

EFEITO DA VACINA POLIVALENTE SOBRE O LEUCOGRAMA E O METABOLISMO OXIDATIVO DOS NEUTRÓFILOS EM CÃES

P.C. Ciarlini, R.F. Patrício, R. Couto, F.L. Bonello

Universidade Estadual Paulista, Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, CP 381, CEP 16050-680, Araçatuba, SP, Brasil. E-mail: ciarlini@fmva.unesp.br

RESUMO

A fim de avaliar-se o efeito da vacina óctupla (Duramune DA₂PP + CvK/ LCI – Fort Dodge) sobre o leucograma e o metabolismo oxidativo dos neutrófilos, analisou-se o sangue de 20 cães adultos clinicamente sadios em 4 diferentes momentos: M0 (antes da vacinação), M1 (2 dias após), M2 (15 dias após) e M3 (30 dias após). O metabolismo oxidativo dos neutrófilos estimado pelo teste de redução do tetrazólio nitroazul (NBT) não diferiu significativamente nos diferentes momentos estudados, tanto na prova estimulada como na prova não estimulada. Os resultados mostram que a vacina polivalente não interfere no metabolismo oxidativo dos neutrófilos, bem como no leucograma.

PALAVRAS-CHAVE: Resposta vacinal, nbt, vacina óctupla, imunossupressão.

ABSTRACT

EFFECT OF POLYVALENT VACCINE ON THE LEUKOGRAM AND NEUTROPHIL OXIDATIVE METABOLISM IN DOGS. In order to evaluate the effect of the octuple vaccine (Duramune DA₂PP + CvK/ LCI – Fort Dodge) on the leukogram and neutrophil oxidative metabolism, analyses were made of blood of 20 adult healthy dogs at 4 different moments: M0 (before the vaccination), M1 (2 days after), M2 (15 days after) and M3 (30 days after). The neutrophil oxidative metabolism estimated by nitroblue tetrazolium (NBT) reduction test didn't show any significative differences among the moments studied, on neither the stimulated test nor on the non-stimulated one. The results show that the polyvalent vaccine does not interfere on the neutrophil oxidative metabolism, nor on the leukogram.

KEY WORDS: Vaccine response, nbt, octuple vaccine, immunosuppression.

INTRODUÇÃO

Quando estimulados, os neutrófilos sofrem uma grande ativação de seu metabolismo oxidativo ("Explosão Respiratória") que resulta num intenso consumo celular de energia e oxigênio, gerando substâncias altamente oxidantes (superóxido e peróxidos) com alto poder bactericida, viricida e fungicida (BABIOR, 1978; ZINKL & KABBUR, 1997). Em diferentes espécies, a inibição do metabolismo oxidativo do neutrófilo é reconhecidamente um importante mecanismo imunossupressor que propicia infecções, inclusive por agentes pouco patogênicos.

O teste de redução do sal tetrazólio nitroazul (NBT) tem sido amplamente utilizado para estimar a produção de superóxido gerado pela ativação do metabolismo oxidativo do neutrófilo (CIARLINI *et al.*, 1998). A enzima responsável pela "explosão respiratória" é a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase (NADPH-oxidase). Nas reações in-

flamatórias, os monócitos e/ou os linfócitos T ativados secretam várias citocinas, tais como a interleucina 1 (IL-1), o fator de necrose tumoral (TNF) e o interferon- γ , que estimulam as células endoteliais e/ou os fibroblastos a secretarem os fatores estimuladores de colônias (G-CSF e GM-CSF) que, por sua vez, ativam os neutrófilos (KITAGAWA *et al.*, 1988). Os fatores quimiotáticos que têm sido relatados na ativação dos neutrófilos dos cães incluem mediadores lipídicos derivados das células inflamatórias, isto é, LTB₄ e FAP (THOMSEN & STROM, 1989), as interleucinas IL-1 α / 1 β e IL-8 produzidas pelos monócitos (THOMSEN, 1990; THOMSEN *et al.*, 1991) e o produto do complemento C5a (STROM & THOMSEN, 1990).

