes. **Toxicon** 41(2003) – p.357-365.

SAS INSTITUTE, **SAS user's guide**: statistics. Versão Cary: SAS Institute, 1985.

TIZARD,I.R. **Introdução à imunologia veterinária**. 5.ed. São Paulo: Roca, p284 – 391. 1998.

THOMAZINI, I.A.; BARRAVIEIRA,B. Alterações hematológicas nos acidentes por animais peçonhentos. In: BARRAVIEIRA, B. **Venenos animais: Uma visão integrada**. Rio de Janeiro, Publicações Científicas, 1994. cap 6, p 81 – 89.

VAZ,E.; ARAUJO,P.; Sangria de animais de imunização. **Memórias do Instituto Butantan**, 21,p.275 – 298, 1949.

VITAL BRASIL, O. (1980), Venenos Ofídicos neurotóxicos. **Revista Ass. Med. Bras**. V.26, p.212.

ANEXOS

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma *nonomato* 17 (45 dias após a plasmaferese).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	10.58	16.5	50.4	48.0	15.6	32.7	152.58	231.0	0.74783	0.1411	0.60673	13.3	0,1	5,45	0,40	0,13	3,59	2,26	1,06	6,92	0,27
26	11.63	16.9	51.0	44.0	14.5	33.1	171.36	244.6	0.73372	0.07055	0.66317	13.6	0,1	7,62	0,41	0,27	3,94	0,54	0,41	4,90	0,27
33	10.78	16,00	50.3	47.0	14.8	31.8	241.8	169.69	0.53618	0.11288	0.4233	9.6	0,0	4,13	0,19	0,10	4,80	0,38	0,00	5,18	0,00
47	11.47	16.7	51.9	45.0	14.6	32.2	222.96	299.27	1.28401	0.1411	1.14291	10.5	0,0	4,20	0,53	0,00	3,78	1,05	0,84	5,67	0,11
49	10.53	16.1	49.1	47.0	15.3	32.8	208.71	239.56	0.57851	0.04233	0.53618	14.0	0,0	5,88	0,28	0,14	7,14	0,42	0,14	7,70	0,00
100	10.64	15.7	49.1	46.0	14.7	31.9	296.42	457.75	0.74783	0.09877	0.64906	12.8	0,1	6,27	0,38	0,26	4,74	0,90	0,00	5,63	0,13
116	11.19	16.2	51.0	46.0	14.5	31.7	231.11	229.96	0.77605	0.09877	0.67728	12.2	0,1	4,51	0,24	0,12	5,49	0,49	1,22	7,20	0,00
128	9.74	14.5	41.8	43.0	14.9	34.8	126.7	351.6	0.69139	0.12699	0.04	10.1	0,2	4,04	0,20	0,00	4,44	1,01	0,20	5,66	0,00
140	9.81	15.7	45.1	46.0	16.0	34.8	167.5	199.2	0.91715	0.21165	0.05	14.4	0,0	5,04	0,29	0,00	7,49	1,15	0,14	8,78	0,29
153	9.26	16.1	45.3	49.0	17.4	35.7	188.3	221.3	0.86071	0.01411	0.06	7.6	0,0	2,89	0,23	0,00	4,26	0,23	0,00	4,48	0,00
162	9.18	15.3	44.3	48.0	16.6	34.5	170.4	140.2	0.21165	0	0.015	12.4	0,1	6,32	0,12	0,00	5,21	0,50	0,12	5,83	0,00
166	9.47	16.1	46.6	49.0	17.0	34.6	146.8	159.8	0.81838	0.12699	0.049	11.2	0,1	5,04	0,11	0,00	4,93	0,56	0,22	5,71	0,22
217	10.26	15.7	44.7	44.0	15.3	35.2	172.5	186.9	0.97359	0.16932	0.057	10.1	0,0	4,85	0,20	0,00	4,65	0,30	0,00	4,95	0,10
220	11.38	17.3	48.9	43.0	15.2	35.4	136.9	194.3	0.87482	0.16932	0.05	9.3	0,0	3,53	0,28	0,00	2,88	1,95	0,56	5,39	0,09
257	9.32	15.3	44.4	48.0	16.4	34.3	154.3	285.2	0.77605	0.12699	0.046	8.3	0,2	3,24	0,42	0,00	3,57	0,58	0,17	4,32	0,17
270	10.5	16.6	48.3	46.0	15.8	34.3	148.1	277.9	0.97359	0.15521	0.058	8.5	0,1	3,32	0,17	0,17	3,32	1,11	0,26	4,68	0,09
285	9.71	15.7	45.8	47.0	16.2	34.3	128.5	371.3	0.8466	0.16932	0.048	9.2	0,0	4,60	0,28	0,00	3,40	0,92	0,00	4,32	0,00
305	10.22	16.3	46.8	46.0	15.9	34.8	150.1	238.5	0.93126	0	0.066	10.1	0,1	5,45	0,10	0,00	3,43	0,61	0,30	4,34	0,10
315	10.42	16.3	48.5	47.0	15.7	33.6	84.6	292.6	0.73372	0.11288	0.044	10.7	0,0	4,82	0,54	0,11	2,89	1,61	0,54	5,03	0,21
317	11.05	16.1	50.2	45.0	14.6	32.1	131.1	349.2	0.86071	0.21165	0.046	10.2	0,1	3,06	0,31	0,00	5,92	0,51	0,31	6,73	0,00

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **momento 2** (preparação dos animais).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	7.88	14.1	39.0	49.0	17.9	36.1	122.96	236.29	0.64906	0.18343	0.46563	12.2	0,6	6,71	0,49	0,00	4,03	0,12	0,12	4,27	0,12
26	11.34	18,00	50.6	45.0	15.8	35.5	174.76	184.76	0.77605	0.21165	0.5644	12.0	0,4	5,88	0,36	0,00	4,92	0,36	0,00	5,28	0,12
33	8.84	15.6	44.3	50.0	17.7	35.3	217.71	112.64	0.43741	0.09877	0.33864	9.4	0,1	3,67	0,28	0,09	5,08	0,00	0,09	5,17	0,09
47	10.08	17.3	47.4	47.0	17.1	36.4	195.02	186.02	0.77605	0.05644	0.71961	12.0	0,0	6,24	0,24	0,24	3,24	1,44	0,60	5,28	0,00
49	10.47	18.0	51.1	49.0	17.2	35.3	26.41	460.19	0.47974	0.21165	0.26809	13.2	0,3	6,47	0,26	0,00	4,75	0,92	0,40	6,07	0,13
100	8.54	14.7	39.9	47.0	17.2	36.8	75.26	162.16	0.47974	0.08466	0.39508	25.7	0,5	19,79	0,00	0,00	4,11	0,51	0,26	4,88	0,51
116	8.68	15.1	41.5	48.0	17.5	36.5	17.66	458.14	0.5644	0.09877	0.46563	12.7	0,5	6,48	0,13	0,00	3,94	1,27	0,25	5,46	0,13
128	10.09	15.6	41.8	41.0	15.5	37.3	93.7	317.2	0.57851	0.15521	0.03	11.1	0,2	5,11	0,11	0,00	5,22	0,22	0,11	5,55	0,11
140	7.37	12.2	31.4	43.0	16.5	38.7	137.4	231.1	0.43741	0.04233	0.028	15.6	0,0	4,84	0,00	0,00	8,42	1,87	0,31	10,61	0,16
153	9.64	16.2	43.3	45.0	16.8	37.4	97.9	270.5	0.59262	0.01411	0.041	8.7	0,0	4,00	0,70	0,00	3,39	0,17	0,35	3,92	0,09
162	7.45	12.7	33.7	45.0	17.1	37.7	107.3	182.0	0.80427	0.15521	0.046	10.4	0,1	4,16	0,21	0,00	5,51	0,21	0,10	5,82	0,10
166	9.28	15.9	41.8	45.0	17.1	37.9	172.9	216.4	0.86071	0.08466	0.055	9.6	0,1	4,13	0,58	0,19	3,94	0,19	0,29	4,42	0,19
217	11.17	17.3	45.8	41.0	15.5	37.7	159.5	236.1	0.55029	0	0.039	11.1	0,0	4,11	0,33	0,11	5,99	0,22	0,22	6,44	0,11
220	8.83	12.8	35.5	40.0	14.5	36.0	103.9	167.2	0.91715	0.11288	0.057	11.2	0,0	5,49	0,45	0,34	3,92	1,01	0,00	4,93	0,00
257	9.93	15.9	43.9	44.0	16.0	36.2	179.4	341.8	0.43741	0.01411	0.03	8.0	0,0	3,28	0,32	0,24	3,60	0,32	0,16	4,08	0,08
270	9.03	13.4	38.1	42.0	14.9	35.3	128.9	201.6	0.66317	0.07055	0.042	10.7	0,0	5,46	0,11	0,00	3,00	0,96	0,96	4,92	0,21
285	10.61	16.8	45.2	43.0	15.8	37.1	114.2	233.6	0.86071	0.15521	0.05	8.8	0,0	5,37	0,18	0,00	2,55	0,26	0,35	3,17	0,09
305	8.96	14.7	38.5	43.0	16.4	38.3	107.5	241.0	0.66317	0	0.047	10.0	0,1	5,30	0,50	0,10	3,10	0,90	0,00	4,00	0,00
315	8.05	12.6	36.0	45.0	15.7	35.0	38.1	182.0	0.66317	0.19754	0.033	12.9	0,0	6,71	0,39	0,13	4,52	0,39	0,39	5,29	0,39
317	10.51	16.5	45.2	43.0	15.7	36.4	130.4	272.9	0.71961	0.1411	0.041	12.2	0,0	5,86	0,37	0,24	3,90	1,10	0,73	5,73	0,00