Resultados contraditórios do efeito das vacinas sobre o leucograma e o teste de redução do NBT por neutrófilos têm sido obtidos em bovinos (ROTH *et al.*, 1983; ALLEN *et al.*, 1996; SLOBODYAN, 1997; SCOTT *et al.*, 1998), caprinos (GALLEGO, 1990), ovelhas (NOWACKI *et*

al., 1991), coelhos (DEPTULA *et al.*, 1994) e peixes (ANDERSON *et al.*, 1992; VENKATALASHMI *et al.*, 2001).

Não obstante haja relatos de cães terem desenvolvido doenças após o uso de vacinas virais (DHEIN & GORHAM, 1986), apenas uns poucos estudos avaliaram o efeito imunossupressor das vacinações nesta espécie, sendo que a maioria utilizou vacina monovalente e revelou a ocorrência de uma imunossupressão transitória pós-vacinal (KRAKOWKA *et al.*, 1982; PHILLIPS *et al.*, 1989; MIYAMOTO *et al.*, 1995a; MIYAMOTO *et al.*, 1995b).

Embora alguns livros textos de laboratório clínico veterinário associem as vacinações como uma causa importante de linfocitose (BUSH, 1994, MEYER *et al.*, 1992), alterações leucocitárias quantitativas não têm sido observadas em cães tratados com vacinas monovalentes (YULE *et al.*, 1997; SMITH *et al.*, 1998). Já cães tratados com vacinas polivalentes ora têm apresentado unicamente linfopenia (PHILLIPS *et al.*, 1989), ora leucocitose com linfocitose não significativa (STRASSER *et al.*, 2003).

PHILLIPS *et al.* (1989) demonstraram em cães que as vacinas polivalentes contendo antígenos virais contra cinomose, adenovírus tipo-1, parvovírus e parainfluenza suprimiram a função linfocitária, porém não o metabolismo oxidativo dos neutrófilos estimado por quimiluminescência. Utilizando o teste de redução do NBT, STRASSER *et al.* (2003) observaram uma inibição do metabolismo oxidativo dos neutrófilos em cães após tratamento com diversas vacinas polivalentes.

Considerando-se que as vacinas polivalentes são largamente empregadas nos tratamentos profiláticos dos cães e que são escassas e contraditórias as informações sobre o seu efeito no quadro hematológico e no metabolismo oxidativo dos neutrófilos, objetivou-se com o presente estudo avaliar a possível influência da vacina óctupla (V8) sobre o leucograma e o teste de redução neutrofílica do NBT.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos animais

Após um prévio exame físico geral, conforme preconizado por BRAZ (1982), foram selecionados 20 cães adultos da raça pastor-alemão, com idade mínima de 1 ano e máxima de 7 anos, considerados clinicamente saudáveis e que apresentaram valores do leucograma e fibrinogênio plasmático normais.

Delineamento experimental

Amostras sanguíneas de todos os cães foram colhidas em quatro diferentes momentos: M0 (imediatamente antes da aplicação da vacina), M1 (2 dias após a vacinação), M2 (15 dias após a vacinação) e M3 (30 dias após a vacinação).

Uma única dose de uma mesma vacina óctupla comercial¹ foi aplicada em todos os animais conforme as recomendações do fabricante. Na vacina óctupla (V8) utilizada, as frações

Cinomose (CVD), Adenovírus Tipo 2 (CAV-2) e Parainfluenza Canina (CPI) são constituídas de um vírus vivo modificado, purificado e atenuado por cultivo em linhagem celular. A fração Coronavírus Canino (CvK) é composta de vírus morto, purificado, cultivado em linhagem celular, com adjuvantes especiais. A fração Parvovírus Canino (CPV2a) é preparada a partir de um vírus canino que foi isolado, modificado e atenuado. A fração Leptospira (L) é preparada a partir de componente da membrana externa, tecnologia usada para extrair os antígenos altamente imunogênicos das células dos sorovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae* (FORT DODGE, 2002).

Colheita e acondicionamento das amostras

Utilizando-se agulhas hipodérmicas descartáveis 25 x 8 mm e seringas plásticas descartáveis, colheu-se de cada animal 5 mL de sangue, dos quais 0,5 mL foi acondicionado em tubos plásticos estéreis contendo 10 U de heparina sódica², a fim de se realizar o teste de redução do NBT e outros 4,5 mL de sangue foram acondicionados em frascos de vidro contendo 5 mg de EDTA-sódico, com fins de realizar o leucograma e a determinação da concentração plasmática de fibrinogênio. As amostras sanguíneas foram mantidas refrigeradas até o momento do processamento laboratorial (até duas horas pós-colheita).

Processamento laboratorial das amostras

Os testes de redução espontânea e estimulada do NBT foram realizados pelo método citotóxico descrito por PARK *et al.* (1968) e modificado por CIARLINI (1998). Para tal utilizou-se NBT tamponado³ e estimulante com extrato bacteriano comerciais⁴. A porcentagem de células redutoras de NBT foi estabelecida a partir da contagem de 100 neutrófilos.

¹Duramune DA₂ PP+ C_vK/LCI, Fort Dodge, Campinas-Brasil.

²Liquemine® 5000 U/ml, Roche, São Paulo -SP.

³NBT VIAL, SIGMA, Cat. 840-10, St Louis-USA.

⁴Stimulant, SIGMA, Cat 840-15, St Louis-USA.

A contagem total de leucócitos foi realizada com auxílio de contador eletrônico de células⁵ e a contagem diferencial de 100 leucócitos foi feita em esfregaços sangüíneos corados com corante hematológico panótico rápido comercial⁶, segundo as recomendações e critérios de JAIN (1986).

Análises estatísticas

Após o estudo das distribuições das variáveis quanto à normalidade e homocedasticidade (ZAR, 1984), para as comparações entre os momentos experimentais, utilizou-se o teste não paramétrico de Friedman para medidas repetidas. Em se tratando de análise não-paramétrica, como medida de tendência central adotou-se a mediana. Para a realização das análises estatísticas supracitadas foi utilizado um programa estatístico computadorizado⁷.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todos os momentos do estudo os cães apresentaram parâmetros leucocitários dentro da faixa de normalidade clínica considerada por MEINKOTH *et al.* (2000) para a espécie canina (Tabela 1). Tal observação corrobora com a condição de higiene dos animais tanto antes como depois da vacinação.

Tabela 1- Resumo da análise estatística dos valores médios absolutos do leucograma e da porcentagem (%) de neutrófilos redutores do NBT na prova não estimulada (NBT-NE) e estimulada (NBT-E) em cães antes e após vacinação com vacina ôctupla (Duramune DA₂PP + CvK/LCI).

	Dias pós-vacinação			
	0	2	15	30
Leucócito (x10 ⁹ /L)	12,3 abc	13,4 b	11,4 c	11,6 c
Bastonete (x10 ⁹ /L)	0 a	0 a	0 a	0 a
Segmentado (x10 ⁹ /L)	7,7 abc	7,7 b	6,1 c	6,5 c
Linfócito (x10 ⁹ /L)	2,8 a	3,4 a	2,8 a	3,2 a
Monócito (x10 ⁹ /L)	0,5 a	0,9 a	0,6 a	0,6 a
Eosinófilo (x10 ⁹ /L)	1,2 a	1,2 a	0,76 a	0,82 a
Basófilo (x10 ⁹ /L)	0 a	0 a	0 a	0 a
NBT-NE (%)	11,5 a	13 a	9,5 a	16,5 a
NBT-E (%)	14 a	12,5 a	18 a	15,5 a

*Letras não coincidentes na mesma linha indicam diferença significativa (p < 0,05).

No presente estudo, após dois dias de vacinação os cães apresentaram valores de leucócitos e de neutrófilos significativamente maiores do que nos demais momentos pós-vacinais (15 - 30 dias). O fato dos valores de leucócitos e neutrófilos não diferenciarem do momento pré-vacinal, sugere que tal variação deva-se mais a uma possível neutrofilia fisiológica, associada a uma maior liberação de adrenalina nas primeiras colheitas, do que ao efeito vacinal propriamente dito. Os resultados do presente estudo coincidem com as observações de YULE *et al.* (1997) e SMITH *et al.* (1998), que não observaram alterações dos valores de linfócitos, monócitos e neutrófilos de cães submetidos à vacina monovalente; porém, divergem da linfopenia (PHILLIPS *et al.*, 1989) e da linfocitose (STRASSER *et al.*, 2003) observadas em estudos com vacinas polivalentes realizados em cães.