He - Número de hemácias ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )



Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **número 3** (preparação dos animais).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	9.0	14.9	44.3	49.0	16.6	33.6	144.34	245.91	0.74783	0.26809	0.47974	11.8	0,2	4,37	0,47	0,12	3,89	1,77	0,83	6,49	0,12
26	11,00	16,5	48,6	44,00	15,00	33,9	207,25	287,93	1,15702	0,16932	0,9877	12,0	0,2	6,60	0,00	0,12	3,72	0,72	0,24	4,68	0,36
33	8,91	15,2	43,7	49,00	17,00	34,8	165,63	79,2	0,39508	0,1411	0,25398	9,4	0,1	3,95	0,38	0,00	4,79	0,28	0,00	5,08	0,09
47	9,77	15,6	45,6	47,0	16,0	34,3	197,98	246,11	0,9877	0,05644	0,93126	10,7	0,0	5,35	0,54	0,00	3,64	0,64	0,43	4,71	0,11
49	8,35	14,1	39,9	48,0	16,8	35,2	218,66	250,66	0,7055	0,11288	0,59262	11,9	0,0	5,95	0,60	0,12	4,76	0,36	0,12	5,24	0,00
100	8,8	14,0	40,7	46,0	15,9	34,4	86,51	162,44	0,63495	0,23987	0,39508	23,4	0,7	15,68	0,23	0,00	4,91	1,64	0,23	6,79	0,00
116	9,56	15,4	45,1	47,0	16,1	34,2	150,14	154,75	0,69139	0,12699	0,5644	12,7	0,1	5,97	0,13	0,00	5,33	0,89	0,25	6,48	0,00
128	9,85	15,1	40,2	41,0	15,3	37,6	71,5	304,9	1,11469	0,12699	0,07	13,4	0,3	7,91	0,27	0,00	4,15	0,27	0,40	4,82	0,13
140	8,74	14,1	37,0	42,0	16,2	38,2	45,9	236,1	0,69139	0,07055	0,044	20,1	0,0	10,45	0,00	0,00	8,64	0,60	0,20	9,45	0,20
153	8,59	13,8	37,8	44,0	16,1	36,6	54,3	211,5	0,50796	0,12699	0,027	10,9	0,0	5,01	0,87	0,00	4,25	0,22	0,44	4,91	0,11
162	9,96	16,6	45,1	45,0	16,7	36,9	0,0	0,0	1,21346	0,07055	0,081	14,6	0,0	5,84	0,29	0,15	5,40	2,19	0,44	8,03	0,29
166	9,27	15,4	41,7	45,0	16,6	36,8	138,1	0,0	1,31223	0,11288	0,085	12,5	0,1	6,88	0,63	0,00	4,38	0,13	0,13	4,63	0,25
217	10,93	16,5	44,5	41,0	15,1	37,1	359,00	0,0	0,95948	0,12699	0,059	11,8	0,1	5,31	0,12	0,24	4,84	0,59	0,47	5,90	0,12
220	10,45	15,6	41,8	40,0	15,0	37,4	129,8	110,7	0,91715	0,05644	0,061	13,8	0,0	7,45	0,14	0,00	4,28	1,66	0,28	6,21	0,00
257	9,31	15,2	40,4	43,0	16,3	37,7	150,4	68,8	0,81838	0,08466	0,052	9,8	0,2	4,12	0,20	0,00	3,92	1,08	0,20	5,19	0,10
270	10,2	15,9	42,7	42,0	15,6	37,2	108,6	250,8	0,64906	0,08466	0,04	14,2	0,1	8,52	0,28	0,14	4,26	0,28	0,14	4,69	0,43
285	9,77	15,3	41,2	42,0	15,7	37,2	45,5	218,8	0,74783	0,11288	0,045	12,3	0,0	7,26	0,12	0,25	4,06	0,37	0,25	4,67	0,00
305	10,56	17,00	44,9	43,0	16,1	37,8	125,4	194,3	0,55029	0	0,039	12,2	0,2	6,59	0,24	0,00	3,54	0,85	0,37	4,76	0,37
315	9,56	13,4	42,3	44,0	14,0	31,7	220,0	0,0	0,60673	0,02822	0,041	15,0	0,3	6,90	0,60	0,00	5,40	1,20	0,60	7,20	0,00
317	9,96	14,1	42,0	42,0	14,2	33,6	500,9	0,0	1,03003	0,11288	0,065	14,8	0,4	7,25	0,15	0,30	5,77	0,30	0,30	6,36	0,30

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **momento 4** (preparação dos animais).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	8.64	15.1	42.6	49.0	17.5	35.5	136.19	253.01	0.76194	0.08466	0.67728	11.2	0,3	4,03	0,22	0,34	4,26	1,46	0,34	6,05	0,22
26	9.82	15.3	43.4	44.0	15.6	35.3	141.65	239.29	0.97359	0.11288	0.86071	10.6	0,0	5,19	0,32	0,11	4,45	0,21	0,21	4,88	0,11
33	8.25	14.4	40.7	49.0	17.4	35.4	153.55	85.33	0.35275	0.05644	0.29631	8.2	0,2	4,26	0,33	0,00	2,13	0,49	0,74	3,36	0,08
47	10.35	17.2	48.7	47.0	16.6	35.3	185.66	216.63	0.81838	0.07055	0.74783	9.8	0,1	4,61	0,69	0,20	3,72	0,20	0,29	4,21	0,00
49	9.45	16.0	45.2	48.0	16.9	35.4	129.63	134.91	0.7055	0.12699	0.57851	11.6	0,1	5,22	0,58	0,12	4,06	0,93	0,46	5,45	0,12
100	10.08	15.7	47.0	47.0	15.5	33.3	137.22	208.39	0.39508	0.05644	0.33864	16.6	0,3	10,46	0,33	0,33	4,65	0,17	0,17	4,98	0,17
116	9.54	15.3	44.9	47.0	16.0	34.1	192.71	229.54	0.53618	0.22576	0.31042	12.3	0,0	6,03	0,37	0,12	4,18	0,74	0,49	5,41	0,37
128	10.06	15.8	41.2	41.0	15.8	38.5	70.2	182.0	1.03003	0.1411	0.063	15.4	0,3	8,93	0,15	0,00	3,23	1,39	1,08	5,70	0,31
140	8.39	13.7	35.9	43.0	16.3	38.1	91.7	211.5	0.76194	0.18343	0.041	19.0	0,0	9,88	0,19	0,00	7,41	1,14	0,00	8,55	0,38
153	8.23	13.7	36.3	44.0	16.7	37.7	95.1	290.2	0.95948	0.31042	0.046	10.9	0,0	7,41	0,00	0,11	2,51	0,44	0,33	3,27	0,11
162	10.06	17.0	45.7	45.0	16.9	37.2	132.9	125.4	1.2699	0.22576	0.074	13.5	0,0	6,75	0,41	0,00	4,46	1,35	0,27	6,08	0,27
166	9.32	15.4	42.1	45.0	16.6	36.7	73.8	159.8	1.14291	0.2822	0.061	13.5	0,3	7,56	0,27	0,00	2,16	1,62	1,35	5,13	0,27
217	11.49	17.7	47.1	41.0	15.4	37.6	120.8	226.2	1.04414	0.22576	0.058	15.9	0,0	10,34	0,00	0,00	4,29	0,80	0,32	5,41	0,16
220	9.38	14.2	37.5	40.0	15.2	38.0	116.8	231.1	0.94537	0.18343	0.054	17.5	0,0	10,85	0,53	0,18	5,78	0,00	0,00	5,78	0,18
257	9.75	15.8	44.2	45.0	16.2	35.7	142.0	241.0	0.71961	0.16932	0.039	11.1	0,0	5,11	0,11	0,00	4,22	1,11	0,22	5,55	0,33
270	10.45	16.4	43.7	42.0	15.7	37.6	142.1	263.1	1.19935	0.25398	0.067	14.6	0,0	10,95	0,44	0,15	2,19	0,29	0,15	2,63	0,44
285	8.17	12.8	34.5	42.0	15.6	37.0	64.7	329.5	1.11469	0.23987	0.062	17.2	0,0	13,59	0,00	0,00	2,75	0,52	0,17	3,44	0,17
305	10.0	15.9	43.0	43.0	15.9	37.0	121.1	233.6	0.71961	0.16932	0.039	15.0	0,2	8,70	0,45	0,15	3,30	1,50	0,60	5,40	0,15
315	8.12	13.0	35.8	44.0	16.1	36.4	109.6	182.0	0.53618	0.09877	0.031	13.7	0,0	6,71	0,14	0,00	5,48	0,55	0,41	6,44	0,41
317	10.42	16.0	44.5	43.0	15.3	36.0	186.7	186.9	0.93126	0.12699	0.057	16.8	0,2	8,90	0,50	0,00	6,38	0,34	0,34	7,06	0,17

He - Número de hemácias ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF- Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro) ( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **momento 5** (preparação dos animais).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	8.03	13.5	38.8	48.0	16.9	34.9	112.23	240.13	0.97359	0.1411	0.83249	11.0	0,1	3,96	0,00	0,11	5,06	1,32	0,44	6,82	0,00
26	10.73	15.9	47.1	44.0	14.8	33.8	140.08	194.1	1.36867	0.16932	1.19935	9.9	0,0	3,47	0,30	0,00	5,74	0,20	0,10	6,04	0,10
33	8.26	13.5	39.8	48.0	16.4	34.0	180.79	62.03	0.71961	0.1411	0.57851	7.3	0,1	3,50	0,22	0,07	3,07	0,29	0,07	3,43	0,00
47	9.82	15.5	45.6	46.0	15.8	33.9	156.7	164.16	1.58032	0.15521	1.42511	8.8	0,1	3,78	0,26	0,26	3,34	0,70	0,26	4,31	0,09
49	8.66	13.9	40.9	47.0	16.1	34.1	140.74	171.82	1.34045	0.22576	1.11469	10.1	0,1	4,75	0,40	0,00	4,04	0,61	0,10	4,75	0,10
100	8.69	13.7	39.8	46.0	15.7	34.4	88.73	236.9	1.03003	0.16932	0.86071	19.5	0,8	14,04	0,00	0,00	4,10	0,39	0,00	4,49	0,20
116	10.19	16.4	47.6	47.0	16.1	34.4	134.57	160.86	0.86071	0.04233	0.81838	10.5	0,0	4,94	0,21	0,11	4,52	0,74	0,00	5,25	0,00
128	9.95	15.1	40.3	41.0	15.2	37.4	72.4	211.5	0.19754	0	0.014	13.5	0,1	7,70	0,14	0,14	3,92	0,54	0,68	5,13	0,27
140	9.39	15.0	39.0	42.0	15.9	38.4	82.4	287.7	103.003	0.08466	0.067	17.3	0,2	8,65	0,00	0,00	7,44	0,87	0,17	8,48	0,00
153	7.51	12.6	32.7	44.0	16.8	38.5	102.9	272.9	0.50796	0.09877	0.029	12.9	0,3	5,93	0,26	0,13	4,77	0,77	0,39	5,93	0,39
162	8.84	14.6	39.2	44.0	16.5	37.1	92.0	140.2	0.80427	0.19754	0.043	12.9	0,0	4,64	0,52	0,00	6,06	0,65	0,77	7,48	0,26
166	10.3	17.0	46.0	45.0	16.5	36.9	60.0	248.3	1.01592	0.07055	0.067	15.7	0,0	7,85	0,16	0,16	5,65	0,63	0,94	7,22	0,31
217	11.17	15.1	44.7	40.0	13.5	33.8	65.7	295.1	0.9877	0.15521	0.059	11.9	0,1	5,71	0,12	0,00	5,47	0,00	0,36	5,83	0,12
220	10.51	14.5	41.6	40.0	13.8	34.9	170.1	0.0	0.88893	0.19754	0.049	14.8	0,0	8,58	0,15	0,15	2,66	2,81	0,30	5,77	0,15
257	9.98	15.3	43.1	43.0	15.3	35.4	105.5	354.1	0.91715	0.08466	0.059	9.4	0,0	4,23	0,28	0,00	4,04	0,56	0,00	4,61	0,28
270	10.89	16.1	45.2	42.0	14.7	35.5	110.9	218.8	1.17113	0.19754	0.069	9.7	0,0	4,56	0,19	0,10	3,20	0,87	0,49	4,56	0,29
285	8.63	13.3	35.8	41.0	15.4	37.2	90.9	349.2	0.11288	0.1411	-0.002	13.3	0,1	7,05	0,40	0,13	4,66	0,27	0,53	5,45	0,13
305	11.3	17.6	47.9	42.0	15.6	36.8	110.9	297.5	0.79016	0.36686	0.03	11.8	0,1	5,78	0,12	0,00	4,37	0,94	0,35	5,66	0,12
315	9.12	14.9	40.0	44.0	16.3	37.1	121.5	275.4	0.62084	0.12699	0.035	11.9	0,1	6,66	0,12	0,00	3,81	0,95	0,12	4,88	0,12
317	10.23	15.00	43.0	42.0	14.7	34.9	127.6	344.2	0.79016	0.35275	0.031	14.2	0,0	7,67	0,57	0,14	4,97	0,57	0,14	5,68	0,14

He - Número de hemácias ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (*f*);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (md/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (capacidade de ligação de ferro) (*mg/dl*);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (*mg/dl*);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (*mg/dl*);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (*mg/dl*);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **número 6** (antes da sangria exploratória).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	8.56	14.3	41.4	48.0	16.8	34.7	112.05	228.96	1,2699	0.07055	1,19935	13.2	0,1	5,15	0,00	0,00	6,20	1,06	0,13	7,39	0,53
26	9.99	14.7	43.4	43.0	14.7	33.8	170.34	306.18	1,50977	0.16932	1,34045	10.3	0,0	5,36	0,21	0,00	3,91	0,41	0,10	4,43	0,31
33	8.79	14.2	42.1	48.0	16.2	33.8	172.03	125.52	0.97359	0.11288	0.86071	8.7	0,0	3,39	0,17	0,00	4,79	0,26	0,09	5,13	0,00
47	10.35	16.4	47.9	46.0	15.8	34.2	147.99	230.96	1,60854	0.22576	1,38278	9.2	0,0	3,50	0,37	0,18	4,97	0,00	0,00	4,97	0,18
49	8.78	14.1	41.0	47.0	16.1	34.4	167.5	209.98	1,19935	0.08466	1,11469	10.4	0,2	5,82	0,21	0,10	3,22	0,42	0,42	4,06	0,00
100	8.71	13.5	39.3	45.0	15.5	34.4	79.44	207.09	0.91715	0.01411	0.90304	20.9	0,2	13,17	0,21	0,00	6,90	0,00	0,00	6,90	0,42
116	9.96	15.6	45.9	46.0	15.6	33.9	130.45	157.44	1,03003	0.11288	0.91715	10.2	0,0	5,20	0,51	0,10	3,88	0,20	0,31	4,39	0,00
128	9.54	15.9	38.3	40.0	16.7	41.5	69.8	304.9	0.66317	0.16932	0.035	12.5	0,1	5,25	0,13	0,13	4,75	1,25	0,38	6,38	0,38
140	8.57	15.00	36.1	42.0	17.5	41.4	68.8	312.3	1,46744	0.12699	0.095	20.6	0,2	12,98	0,21	0,00	5,77	1,24	0,00	7,00	0,21
153	8.47	15.7	37.0	44.0	18.6	42.6	53.0	287.7	0.66317	0.29631	0.026	11.3	0,0	7,01	0,23	0,00	3,50	0,11	0,34	3,96	0,11
162	8.49	15.7	38.1	45.0	18.4	41.1	88.9	243.4	1,11469	0.190485	0.0655	16.1	0,2	6,76	0,00	0,00	4,99	1,93	1,93	8,86	0,32
166	9.42	17.2	42.2	45.0	18.2	40.7	65.9	209.0	0.86071	0.12699	0.052	17.5	0,0	9,80	0,35	0,18	6,13	0,35	0,53	7,00	0,18
217	10.83	17.7	43.6	40.0	16.4	40.7	77.1	272.9	1,03003	0.12699	0.064	15.3	0,2	8,42	0,46	0,00	5,05	0,31	0,31	5,66	0,61
220	10.06	16.1	39.7	39.0	16.0	40.5	93.3	275.4	1,28401	0.19754	0.077	11.3	0,1	4,86	0,45	0,11	4,97	0,45	0,11	5,54	0,23
257	9.66	16.7	42.0	43.0	17.3	39.7	81.8	339.3	0.83249	0.09877	0.052	10.4	0,0	4,26	0,10	0,00	4,58	0,94	0,52	6,03	0,00
270	10.58	18,00	44.1	42.0	17,00	40.9	134.0	275.4	1,62265	0.16932	0.103	9.6	0,0	5,76	0,10	0,10	3,07	0,38	0,10	3,55	0,10
285	8.56	13.9	35.6	42.0	16.3	39.2	42.4	304.9	1,01592	0.15521	0.061	11.4	0,0	6,27	0,11	0,23	4,79	0,00	0,00	4,79	0,00
305	9.41	15.3	39.6	42.0	16.3	38.5	80.3	295.1	0.90304	0.11288	0.056	12.3	0,0	5,90	0,12	0,12	4,80	0,86	0,37	6,03	0,12
315	8.28	14.6	36.2	44.0	17.6	40.4	69.9	314.7	0.73372	0.33864	0.028	15.0	0,5	10,50	0,00	0,00	3,15	0,75	0,00	3,90	0,15
317	10.18	17.1	42.9	42.0	16.7	39.7	115.6	285.2	0.83249	0.11288	0.051	12.3	0,0	5,17	0,49	0,00	4,55	1,85	0,25	6,64	0,00