As porcentagens de neutrófilos reativos ao NBT no momento zero (antes da vacinação) foram semelhantes aos descritos por POLI *et al.* (1973) para cães saudáveis (Tabela 1). No presente estudo, a média de neutrófilos NBT-positivos no momento pré-vacinal foi de 10,6%, enquanto que a média descrita por POLI *et al.* (1973) foi de 8,7%, com valores mínimo e máximo de 2 e 14%, respectivamente.

As taxas pré-vacinais de redução do NBT (prova estimulada e não estimulada) não diferiram significativamente das taxas obtidas 15 e 30 dias após a aplicação da vacina V8 (Tabela 1), o que contraria estudos anteriores feitos em humanos (SZCZEPANOWSKA *et al.*, 1992), em ovelhas (NOWACKI *et al.*, 1991) e peixes (ANDERSON *et al.*, 1992; VENKATALASHMI *et al.*, 2001) que constataram um aumento da porcentagem de neutrófilos redutores de NBT seguida à vacinação. Outros estudos realizados em cabras e bovinos demonstraram, assim como no presente trabalho, que a vacinação não afetou significativamente o teste de redução do NBT (ROTH *et al.*, 1983; GALLEGU, 1990).

Os resultados obtidos no presente estudo pelo método citoquímico de redução do NBT estão de acordo com PHILLIPS *et al.* (1989), os quais concluíram que a vacina polivalente de cães não apresentou nenhum efeito sobre o metabolismo oxidativo dos neutrófilos estimado pelo método da quimiluminescência; porém difere das conclusões de STRASSER *et al.* (2003) que observaram uma inibição deste metabolismo sete dias após o tratamento de cães com diversas vacinas polivalentes.

Deve-se ressaltar que, diferentemente do método citoquímico adotado no presente estudo, STRASSER *et al.* (2003) utilizaram o método colorimétrico de redução do NBT que utiliza neutrófilos isolados do sangue

⁵CELM CC 510, CELM, São Paulo, Brasil.

⁶Instant-Prov, NEWPROV, Pinhais-PR.

⁷SAS/STA Software, Statistical Analysis System Institute, 1997, USA.

total. Nos testes colorimétricos de redução do NBT, o processo de lavagem para isolamento dos neutrófilos pode alterar os receptores de membrana responsáveis pela ativação do metabolismo oxidativo, além de tornar a célula isolada isenta da influência de importantes componentes celulares e plasmáticos contidos no sangue total. Curiosamente, STRASSER *et al.* (2003) observaram após a vacinação uma diminuição da redução do NBT associado a um significativo aumento das citocinas (IL-1, IL-2, interferon γ e FNT- α), quando sabidamente reconhece-se a importância destas substâncias na ativação do metabolismo oxidativo dos neutrófilos (KITAGAWA *et al.*, 1988; THOMSEN & THOMSEN, 1990; THOMSEN *et al.*, 1991). Considerando que STRASSER *et al.* (2003) utilizaram vacinas polivalentes, assim como a mesma raça canina, é provável que as particularidades metodológicas supracitadas sejam a principal fonte de divergência de seus resultados com o do presente estudo.