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade de ligação do ferro) (mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **momento 7** (antes da 1ª sangria de produção).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	8.61	14.2	42.1	49.0	16.5	33.9	123.68	188.86	1.11469	0.09877	1.01592	13.3	0,0	5,45	0,40	0,00	6,65	0,40	0,13	7,18	0,27
26	9.56	14.5	43.0	45.0	15.2	33.8	157.67	317.06	1.53799	0.09877	1.43922	12.2	0,1	0,12	6,59	0,37	0,00	3,66	0,73	4,39	0,49
33	8.87	14.4	44.5	50.0	16.3	32.4	146.54	84.03	0.76194	0.07055	0.69139	10.5	0,1	4,83	0,42	0,11	3,57	1,05	0,32	4,94	0,11
47	9.17	14.7	42.5	46.0	16.1	34.6	216.38	258.39	1.38278	0.11288	1.2699	9.4	0,1	4,89	0,56	0,00	2,73	0,56	0,28	3,57	0,28
49	8.82	14.1	42.3	48.0	16.0	33.4	161.26	167.33	1.14291	0.07055	1.07236	12.1	0,0	6,17	0,24	0,00	3,51	2,06	0,00	5,57	0,12
100	8.4	13.0	38.5	46.0	15.4	33.7	68.4	172.55	1.28401	0.01411	1.2699	23.2	0,2	14,85	0,93	0,23	5,10	0,93	0,23	6,26	0,70
116	10.27	16.0	48.1	47.0	15.6	33.3	161.04	146.03	1.00181	0	1.00181	11.1	0,1	4,77	0,11	0,00	4,88	0,56	0,44	5,88	0,22
128	9.4	16.3	38.0	40.0	17.3	42.8	132.9	118.0	0.55029	0.12699	0.03	11.0	0,0	5,72	0,11	0,11	3,74	0,77	0,22	4,73	0,33
140	8.4	15.2	36.0	43.0	18.1	42.2	74.1	272.9	0.74783	0.16932	0.041	26.5	0,3	14,31	0,00	0,00	11,13	0,00	0,53	11,66	0,27
153	9.29	15.5	41.2	44.0	16.7	37.6	123.9	204.1	0.7055	0.01411	0.049	10.8	0,0	5,83	0,11	0,00	4,75	0,11	0,00	4,86	0,00
162	8.51	14.8	38.1	45.0	17.4	38.8	112.2	196.7	0.8466	0.12699	0.051	12.9	0,0	5,55	0,52	0,00	6,32	0,39	0,13	6,84	0,00
166	9.02	16.0	40.4	45.0	17.7	39.6	123.4	150.0	0.76194	0.11288	0.046	13.3	0,0	7,45	0,27	0,27	4,39	0,67	0,13	5,19	0,13
217	9.95	16.8	40.5	41.0	16.9	41.4	363.4	0.0	0.73372	0.04233	0.049	16.1	0,2	9,18	0,81	0,00	4,99	0,81	0,00	5,80	0,16
220	9.7	16.0	38.7	40.0	16.5	41.3	120.0	327.0	0.81838	0.16932	0.046	11.5	0,2	4,95	0,46	0,00	5,29	0,35	0,12	5,75	0,12
257	9.7	16.0	38.7	40.0	16.5	41.3	211.2	0.0	0.60673	0.91715	-0.022	11.5	0,1	4,83	0,35	0,23	4,03	1,38	0,46	5,87	0,12
270	9.33	14.8	38.8	42.0	15.9	38.2	135.8	295.1	1.2699	0.18343	0.077	10.8	0,0	5,08	0,11	0,22	3,89	1,19	0,22	5,29	0,11
285	9.18	15.3	38.5	42.0	16.7	39.7	202.6	0.0	0.91715	0.18343	0.052	13.7	0,3	7,81	0,14	0,00	4,66	0,55	0,14	5,34	0,14
305	9.42	15.3	40.4	43.0	16.2	37.8	117.4	314.7	0.76194	0.09877	0.047	12.0	0,4	6,96	0,24	0,12	3,96	0,00	0,24	4,20	0,12
315	7.41	13.1	32.5	44.0	17.7	40.4	29.8	371.3	0.49385	0.11288	0.027	14.9	0,0	8,79	0,30	0,30	4,02	1,04	0,30	5,36	0,15
317	9.95	17.3	42.5	43.0	17.4	40.7	799.7	0.0	0.66317	0.01411	0.046	12.9	0,0	5,42	0,52	0,00	4,52	1,29	0,90	6,71	0,26

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **momento 8** (após a 1ª sangria de produção).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	7.87	13.0	38.2	49.0	16.5	34.0	99.9	271.53	0.94537	0.11288	0.83249	11.1	0,0	4,00	0,33	0,00	5,44	0,44	0,67	6,55	0,22
26	9.52	13.9	42.6	45.0	14.7	32.8	149.11	305.11	1,411	0.07055	1,34045	10.9	0,1	6,21	0,55	0,00	3,05	0,22	0,44	3,71	0,33
33	9.31	15.5	46.7	50.0	16.6	33.1	142.9	96.45	0.7055	0.18343	0.52207	8.4	0,0	3,61	0,34	0,08	3,61	0,34	0,34	4,28	0,08
47	9.33	14.9	43.2	46.0	16.0	34.5	187.3	264.78	1,31223	0.21165	1,10058	8.7	0,1	4,00	0,35	0,09	3,39	0,35	0,26	4,00	0,17
49	9.62	15.6	46.5	48.0	16.2	33.5	147.05	171.14	1,24168	0.18343	1,05825	10.4	0,0	5,93	0,21	0,00	3,22	0,52	0,31	4,06	0,21
100	8.3	12.8	38.1	46.0	15.4	33.5	65.79	185.78	1,11469	0	1,11469	21.5	0,0	17,63	0,22	0,00	3,01	0,22	0,43	3,66	0,00
116	9.81	15.3	45.7	47.0	15.6	33.5	133.19	187.52	0.93126	0.04233	0.88893	10.8	0,0	4,64	0,54	0,11	5,08	0,00	0,00	5,08	0,11
128	8.2	13.5	32.9	40.0	16.4	41.0	84.9	290.2	0.55029	0.15521	0.028	10.9	0,2	6,76	0,11	0,00	3,71	0,11	0,00	3,82	0,00
140	8.01	14.2	34.3	43.0	17.7	41.4	38.2	373.8	1,10058	0.19754	0.064	24.4	0,5	16,10	0,00	0,00	5,12	2,44	0,00	7,56	0,24
153	7.6	13.9	33.3	44.0	18.3	41.8	108.6	290.2	0.67728	0.39508	0.02	11.1	0,0	5,55	0,11	0,00	4,22	0,78	0,11	5,11	0,33
162	7.1	13,00	31.7	45.0	18.4	41.1	73.7	243.4	0.67728	0.12699	0.039	11.4	0,0	5,70	0,11	0,11	4,79	0,57	0,00	5,36	0,11
166	8.41	15.8	37.4	44.0	18.8	42.2	85.5	236.1	0.60673	0.08466	0.037	12.7	0,3	4,70	0,38	0,13	5,46	1,02	0,38	6,86	0,38
217	9.81	16.5	39.8	41.0	16.8	41.5	301.5	0.0	0.66317	0.04233	0.044	15.7	0,2	8,48	0,31	0,00	3,14	2,20	1,26	6,59	0,16
220	8.78	14.9	34.8	40.0	17.0	42.8	132.9	150.0	0.67728	0.11288	0.04	11.5	0,0	4,95	0,46	0,23	4,37	1,04	0,35	5,75	0,12
257	8.46	14.0	37.8	45.0	16.5	37.0	184.9	0.0	0.5644	0.4233	0.01	9.3	0,0	4,09	0,65	0,00	4,09	0,47	0,00	4,56	0,00
270	8.56	14.1	35.2	41.0	16.5	39.9	176.4	189.3	1,28401	0.1411	0.081	9.6	0,0	5,09	0,58	0,10	3,46	0,29	0,00	3,74	0,10
285	8.15	14.0	34.4	42.0	17.2	40.8	76.4	346.7	0.62084	0.33864	0.02	11.5	0,0	8,28	0,12	0,00	2,30	0,46	0,12	2,88	0,23
305	9.5	16.3	40.7	43.0	17.2	40.0	128.9	277.9	0.80427	0.15521	0.046	10.6	0,1	6,25	0,00	0,00	3,71	0,21	0,21	4,13	0,11
315	6.86	12.1	30.1	44.0	18.0	40.9	29.3	263.1	0.50796	0.04233	0.033	14.2	0,1	8,38	0,14	0,14	5,11	0,14	0,00	5,25	0,14
317	9.44	16.3	40.2	43.0	17.2	40.5	100.0	319.7	0.60673	0.11288	0.035	12.8	0,0	7,17	0,00	0,00	4,74	0,51	0,26	5,50	0,13

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **momento 9** (antes da 2ª sangria de produção).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	6.93	11.2	33.3	48.0	16.2	33.7	197.93	359.81	0.88893	0.18343	0.7055	11.2	0,1	3,92	0,34	0,11	6,38	0,00	0,34	6,72	0,00
26	8.52	12.5	32.2	44.0	14.7	33.7	41.36	616.46	1.65087	0.26809	1.38278	11.7	0,0	6,20	0,23	0,00	5,03	0,12	0,12	5,27	0,00
33	8.07	13.3	38.8	48.0	16.4	34.2	62.79	623.99	0.80427	0.12699	0.67728	10.2	0,0	4,18	0,31	0,00	5,10	0,51	0,00	5,61	0,10
47	7.94	12.4	36.4	46.0	15.6	34.1	41.3	620.03	1.34045	0.19754	1.14291	9.2	0,1	4,32	0,18	0,00	4,23	0,28	0,09	4,60	0,00
49	7.91	12.6	37.2	47.0	15.9	33.8	44.03	620.97	1.11469	0.21165	0.90304	14.2	0,0	7,53	0,00	0,43	4,12	1,28	0,57	5,96	0,28
100	6.92	10.7	31.2	45.0	15.4	34.3	132.5	275.25	0.80427	0.23987	0.5644	24.7	0,5	16,30	0,74	0,00	5,93	0,74	0,00	6,67	0,25
116	8.11	12.6	37.3	46.0	15.6	33.9	312.71	399.34	0.79016	0.15521	0.63495	12.3	0,2	5,78	0,49	0,12	4,06	0,98	0,37	5,41	0,25
128	7.5	13.1	29.9	40.0	17.5	43.9	89.9	309.8	0.49385	0.11288	0.027	11.9	0,1	5,00	0,00	0,00	4,88	1,07	0,60	6,55	0,24
140	5.83	10.7	24.2	41.0	18.3	44.1	102.1	366.4	1.05825	0.1411	0.065	26.0	0,3	16,90	0,26	0,26	5,72	1,82	0,52	8,06	0,26
153	5.97	11.0	25.6	43.0	18.4	42.7	156.9	194.3	0.43741	0.08466	0.025	11.0	0,0	5,17	0,00	0,00	4,73	0,77	0,33	5,83	0,00
162	6.53	11.3	28.7	44.0	17.3	39.4	97.2	213.9	0.69139	0.1411	0.039	13.8	0,0	6,90	0,14	0,14	5,80	0,69	0,00	6,49	0,14
166	7.34	12.9	32.3	44.0	17.5	39.8	47.0	255.7	0.67728	0.21165	0.033	13.0	0,0	7,15	0,13	0,13	3,90	1,17	0,52	5,59	0,00
217	8.53	14.0	33.8	40.0	16.5	41.6	115.8	196.7	1.49566	0.1411	0.096	17.0	0,2	10,20	0,17	0,00	5,95	0,17	0,17	6,29	0,17
220	8.77	14.4	34.2	39.0	16.4	42.1	102.0	292.6	0.35275	0.07055	0.02	12.4	0,1	5,70	0,37	0,00	3,10	2,11	0,74	5,95	0,25
257	6.97	12.4	29.8	43.0	17.8	41.7	153.2	206.5	0.16932	-0.07055	0.017	9.5	0,0	4,75	0,48	0,00	3,52	0,29	0,29	4,09	0,19
270	8.22	14.3	33.8	41.0	17.4	42.4	313.2	122.9	0.90304	0.15521	0.053	10.5	0,0	4,83	0,21	0,11	3,57	1,26	0,53	5,36	0,00
285	6.43	11.1	26.6	41.0	17.2	41.6	130.4	263.1	0.38097	0.02822	0.025	12.3	0,1	7,01	0,25	0,12	3,81	0,62	0,25	4,67	0,12
305	8.96	15.8	37.6	42.0	17.7	42.0	202.1	213.9	0.50796	0.11288	0.028	14.4	0,3	5,04	0,14	0,00	5,04	2,45	1,01	8,50	0,43
315	5.85	10.9	25.3	43.0	18.7	43.2	75.1	282.8	0.31042	0.07055	0.017	14.9	0,1	8,49	0,00	0,15	4,02	1,49	0,30	5,81	0,30
317	7.89	13.9	32.8	42.0	17.7	42.5	242.0	218.8	0.59262	0.18343	0.029	13.2	0,1	6,60	0,13	0,26	5,54	0,40	0,00	5,94	0,13