O fato de não ter sido observada qualquer alteração significativa sobre o teste de redução do NBT indica que a prática de tratamento preventivo de cães com vacina óctupla (Duramune DA₂ PP + CvK / LCI-Fort Dodge) não compromete o metabolismo oxidativo dos neutrófilos, e portanto, a defesa imunológica quanto a sua capacidade bactericida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, L.J.; KABBUR, M.B.; CULLOR, J.S.; GARDNER, I.A.; STOTT, J.L.; GEORGE, L.W. Alterations in blood lymphocyte subpopulations and hematologic values in neonatal calves after administration of a combination of multiple-antigen vaccines. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.209, n.3, p.638-642, 1996.
- ANDERSON, D.P.; MORITOMO, T.; GROOTH, R. Neutrophil, glass-adherent, nitroblue tetrazolium assay gives early indication of immunization effectiveness in rainbow trout. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.30, p.419-429, 1992.
- BABIOR, B.M. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *New Engl. J. Med.*, v.298, p.659-668, 1978.
- BRAZ, M.B. Metodologia da exploração clínica. In: BRAZ, M.B. (Ed.). *Semiologia médica animal*. 2 ed. Lisboa: FCG, 1982. v.1, p.41-81.
- BUSH, B.M. *Interpretation of laboratory results for small animal clinics*. London: Blackwell Scientific Publications, 1994. 515p.
- CIARLINI, P.C. *Leucograma e metabolismo oxidativo dos neutrófilos em ovelhas (Ovis aries Linnaeus, 1758) naturalmente infectadas por nematódeos gastrintestinais ao final da gestação, durante a lactação e após o desmame: influência de fatores raciais e hormonais*. Botucatu: 1998. 201p. [Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Univ. Estadual Paulista].
- DEPTULA, W. & GORECKA, D.O. Activity of neutrophilic granulocytes and hematologic picture in rabbits immunized with chlamydia psittaci. *Med. Dosw. Mikrobiol.*, v.46, p.207-214, 1994.
- DHEIN, C.R. & GORHAM, J.R. Host response to vaccination. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, v.16, p.1227-1245, 1986.
- FORT DODGE. Fort Dodge Saúde Animal. *Bol. Téc. Cães*, p.7-9, 2002.
- FREEMAN, R.; KING, B.; KITE, P. Serial NBT test in management of infection. *J. Clin. Pathol.*, v.26, p.57-59, 1973.
- GALLEGU, M.C. & LAPENA, M.A. The interaction of Brucella melitensis 16-M and caprine polymorphonuclear leukocytes. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, v.13, p.59-65, 1990.
- JAIN, N.C. Hematologic techniques. In: JAIN, N.C. (Ed.). *Schalm's veterinary hematology*. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986, p.20-86.
- KITAGAWA, S.; OHSAKA, A.; YOU, A.; TAKAKU, F.; SAITO, M. The respiratory burst of granulocytes: Modulation by inflammatory mediators and its mechanism. *Tokai J. Exp. Clin. Med.* v.13, p.299-305, 1988.
- KRAKOWKA, S.; OLSEN, R.G.; AXTHELM, M.K.; RICE, J.; WINTERS, K. Canine parvovirus infection potentiates canine distemper encephalitis attributable to modified-live-virus vaccine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.180, p.137-139, 1982.
- MEINKOTH, J.H. & CLINKENBEARD, K.D. Normal Hematology of the Dog. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. (Eds.). *Schalm's veterinary hematology*. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.1057-1063.
- MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. *Veterinary laboratory medicine: interpretation and diagnosis*. Philadelphia: Saunders Company, 1992. 350p.
- MILLER, D.R. & KAPLAN, H.G. Decreased Nitroblue Tetrazolium Dye Reduction in the phagocytes of patients receiving prednisone. *Pediatrics*, v.45, p.861, 1970.
- MYAMOTO, T.; TAURA, Y.; UNE, S.; YOSHITAKE, M.; NAKAMA, S.; WATANABE, S. Immunological responses after vaccination pre- and post-surgery in dog. *J. Vet. Med. Sci.*, v.57, p.29-32, 1995a.
- MYAMOTO, T.; TAURA, Y.; UNE, S.; YOSHITAKE, M.; NAKAMA, S.; WATANABE, S. Immunological responses to polyvalent canine vaccines in dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, v.57, p.347-349, 1995b.
- NOWACKI, J.; KLIMENTOWSKI, S.; LEWANDOWSKA, S. Immunogenic and protective properties of an attenuated vaccine against listeriosis in pregnant sheep and their offspring. *Med. Weter.*, v.46, p.259-261, 1991.
- PARK, B.H.; FIKRIG, S.M.; SMITHWICK, E.M. Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils - a diagnostic aid. *Lancet.*, v.7, p.532-534, 1968.
- PHILLIPS, T.R.; JENSEN, J.L.; RUBINO, M.J.; YANG, W.C.; SCHULTZ, R. D. Effects of vaccines on the canine immune system. *Can. J. Vet. Res.*, v. 53, n. 2, p.154-160, 1989.
- POLI, G.; NICOLETTI, G.; FARAVELLI, G. Nitroblue tetrazolium (N.B.T.) test nel cane. *Folia Vet. Lat.*, v.3, p.215-239, 1973.
- ROTH, J.A. & KAEBERLE, M.L. Suppression of neutrophil and lymphocyte function induced by a vaccinal strain of bovine viral diarrhoea virus with and without the administration of ACTH. *Am. J. Vet. Res.*, v.44, p.2366-2372, 1983.
- SCOTT, H.M.; SARGENT, J.M.; IRELAND, M.J.; LISSEMORE, K.D.; LESLIE, K.E.; KELTON, D.F.; MALLARD, B.A. Effects of a core antigen vaccine gram-negative bacteria on physiologic

- and yield parameters of dairy cows during late lactation and the dry period. *J. Dairy Sci.*, v.81, n.7, p.1928-1935, 1998.
- SLOBODYAN, V.V. Influence of Antrakol vaccine against anthrax on the immune system. *Visnik. Agrarnoi. Nauki.*, n.5, p.79-80, 1997.
- SMITH, B.F.; BAKER, H.J.; CUIEL, D.T.; JIANG, W.; CONRY, R.M. Humoral and cellular immune response of dogs immunized with a nucleic acid vaccine encoding human carcinoembryonic antigen. *Gene Therapy.*, v.5, n.7, p.865-868, 1998.
- STRASSER, A.; MAY, B.; TELTSCHER, A.; WISTRELA, E.; NIEDERMULLER, H. Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.94, p.113-121, 2003.
- STROM, H. & THOMSEN, M.K. Effects of different pro-inflammatory mediators on canine neutrophil chemotaxis and aggregation. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.25, p.209-217, 1990.
- SZCZEPAHOWSKA, A.; MODZELEWSKA, I.; PIORKOWSKA, E.; KOLLATAJ, W.; GAJEWSKA-OBEL, E.; KORNAS-DUBELKO, A.; GURDZIEL, Z. Effect of treatment with HDM vaccine on selected immune parameters in children with bronchial asthma. *Wiad. Lek.*, v.45, n.21-22, p.808-811, 1992.
- THOMSEN, M.K.; LARSEN, C.G.; THOMSEN, H.K.; KIRSTEIN, D.; SKAK-NIELSEN, T.; AHNELT-RONNE, I.; THESTRUP-PEDERSEN, K. Recombinant human interleukin 8 is a potent stimulator of canine neutrophil aggregation, migration and leukotriene B₄ biosynthesis. *J. Invest. Dermatol.*, v.96, p.260-266, 1991.
- THOMSEN, M.K. & STROM, H. Biological variation in random and leukotriene B₄ directed migration of canine neutrophils. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.21, p.219-224, 1989.
- THOMSEN, M.K. & THOMSEN, H.K. Effects of interleukin - 1 alpha on migration of canine neutrophils *in vitro* and *in vivo*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.26, p.385-393, 1990.
- VENKATALAKSHMI, S. & MICHAEL, R.D. Immunostimulation by leaf extract of *Ocimum Sanctum* Linn. In *Oreochromis mossambicus*. *J. Aquacult. Trop.*, v.16, n.1, p.1-10, 2001.
- YULE, T.D.; ROYH, M.B.; DREIER, K.; JOHNSON, A.F.; PALMER-DENSMORE, M.; SMMONS, K.; ZAR, J.H. *Bioestatistical analysis*. 2.ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1984. 718p.
- ZINKL, J.G. & KABBUR, M.B. Neutrophil function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds.). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. p.285-302.

Recebido em 5 / 7 / 04

Aceito em 30 / 9 / 04