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma *momento 10* (após a 2ª sangria de produção).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	6.41	10.5	30.7	48.0	16.4	34.3	217,00	473.28	0.76194	0.12699	0.63495	9.3	0,0	3,16	0,19	0,00	4,93	0,84	0,19	5,95	0,00
26	7.43	10.8	32.2	43.0	14.6	33.6	311.3	614.67	1.32634	0.22576	1.10058	9.9	0,1	3,96	0,50	0,00	4,75	0,30	0,20	5,25	0,10
33	6.2	10.3	29.5	48.0	16.6	34.8	447.9	616.2	0.64906	0.02822	0.62084	7.2	0,0	3,46	0,22	0,00	3,10	0,29	0,07	3,46	0,07
47	8.1	12.8	37.1	46.0	15.8	34.4	375.7	622.77	1.35456	0.19754	1.15702	8.5	0,0	3,74	0,34	0,09	3,49	0,60	0,17	4,25	0,09
49	7.86	12.8	36.9	47.0	16.3	34.8	427.3	628.15	0.97359	0.39508	0.57851	11.1	0,0	5,33	0,22	0,00	4,22	0,67	0,67	5,55	0,00
100	6.91	10.6	31.0	45.0	15.3	34.1	110.6	350.15	0.81838	0.16932	0.64906	22.7	0,2	17,03	0,23	0,23	3,41	0,45	0,23	4,09	0,91
116	8.14	12.5	37.3	46.0	15.6	33.6	273.0	483.17	0.74783	0.09877	0.64906	11.8	0,1	6,37	0,35	0,00	3,42	0,83	0,47	4,72	0,24
128	7.1	11.8	28.0	39.0	16.7	42.3	79.7	275.4	0.4233	0.11288	0.022	9.0	0,0	5,31	0,09	0,00	2,88	0,45	0,09	3,42	0,18
140	6.25	11.2	25.8	41.0	18.0	43.6	63.7	304.9	0.80427	0.21165	0.042	22.9	0,0	14,66	0,23	0,00	6,18	1,83	0,00	8,02	0,00
153	6.25	11.6	26.8	43.0	18.6	43.3	172.5	218.8	0.38097	0.08466	0.021	9.0	0,1	4,23	0,09	0,09	3,87	0,45	0,00	4,32	0,18
162	6.11	11.5	26.9	44.0	18.8	42.7	102.1	228.7	0.57851	0.16932	0.029	11.5	0,1	4,60	0,46	0,00	4,14	1,04	0,92	6,10	0,23
166	6.74	12.3	29.6	44.0	18.2	41.4	50.1	213.9	0.5644	0.11288	0.032	10.9	0,3	6,10	0,22	0,00	3,27	0,55	0,44	4,25	0,00
217	7.69	12.9	30.4	40.0	16.8	42.4	119.7	216.4	0.5644	0.22576	0.024	15.1	0,0	10,27	0,15	0,15	3,62	0,30	0,30	4,23	0,30
220	7.84	12.3	30.6	39.0	15.7	40.4	111.5	344.2	0.69139	0.09877	0.042	9.8	0,1	5,98	0,29	0,20	3,14	0,00	0,00	3,14	0,10
257	6.06	10.9	25.7	42.0	18.0	42.4	160.3	248.3	0.40919	0.11288	0.021	7.1	0,1	3,48	0,64	0,07	2,49	0,14	0,07	2,70	0,14
270	7.88	13.5	32.3	41.0	17.1	41.7	276.9	120.5	0.86071	0.09877	0.054	9.8	0,0	5,10	0,20	0,20	3,92	0,20	0,20	4,31	0,00
285	6.28	11.1	25.8	41.0	17.6	42.9	130.1	228.7	0.39508	0.25398	0.01	11.2	0,2	7,50	0,22	0,11	2,80	0,34	0,00	3,14	0,00
305	8.8	15.6	37.0	42.0	17.8	42.2	204.4	213.9	0.45152	0.09877	0.025	12.1	0,1	5,69	0,00	0,12	3,15	1,69	1,09	5,93	0,24
315	5.97	11.0	25.7	43.0	18.5	42.9	101.1	307.4	0.40919	0.11288	0.021	16.1	0,3	11,27	0,16	0,16	3,70	0,00	0,48	4,19	0,00
317	8.08	13.9	33.7	42.0	17.2	41.2	195.5	159.8	0.52207	0.15521	0.026	11.8	0,1	4,25	0,00	0,00	7,20	0,12	0,00	7,32	0,12

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )



Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **número 11** (após a plasmáfereze).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	7.38	12.1	35.5	48.0	16.4	34.1	153.38	456.97	1,07236	0.18343	0.88893	14.0	0,4	8,12	0,42	0,14	3,36	0,56	0,42	4,34	0,56
26	9.05	13.4	39.5	44.0	14.8	33.8	225.79	494.36	1,31223	0.11288	1,19935	12.3	0,0	6,77	0,25	0,12	3,32	1,11	0,37	4,80	0,37
33	8.58	13.8	41.4	48.0	16.1	33.2	53.41	601.78	0.66317	0.04233	0.62084	12.2	0,1	4,76	0,00	0,00	4,39	1,22	1,34	6,95	0,37
47	9.79	15.3	45.3	46.0	15.6	33.8	267.58	490.91	1,28401	0.08466	1,19935	14.2	0,3	9,09	0,00	0,00	3,12	0,99	0,28	4,40	0,43
49	8.71	14.1	40.9	47.0	16.2	34.4	280.63	487.47	0.97359	0.12699	0.8466	12.0	0,1	7,08	0,24	0,00	2,64	0,96	0,84	4,44	0,12
100	8.59	13.1	39.0	45.0	15.3	33.7	102.93	337.9	0.95948	0.1411	0.81838	24.0	0,5	19,44	0,00	0,00	2,40	0,96	0,48	3,84	0,24
116	8.7	13.6	40.0	46.0	15.6	34.0	176.85	332.41	0.91715	0.1411	0.77605	13.8	0,1	7,87	0,69	0,00	3,31	1,24	0,28	4,83	0,28
128	7.35	12.1	29.0	39.0	16.5	41.8	75.1	268.0	0.35275	0.21165	0.01	9.3	0,1	3,81	0,09	0,00	4,65	0,19	0,19	5,02	0,28
140	7.35	12.8	30.4	41.0	17.5	42.2	87.2	295.1	0.73372	0.16932	0.04	20.8	0,6	12,69	0,21	0,00	5,62	0,62	0,42	6,66	0,62
153	7.7	14.4	33.2	43.0	18.7	43.3	120.3	159.8	0.55029	0.01411	0.038	9.6	0,0	5,66	0,29	0,00	2,30	0,77	0,48	3,55	0,10
162	7.53	13.7	33.1	44.0	18.1	41.2	102.0	140.2	0.67728	0.21165	0.033	9.6	0,1	5,09	0,38	0,10	3,94	0,00	0,00	3,94	0,00
166	6.99	12.8	30.7	44.0	18.3	41.7	64.4	255.7	0.60673	0.04233	0.04	11.5	0,2	6,67	0,35	0,12	3,80	0,23	0,00	4,03	0,12
217	8.45	14.2	33.5	40.0	16.8	42.4	130.1	159.8	0.7055	0.08466	0.044	13.5	0,1	8,51	0,27	0,00	2,70	1,35	0,41	4,46	0,14
220	7.91	13.1	30.8	39.0	16.5	42.5	55.9	287.7	0.47974	0.01411	0.033	8.8	0,1	5,37	0,00	0,00	2,20	0,79	0,26	3,26	0,09
257	7.54	12.9	32.3	43.0	17.1	40.1	180.3	61.5	0.59262	0.09877	0.035	7.0	0,1	4,06	0,21	0,00	2,10	0,21	0,21	2,52	0,14
270	8.24	14.4	33.7	41.0	17.4	42.6	196.6	118.0	0.74783	0.38097	0.026	8.5	0,0	4,08	0,26	0,17	2,98	0,77	0,26	4,00	0,00
285	6.6	11.4	27.2	41.0	17.2	41.8	117.4	233.6	0.46563	0.18343	0.02	12.8	0,3	7,94	0,26	0,00	3,46	0,90	0,00	4,35	0,00
305	10.68	18.6	45.1	42.0	17.4	41.1	292.9	0.0	0.49385	0.19754	0.021	12.8	0,0	5,12	0,38	0,00	5,89	0,77	0,51	7,17	0,13
315	7.03	12.7	30.5	43.0	18.1	41.7	83.6	223.8	0.40919	0.18343	0.016	12.7	0,3	8,38	0,38	0,00	2,67	0,76	0,00	3,43	0,25
317	9.65	16.5	40.4	42.0	17.1	40.8	157.4	186.9	0.52207	0.23987	0.02	10.8	0,1	6,59	0,00	0,00	3,13	0,11	0,86	4,10	0,00

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (capacidade Total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma *momento 12* (antes da 3ª sangria de produção).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	7.69	12.8	37.2	48.0	16.6	34.4	165.6	396.69	1,14291	0.18343	0.95948	11.2	0,1	4,93	0,22	0,11	4,93	0,67	0,11	5,71	0,11
26	8.44	12.7	37.1	44.0	15.1	34.3	148.37	33.15	1,94718	0.22576	1,72142	12.1	0,0	7,74	0,24	0,00	3,15	0,48	0,24	3,87	0,24
33	7.94	13.0	38.2	48.0	16.4	34.0	298.37	391.62	1,1288	0.19754	0.93126	8.7	0,1	3,83	0,35	0,09	3,83	0,26	0,17	4,26	0,09
47	7.76	12.4	35.8	46.0	16.0	34.6	231.71	408.03	1,62265	119.935	0.4233	9.1	0,1	4,64	0,09	0,18	2,55	1,00	0,36	3,91	0,18
49	6.85	11.0	31.9	47.0	16.0	34.3	158.97	301.56	1,52388	0.15521	1,36867	11.5	0,0	6,44	0,69	0,12	3,22	0,58	0,12	3,91	0,35
100	7.22	11.4	32.6	45.0	15.7	34.8	86.51	301.98	1,07236	0.1411	0.93126	22.3	0,0	16,06	0,89	0,00	4,68	0,67	0,00	5,35	0,00
116	8.11	12.5	37.3	46.0	15.4	33.4	156.02	297.55	1,07236	0.04233	1,03003	13.1	0,0	7,86	0,26	0,00	3,41	1,05	0,39	4,85	0,13
128	6.88	12.0	27.3	40.0	17.4	43.9	79.7	405.7	0.39508	0.02822	0.026	11.0	0,0	5,94	0,00	0,00	4,40	0,33	0,33	5,06	0,00
140	6.85	12.4	28.5	42.0	18.1	43.4	133.0	250.8	1,19935	0.15521	0.074	20.3	0,2	9,95	0,20	0,00	6,09	2,64	0,61	9,34	0,61
153	6.4	12.5	27.7	43.0	19.6	45.2	105.0	319.7	0.80427	0.08466	0.051	10.1	0,1	4,95	0,10	0,00	3,03	1,31	0,30	4,65	0,30
162	8.04	15.3	35.5	44.0	19.0	43.1	128.9	164.7	1,01592	0.23987	0.055	13.9	0,0	6,53	0,00	0,00	4,45	1,95	0,70	7,09	0,28
166	5.34	10.2	23.4	44.0	19.1	43.5	68.9	292.6	0.88893	0.09877	0.056	13.2	0,1	7,66	0,53	0,13	4,22	0,53	0,00	4,75	0,00
217	10.21	17.4	40.9	40.0	17.0	42.5	145.9	221.3	0.97359	0.22576	0.053	15.7	0,2	9,11	0,63	0,00	5,02	0,79	0,00	5,81	0,00
220	8.29	14.3	32.5	39.0	17.2	43.9	50.6	415.6	1,11469	0.18343	0.066	15.2	0,0	8,82	0,61	0,00	5,02	0,76	0,00	5,78	0,00
257	8.03	15.0	34.4	43.0	18.7	43.6	115.9	366.4	0.77605	0.16932	0.043	9.4	0,2	4,23	0,28	0,00	3,85	0,66	0,00	4,51	0,19
270	8.35	15.0	34.5	41.0	18.0	43.5	254.0	118.0	1,45333	0.15521	0.092	10.4	0,2	4,78	0,31	0,10	2,81	1,14	0,83	4,78	0,21
285	6.68	11.8	27.8	42.0	17.6	42.4	61.1	334.4	1,15702	0.16932	0.07	12.5	0,0	7,75	0,50	0,00	1,75	1,75	0,63	4,13	0,13
305	8.21	15.1	34.5	42.0	18.4	43.7	81.0	268.0	0.94537	0.19754	0.053	13.2	0,1	6,47	0,26	0,00	4,88	0,79	0,40	6,07	0,26
315	7.93	14.4	34.3	43.0	18.2	42.1	144.7	147.5	0.43741	0.12699	0.022	11.6	0,1	5,80	0,35	0,12	3,83	0,93	0,23	4,99	0,23
317	7.65	13.6	31.9	42.0	17.8	42.6	118.1	295.1	0.90304	0.09877	0.057	10.4	0,3	4,37	0,10	0,00	4,37	1,04	0,10	5,51	0,10

He - Número de hemácias ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade de ligação de ferro)(mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma *momento 13* (após a 3ª sangria de produção).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	6.93	11.2	33.5	48.0	16.1	33.3	137.04	411.96	1,04414	0.12699	0.91715	10.7	0,1	4,17	0,21	0,21	3,10	2,03	0,64	5,78	0,21
26	7.92	12,00	34.8	44.0	15.1	34.5	127.04	389.91	1,6932	0.29631	1,39689	9.7	0,0	5,04	0,39	0,10	3,20	0,19	0,39	3,78	0,39
33	6.94	11.2	33.2	48.0	16.1	33.6	239.21	427.33	0.81838	0.11288	0.7055	6.8	0,1	3,88	0,27	0,00	2,24	0,14	0,07	2,45	0,07
47	8.41	13.3	38.8	46.0	15.8	34.2	204.17	426.71	1,38278	0.02822	1,35456	8.1	0,0	4,05	0,00	0,00	2,27	0,89	0,73	3,89	0,16
49	7.92	12.7	37.1	47.0	16.0	34.1	145.54	324.18	1,38278	0.1411	1,24168	9.7	0,0	5,24	0,29	0,10	3,49	0,39	0,10	3,98	0,10
100	7.52	11.7	33.8	45.0	15.6	34.7	82.47	293.87	1,03003	0.15521	0.87482	22.0	0,0	16,94	0,22	0,00	3,96	0,66	0,00	4,62	0,22
116	8.27	12.8	38.0	46.0	15.5	33.8	146.29	318.43	1,05825	0.09877	0.95948	10.8	0,0	6,48	0,11	0,00	3,67	0,43	0,00	4,10	0,11
128	5.69	9.6	22.3	39.0	16.9	43.1	42.8	351.6	0.60673	0.09877	0.036	10.1	0,2	5,25	0,10	0,00	3,43	0,71	0,20	4,34	0,20
140	6.61	11.6	27.4	41.0	17.6	42.4	104.1	233.6	1,35456	0.12699	0.087	17.6	0,4	9,15	0,53	0,00	7,39	0,00	0,00	7,39	0,18
153	6.65	11.9	28.7	43.0	17.9	41.6	101.6	314.7	0.8466	0.12699	0.051	9.1	0,3	5,55	0,09	0,00	1,82	0,82	0,46	3,09	0,09
162	7.4	13.5	32.6	44.0	18.3	41.4	150.4	0.0	1,19935	0.16932	0.073	10.3	0,2	4,33	0,62	0,10	2,88	1,75	0,31	4,94	0,10
166	5.54	10.0	23.9	44.0	18.3	41.7	53.2	260.6	1,04414	0.22576	0.058	11.2	0,1	8,06	0,34	0,00	2,13	0,11	0,34	2,58	0,11
217	8.14	13.8	32.3	40.0	17.0	42.7	116.8	199.2	0.91715	0.15521	0.054	14.7	0,1	8,97	0,15	0,15	4,85	0,29	0,15	5,29	0,00
220	7.52	12.6	29.3	39.0	16.8	43.0	34.0	395.9	1,14291	0.18343	0.068	13.5	0,1	8,51	0,81	0,14	2,57	1,08	0,14	3,78	0,14
257	7.87	14.2	33.75	43.0	18.0	42.1	88.9	282.8	0.74783	0.1411	0.043	7.8	0,2	3,67	0,16	0,00	3,04	0,39	0,31	3,74	0,08
270	8.49	14.9	34.9	41.0	17.5	42.7	215.1	108.2	1,84841	0.25398	0.113	9.1	0,1	5,64	0,18	0,27	2,18	0,46	0,18	2,82	0,09
285	6.2	10.8	25.7	41.0	17.5	42.2	76.1	351.6	0.94537	0.16932	0.055	11.4	0,3	7,18	0,34	0,11	2,05	1,03	0,34	3,42	0,00
305	7.93	14.3	33.1	42.0	18.0	43.3	84.2	341.8	1,04414	0.19754	0.06	10.2	0,0	6,12	0,31	0,00	2,75	0,61	0,31	3,67	0,10
315	7.09	12.9	30.5	43.0	18.2	42.3	70.2	140.2	0.55029	0.09877	0.032	11.0	0,0	5,28	0,22	0,00	5,06	0,33	0,00	5,39	0,11
317	7.68	13.4	31.9	42.0	17.4	42.0	145.7	140.2	1,10058	0.21165	0.063	9.7	0,0	4,95	0,10	0,10	3,20	0,97	0,29	4,46	0,10

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma **nonomento 14** (após a plasmaferese).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	7.42	12.0	36.0	49.0	16.2	33.4	131.29	421.2	0.91715	0.11288	0.80427	12.8	0,0	4,74	0,13	0,13	4,10	1,79	1,54	7,42	0,38
26	8.66	12.8	38.0	44.0	14.8	33.7	122.04	402.53	1.38278	0.15521	1.22757	13.2	0,1	6,60	0,00	0,13	4,09	1,19	0,79	6,07	0,26
33	8.22	13.1	39.4	48.0	16.0	33.3	197.77	344.14	0.67728	0.04233	0.63495	10.2	0,2	6,32	0,61	0,00	1,94	0,20	0,82	2,96	0,10
47	9.53	15.0	44.4	47.0	15.8	33.9	180.45	360.68	1.24168	0.15521	1.08647	11.0	0,0	5,72	0,22	0,11	1,98	1,43	1,32	4,73	0,22
49	8.45	13.7	39.8	47.0	16.2	34.4	127.36	337.93	0.9877	0.11288	0.87482	10.9	0,0	6,21	0,22	0,11	2,73	0,76	0,65	4,14	0,22
100	8.5	12.9	38.5	45.0	15.2	33.6	92.6	338.08	0.83249	0.08466	0.74783	26.6	0,8	19,15	0,27	0,00	3,99	0,80	1,06	5,85	0,53
116	9.27	14.1	42.8	46.0	15.2	32.9	143.79	298.11	0.95948	0.11288	0.8466	14.1	0,1	8,04	0,28	0,00	4,51	0,71	0,00	5,22	0,42
128	6.71	11.1	26.4	39.0	16.6	42.2	51.1	336.9	0.80427	0.15521	0.046	7.9	0,0	3,71	0,16	0,08	3,63	0,16	0,00	3,79	0,16
140	7.73	13.4	32.1	41.0	17.4	41.9	97.7	226.2	1.07236	0.18343	0.063	13.4	0,0	6,43	0,00	0,00	6,16	0,67	0,00	6,83	0,13
153	7.03	13.1	30.3	43.0	18.6	43.2	165.2	0.0	0.8466	0.07055	0.055	8.4	0,0	4,70	0,00	0,08	2,69	0,50	0,17	3,36	0,25
162	8.24	15.2	36.3	44.0	18.5	41.9	137.2	93.4	1.477317	0.475507	0.071	8.2	0,1	3,20	0,33	0,08	3,44	0,66	0,33	4,43	0,08
166	5.76	10.6	25.1	44.0	18.4	42.2	46.0	209.0	0.90304	0.16932	0.052	9.2	0,1	5,24	0,09	0,28	2,94	0,28	0,18	3,40	0,09
217	8.57	14.2	33.8	39.0	16.6	42.0	104.6	270.5	0.9877	0.08466	0.064	11.6	0,2	6,50	0,12	0,00	4,64	0,00	0,12	4,76	0,00
220	7.89	13.0	30.7	39.0	16.4	42.3	62.1	282.8	0.7055	0.29631	0.029	11.2	0,1	6,83	0,22	0,11	3,70	0,11	0,11	3,92	0,00
257	7.72	13.4	33.1	43.0	17.4	40.6	108.5	238.5	0.63495	0	0.045	6.2	0,0	3,41	0,12	0,06	2,23	0,25	0,12	2,60	0,00
270	9.26	15.6	38.3	41.0	16.9	40.9	195.3	0.0	1.19935	0.93126	0.019	7.8	0,0	4,84	0,16	0,08	2,50	0,23	0,00	2,73	0,00
285	6.96	12.0	28.7	41.0	17.3	41.9	68.6	270.5	0.93126	0.2822	0.046	7.9	0,1	5,37	0,16	0,16	1,98	0,16	0,00	2,13	0,00
305	9.04	15.7	38.0	42.0	17.3	41.3	834.8	0.0	0.76194	0.05644	0.05	10.7	0,1	5,67	0,32	0,00	3,10	0,75	0,75	4,60	0,00
315	7.56	13.6	32.6	43.0	18.0	41.7	95.0	213.9	0.32453	0.01411	0.022	11.7	0,0	7,25	0,12	0,12	3,28	0,70	0,23	4,21	0,00
317	8.68	15.1	36.2	42.0	17.4	41.6	123.9	159.8	0.7055	0.11288	0.042	7.8	0,0	3,12	0,31	0,00	4,13	0,16	0,08	4,37	0,00

He - Número de hemácias ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro) (mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

**Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma momento 15 (15 dias após a plasmaferese).**

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	7.94	15.7	39.3	49.0	19.8	40.0	108.96	267.39	0.88893	0.31042	0.57851	11.3	0,1	5,31	0,11	0,11	4,41	1,13	0,11	5,65	0,00
26	9.76	17.0	45.1	46.0	17.4	37.7	201.46	292.99	1,00181	0.2822	0.71961	11.6	0,1	4,76	0,35	0,12	5,34	0,58	0,23	6,15	0,12
33	8.47	16.0	41.2	49.0	18.9	38.9	333.14	384.87	0.73372	0.26809	0.46563	9.2	0,2	4,14	0,28	0,09	3,59	0,46	0,37	4,42	0,09
47	10.31	19.7	50.0	49.0	19.2	39.5	123.6	147.73	0.88893	0.25398	0.63495	11.2	0,0	4,93	0,56	0,11	4,82	0,67	0,00	5,49	0,11
49	7.86	15.4	38.8	49.0	19.6	39.7	61.62	92.96	0.71961	0.2822	0.43741	12.5	0,3	5,50	0,25	0,00	5,88	0,25	0,25	6,38	0,13
100	8.25	14.5	38.8	47.0	17.5	37.3	86.72	159.22	0.73372	0.15521	0.57851	15.0	0,0	8,40	0,15	0,00	5,85	0,45	0,15	6,45	0,00
116	9.21	16.3	44.2	48.0	17.7	36.9	92.67	92.39	1,01592	0.21165	0.80427	11.7	0,0	5,15	0,35	0,00	4,68	1,17	0,23	6,08	0,12
128	9.41	15.1	40.5	43.0	16,00	37.2	144.4	245.9	0.57851	0.09877	0.034	7.5	0,0	3,08	0,00	0,00	3,75	0,68	0,00	4,43	0,00
140	8.72	14.35	38.3	44.0	16.6	38.15	146.5	194.3	0.52207	0.12699	0.028	14.3	0,0	7,15	0,00	0,14	5,72	1,00	0,14	6,86	0,14
153	7.06	12.9	33.2	47.0	18.2	38.8	392.0	24.6	0.71961	0.15521	0.04	6.4	0,0	2,30	0,06	0,00	3,46	0,51	0,00	3,97	0,06
162	8.14	14.8	38.6	47.0	18.2	38.4	179.7	179.5	0.8466	0.11288	0.052	11.3	0,0	2,83	0,68	0,00	5,65	1,36	0,68	7,68	0,11
166	8.76	15.8	42.5	48.0	18.0	37.1	259.2	0.0	0.69139	0.08466	0.043	9.3	0,0	4,00	0,28	0,00	3,07	1,12	0,56	4,74	0,28
217	10.19	16.8	44.2	43.0	16.4	37.9	269.4	105.7	1,1288	0.32453	0.057	11.2	0,0	5,94	0,11	0,00	3,81	1,01	0,22	5,04	0,11
220	10.05	16.5	42.0	42.0	16.4	39.3	276.8	105.7	1,28401	0.21165	0.076	8.0	0,1	3,28	0,40	0,00	2,72	0,80	0,64	4,16	0,08
257	8.26	14.3	38.3	46.0	17.3	37.3	252.2	145.1	0.71961	0.09877	0.044	8.0	0,0	3,20	0,08	0,00	4,32	0,32	0,00	4,64	0,08
270	8.9	15.3	40.4	45.0	17.2	38.0	167.3	204.1	0.93126	0.1411	0.056	6.9	0,1	3,24	0,21	0,07	2,42	0,62	0,21	3,24	0,00
285	8.42	14.5	38.9	46.0	17.2	37.3	86.2	314.7	0.43741	0.08466	0.025	8.3	0,1	4,32	0,25	0,08	2,66	0,91	0,00	3,57	0,00
305	9.74	16.3	43.9	45.0	16.7	37.1	203.1	167.2	0.77605	0.16932	0.043	9.7	0,0	4,75	0,19	0,10	4,37	0,29	0,00	4,66	0,00
315	8.35	14.2	38.2	46.0	17.1	37.3	125.7	255.7	0.2822	0.11288	0.012	13.1	0,0	7,21	0,26	0,13	4,45	0,66	0,13	5,24	0,26
317	8.86	14.8	39.8	45.0	16.7	37.1	170.7	147.5	0.76194	0.01411	0.053	10.3	0,1	5,36	0,00	0,00	4,22	0,52	0,00	4,74	0,10

He - Número de hemácias ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro) (mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma *momento 16* (30 dias após a plasmaferese).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	9.06	14.7	44.2	49.0	16.2	33.2	99.66	241.34	1.73553	0.19754	1.53799	22.0	0,2	10,56	0,22	0,22	5,50	2,86	2,20	10,56	0,22
26	11.41	17.4	51.9	46.0	15.2	33.5	238.38	328.17	0.88893	0.09877	0.79016	10.4	0,1	3,64	0,00	0,21	5,41	0,52	0,42	6,34	0,10
33	10.08	16.4	48.3	48.0	16.3	34.0	447.78	411.73	0.83249	0.08466	0.74783	8.6	0,1	2,84	0,17	0,17	4,73	0,43	0,09	5,25	0,09
47	11.77	18.6	55.1	47.0	15.8	33.7	216.19	199.96	1.17113	0.1411	1.03003	10.1	0,0	4,75	0,30	0,10	2,73	1,11	0,81	4,65	0,30
49	10.13	16.9	49.0	48.0	16.6	34.4	56.67	608.34	0.66317	0.01411	0.64906	12.2	0,1	6,22	0,37	0,00	3,66	1,22	0,24	5,12	0,37
100	9.38	14.5	44.1	47.0	15.5	32.9	190.5	273.65	0.62084	0.04233	0.57851	16.0	0,2	9,44	0,16	0,16	4,48	1,12	0,32	5,92	0,16
116	10.24	16.0	48.1	47.0	15.6	33.3	219.28	204.47	0.74783	0.08466	0.66317	11.2	0,0	4,48	0,56	0,00	4,37	1,46	0,22	6,05	0,11
128	10.13	15.2	43.7	43.0	15.0	34.7	132.2	179.5	0.8466	0.16932	0.048	9.6	0,0	3,84	0,29	0,10	4,32	0,67	0,10	5,09	0,29
140	9.71	15.3	44.5	46.0	15.8	34.4	204.9	130.3	0.90304	0.18343	0.051	15.2	0,0	5,78	0,00	0,00	8,36	0,61	0,00	8,97	0,46
153	9.1	15.0	44.6	49.0	16.5	33.6	244.6	86.1	0.95948	0.11288	0.06	6.6	0,1	2,38	0,13	0,07	3,43	0,40	0,13	3,96	0,00
162	10.02	15.7	48.0	48.0	15.7	32.7	223.4	51.6	1.15702	0.07055	0.077	10.6	0,0	4,77	0,00	0,11	4,77	0,85	0,00	5,62	0,11
166	10.22	16.0	50.0	49.0	15.7	32.1	138.1	54.1	0.64906	0.16932	0.034	12.7	0,3	5,72	0,25	0,00	5,72	0,25	0,38	6,35	0,13
217	11.08	15.9	48.5	44.0	14.3	32.7	191.7	135.2	1.08647	0	0.077	14.7	0,1	8,97	0,88	0,00	3,97	0,59	0,00	4,56	0,15
220	11.2	15.7	47.8	43.0	14.0	32.8	135.8	275.4	1.03003	0.23987	0.056	10.4	0,0	4,99	0,31	0,00	3,95	0,83	0,10	4,89	0,21
257	8.6	13.7	40.8	47.0	15.9	33.6	177.2	253.3	0.86071	0.07055	0.056	7.4	0,0	3,18	0,15	0,07	3,70	0,15	0,00	3,85	0,15
270	10.46	15.7	48.3	46.0	15.0	32.6	205.7	179.5	1.08647	0.1411	0.067	7.6	0,0	3,27	0,23	0,00	3,42	0,38	0,30	4,10	0,00
285	8.99	14.2	42.2	47.0	15.8	33.5	220.2	292.6	0.55029	0.09877	0.032	8.5	0,0	3,91	0,09	0,09	3,91	0,34	0,00	4,25	0,17
305	10.33	16.2	47.3	46.0	15.6	34.1	128.1	213.9	0.77605	0.1411	0.045	9.7	0,0	4,66	0,10	0,10	3,59	0,97	0,10	4,66	0,19
315	9.04	14.0	41.8	46.0	15.5	33.5	124.2	162.3	0.62084	0.09877	0.037	10.1	0,0	4,55	0,71	0,30	4,04	0,40	0,10	4,55	0,00
317	10.47	15.7	47.5	45.0	15.0	33.1	130.4	248.3	0.63495	0.15521	0.034	9.8	0,0	3,82	0,10	0,20	4,90	0,69	0,00	5,59	0,10

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Valores individuais dos elementos constituintes do eritrograma, ferro, transferrina, bilirrubinas e constituintes do leucograma *momento 17* (45 dias após a plasmaferese).

Animais	He	Hto	Hb	VCM	HCM	CHCM	Fe	CTLF	BT	BD	BI	Leuco	Bast.	segm.	Eosin.	Basof.	Linf.peq.	Linf.Gde	Linf.At.	Linf.T	Mono
17	10.58	16.5	50.4	48.0	15.6	32.7	152.58	231.0	0.74783	0.1411	0.60673	13.3	0,1	5,45	0,40	0,13	3,59	2,26	1,06	6,92	0,27
26	11.63	16.9	51.0	44.0	14.5	33.1	171.36	244.6	0.73372	0.07055	0.66317	13.6	0,1	7,62	0,41	0,27	3,94	0,54	0,41	4,90	0,27
33	10.78	16,00	50.3	47.0	14.8	31.8	241.8	169.69	0.53618	0.11288	0.4233	9.6	0,0	4,13	0,19	0,10	4,80	0,38	0,00	5,18	0,00
47	11.47	16.7	51.9	45.0	14.6	32.2	222.96	299.27	1.28401	0.1411	1.14291	10.5	0,0	4,20	0,53	0,00	3,78	1,05	0,84	5,67	0,11
49	10.53	16.1	49.1	47.0	15.3	32.8	208.71	239.56	0.57851	0.04233	0.53618	14.0	0,0	5,88	0,28	0,14	7,14	0,42	0,14	7,70	0,00
100	10.64	15.7	49.1	46.0	14.7	31.9	296.42	457.75	0.74783	0.09877	0.64906	12.8	0,1	6,27	0,38	0,26	4,74	0,90	0,00	5,63	0,13
116	11.19	16.2	51.0	46.0	14.5	31.7	231.11	229.96	0.77605	0.09877	0.67728	12.2	0,1	4,51	0,24	0,12	5,49	0,49	1,22	7,20	0,00
128	9.74	14.5	41.8	43.0	14.9	34.8	126.7	351.6	0.69139	0.12699	0.04	10.1	0,2	4,04	0,20	0,00	4,44	1,01	0,20	5,66	0,00
140	9.81	15.7	45.1	46.0	16.0	34.8	167.5	199.2	0.91715	0.21165	0.05	14.4	0,0	5,04	0,29	0,00	7,49	1,15	0,14	8,78	0,29
153	9.26	16.1	45.3	49.0	17.4	35.7	188.3	221.3	0.86071	0.01411	0.06	7.6	0,0	2,89	0,23	0,00	4,26	0,23	0,00	4,48	0,00
162	9.18	15.3	44.3	48.0	16.6	34.5	170.4	140.2	0.21165	0	0.015	12.4	0,1	6,32	0,12	0,00	5,21	0,50	0,12	5,83	0,00
166	9.47	16.1	46.6	49.0	17.0	34.6	146.8	159.8	0.81838	0.12699	0.049	11.2	0,1	5,04	0,11	0,00	4,93	0,56	0,22	5,71	0,22
217	10.26	15.7	44.7	44.0	15.3	35.2	172.5	186.9	0.97359	0.16932	0.057	10.1	0,0	4,85	0,20	0,00	4,65	0,30	0,00	4,95	0,10
220	11.38	17.3	48.9	43.0	15.2	35.4	136.9	194.3	0.87482	0.16932	0.05	9.3	0,0	3,53	0,28	0,00	2,88	1,95	0,56	5,39	0,09
257	9.32	15.3	44.4	48.0	16.4	34.3	154.3	285.2	0.77605	0.12699	0.046	8.3	0,2	3,24	0,42	0,00	3,57	0,58	0,17	4,32	0,17
270	10.5	16.6	48.3	46.0	15.8	34.3	148.1	277.9	0.97359	0.15521	0.058	8.5	0,1	3,32	0,17	0,17	3,32	1,11	0,26	4,68	0,09
285	9.71	15.7	45.8	47.0	16.2	34.3	128.5	371.3	0.8466	0.16932	0.048	9.2	0,0	4,60	0,28	0,00	3,40	0,92	0,00	4,32	0,00
305	10.22	16.3	46.8	46.0	15.9	34.8	150.1	238.5	0.93126	0	0.066	10.1	0,1	5,45	0,10	0,00	3,43	0,61	0,30	4,34	0,10
315	10.42	16.3	48.5	47.0	15.7	33.6	84.6	292.6	0.73372	0.11288	0.044	10.7	0,0	4,82	0,54	0,11	2,89	1,61	0,54	5,03	0,21
317	11.05	16.1	50.2	45.0	14.6	32.1	131.1	349.2	0.86071	0.21165	0.046	10.2	0,1	3,06	0,31	0,00	5,92	0,51	0,31	6,73	0,00

He - Número de hemácias ( $\times 10^9/\text{mm}^3$ )

Hto - Hematócrito (volume globular) (%);

Hb - Hemoglobina (g/dl);

VCM - Volume corpuscular médio (fl);

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média (pg);

CHCM - Concentração de hemoglobina Corpuscular média (%);

Fe - Nível sérico de ferro (mg/dl);

CTLF - Nível sérico de transferrina (Capacidade total de ligação de ferro)( mg/dl);

BT - Bilirrubina total - Nível sérico de bilirrubina total (mg/dl);

BD - Bilirrubina direta - Nível sérico de bilirrubina direta (mg/dl);

BI - Bilirrubina indireta - Nível sérico de bilirrubina indireta (mg/dl);

Leuco - Número de leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Bast. - neutrófilos bastonetes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Segm.- Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Eosin.-eosinófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Basof. - basófilos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.peq.- linfócitos pequenos (mielócitos)( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.Gde - Linfócitos grandes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.At. - Linfócitos atípicos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Linf.T. - Linfócitos totais ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )

Mono.- monócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )