

DENSIDADE URINÁRIA, DOSAGENS SÉRICAS DE URÉIA, CREATININA E PROTEÍNA TOTAL NA AFLATOXICOSE EXPERIMENTAL EM CÃES (*Canis familiaris*)¹

URINE SPECIFIC GRAVITY, BUN, CREATININE AND TOTAL SERUM PROTEIN IN CANINE EXPERIMENTAL AFLATOXICOSIS

Virginia Peretti Torelly² Janio Morais Santurio³ Luiz Carlos Ribeiro Fan⁴

RESUMO

As aflatoxinas, embora principalmente hepatotóxicas, já foram descritas como nefrotóxicas em várias espécies animais. Neste trabalho, a patologia clínica veterinária foi utilizada para avaliar as alterações renais na aflatoxicose experimental em cães. Utilizaram-se quatro grupos de 5 cães, com colheitas diárias de sangue e urina, durante 12 dias consecutivos; nos quais realizaram-se dosagens séricas de uréia, creatinina e proteína total, e urinálise. O experimento foi dividido em três períodos, sendo o período 0 (dias 1 a 3) referente a colheita de dados para controle, período 1 (dias 4 a 8) considerando o tempo de administração da toxina e período 2 (dias 9 a 12) ao tempo após a intoxicação. As doses de aflatoxina usada foram de 100, 200, 400, e 600 µg/kg/dia, respectivamente para os grupos I, II, III, IV, por via oral, misturada ao alimento, pelo período de cinco dias. As taxas de uréia e creatinina variaram dentro do intervalo normal dos valores de referência da literatura consultada. A proteína total e a densidade urinária estiveram próximas ou acima dos valores máximos de referência devido a hemoconcentração. A análise estatística evidenciou uma diminuição progressiva nos valores de uréia, creatinina e densidade urinária, com relação ao aumento da dose usada em cada grupo. Este fato foi atribuído à maior ingestão de água. Através dos resultados obtidos, concluiu-se que as doses aplicadas não foram suficientes para detectar lesão renal.

Palavras-chave: aflatoxicose, cães, função renal, uréia, creatinina e proteína total sérica.

SUMMARY

Aflatoxins, although primary hepatotoxic agents, were injurious to kidney in several animal species. Veterinary clinical pathology was used to determine renal changes in canine experimental aflatoxicosis. Four groups of five dogs were used. Blood and urine samples were collected for the twelve following days. BUN, creatinine, total serum protein and urinalysis were done. The experiment was divided in three periods: period 0 (days 1 to 3) referred to the control data, period 1 (days 4 to 8) to the aflatoxin administration days, and period 2 (days 9 to 12) the days after the poisoning. 100, 200, 400 and 600 µg/kg/day of aflatoxin for the I, II, III and IV groups respectively, by oral pathway, mixed to the food, were used for five days. BUN and creatinine were within the normal ranges. Total serum protein and urine specific gravity were near or above upper limits due to hemoconcentration. Statistics showed a diminution of BUN, creatinine and urine specific gravity values according to the increased aflatoxin doses applied in each group. This was attributed to an increase of water intake. According to the results of this investigation, the conclusion is that the doses used were not sufficient to determine renal damage.

¹Parte da Dissertação de Mestrado apresentada pelo primeiro autor ao Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

²Médico veterinário, Professora Assistente, Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Agência Universitária, Caixa Postal 5038, 97111-970 Santa Maria, RS. Autor para correspondência.

³Médico veterinário, Professor Adjunto, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, CCR, UFSM.

⁴Médico veterinário, Pesquisador do CNPq.

Key words: *aflatoxicosis, dogs, renal function, BUN, creatinine, total serum protein.*

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas são metabólitos fúngicos secundários tóxicos produzidos por certas linhagens de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*. Ocorrem em cereais e sementes oleaginosas utilizadas para consumo animal, como milho e amendoim.

O quadro clínico da aflatoxicose canina caracteriza-se por anorexia, prostração, icterícia, alguns episódios de emese e diarreia sanguinolenta (JERICÓ *et al.*, 1985). SEIBOL & BAILEY (1952) descreveram a doença com a denominação de "hepatite x dos cães" por não saberem sua etiologia. Pouco mais tarde, BAILEY & GROTH (1959) chegaram à conclusão de que a "hepatite x dos cães" e a intoxicação por milho mofado dos suínos eram produzidas pelo mesmo agente etiológico. NEWBERNE *et al.* (1966) intoxicaram cães com aflatoxina B₁ e observaram que os resultados davam forte sugestão de que a intoxicação experimental por aflatoxina e a "hepatite x dos cães" eram a mesma doença, embora faltassem evidências conclusivas. Finalmente CHAFFEE *et al.* (1969) confirmaram a etiologia da doença. Posteriormente, intoxicações naturais (KETTERER *et al.*, 1975, KRISHNAMACHARI *et al.*, 1975, TANDON *et al.*, 1977, GREENE *et al.*, 1977, LIGGETT *et al.*, 1986, ONYEKWEODIRI *et al.*, 1988) e experimentais (RAJAN & MOHIYUDDEN, 1973) foram estudadas em cães, e artigos de revisão foram publicados (HESSELTINE, 1967, EDDS, 1973, NEWBERNE, 1973). No Brasil, há relatos da doença já em 1950 (SANTOS, 1966), e JERICÓ *et al.* (1985) descreveram a doença por ingestão de ração comercial contaminada. Ainda em nosso país, de acordo com o relato de HAGIWARA *et al.* (1990), foi observado quadro de coagulação intravascular disseminada.

O órgão-alvo principal na aflatoxicose é o fígado, no entanto, os rins também excretam a aflatoxina B₁ e a medula renal é sensível a essa micotoxina (GROSMAN *et al.*, 1983). LIGGETT *et al.* (1986) observaram numerosos cristais de bilirrubina com marcada bilirrubinúria na urinálise em cães, enquanto HAGIWARA *et al.* (1990) registraram pigmentos biliares (++) além de proteínas (100mg/dl) e cilindros granulosos. SEIBOL & BAILEY (1952) dosaram o BUN (nitrogênio uréico sanguíneo), que multiplicado por 2,14 dá a estimativa do valor de uréia em mg/dl segundo DOXEY (1985), e obtiveram valores marcadamente elevados em um de 6 cães, e THAMMAN *et*

al. (1987) taxa de 26,5 (±0,5)mg/dl após a intoxicação. JERICÓ *et al.* (1985) obtiveram aumentos de uréia (até 236,4mg/dl) e de creatinina (até 4,3mg/dl) em 2 de 9 cães intoxicados. A proteína total sérica foi dosada por GREENE *et al.* (1977) observando valores entre 2,54 a 6,2g/dl, por JERICÓ *et al.* (1985) registrando valores entre 3,9 e 5,0g/dl, THAMMAN *et al.* (1987) obtendo taxa média de 4,3 (±0,1)g/dl após a intoxicação e ONYEKWEODIRI *et al.* (1988) demonstrando concentrações entre 3,4 e 4,6g/dl.

O objetivo do presente trabalho foi evidenciar alterações renais na aflatoxicose experimental em cães, através dos testes comumente utilizados em patologia clínica veterinária.

MATERIAIS E MÉTODOS

Formaram-se quatro grupos de 5 cães sem raça definida, machos e fêmeas, adultos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria, retirados do biotério em grupos de cinco por vez que, após avaliação clínica, receberam medicação anti-helmíntica (Albendazol na dose única de 20mg/10kg de peso, via oral), foram alojados em boxes individuais, alimentados com ração comercial para cães^a e alimento preparado à base de arroz e carne. Diariamente e por 12 dias consecutivos em cada grupo, foram colhidas amostras de urina por micção espontânea e 5ml de sangue total sem anticoagulante puncionados da veia cefálica e, algumas vezes, da jugular.

O experimento foi dividido em três períodos: o período 0 (dias 1, 2 e 3), foi aquele relativo à colheita de material para obter-se valores de controle para os cães; o período 1, compreendeu os dias 4, 5, 6, 7, e 8 nos quais se administrou a toxina, e o período 2, que considerou os dias 9, 10, 11 e 12, representou aquele do acompanhamento após a administração da toxina. No período 1, administraram-se doses únicas diárias de 100, 200, 400 e 600µg de aflatoxina/kg de peso respectivamente para os grupos I, II, III e IV, por via oral e misturada ao alimento (preparado).

A aflatoxina foi produzida em fermentação de arroz parabolizado com *Aspergillus parasiticus* da linhagem NRRL 2999, no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Santa Maria, segundo técnica de SHOTWELL *et al.* (1966) modificada e a quantificação realizada por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), obtendo-se os seguintes valores: 259,3mg de aflatoxina por quilo do produto (farelo de arroz), sendo 73,84% de aflatoxina B₁, 19,4% de G₁, 4,81% de B₂ e 1,88% de G₂.

Os exames realizados foram urinálise completa, com o uso de fitas reagentes^b, dosagens de proteína total sérica por refratometria, e dosagens de uréia e creatinina séricas por método colorimétrico utilizando "kits" comerciais^c e espectrofotômetro.

O sangue foi centrifugado a 1500rpm imediatamente após a colheita e até ser obtida a separação do soro, analisando-se as amostras no mesmo dia. As amostras de urina foram analisadas logo após a obtenção e até o tempo máximo de duas horas do início das colheitas, sendo centrifugados 10ml de urina a 1500rpm por 5 minutos para obtenção do sedimento urinário.

Realizou-se análise estatística dos valores obtidos para as determinações efetuadas no soro e urina, aplicando-se análise de Correlação, de Variância, e de Regressão. As médias foram comparadas utilizando-se Teste de Tukey.

Três cães foram descartados do experimento por apresentarem alterações nos exames de controle, alterando-se a composição dos grupos II, III e IV para quatro cães.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com as doses de 100, 200, 400, a 600 μ g/kg de aflatoxina, ministrada a cada grupo de cães durante 5 dias consecutivos, observaram-se algumas alterações clínicas compatíveis com um quadro de intoxicação por aflatoxina, embora leves, apesar das doses mais elevadas estarem próximas da DL 50 para cães determinada por NEWBERNE *et al.* (1966) e WOGAN (1966); no entanto, estes autores consideraram apenas a aflatoxina B₁ em seus estudos. No presente trabalho, o tempo de ingestão da aflatoxina e observação dos animais pode ter sido curto para verificar as conseqüências da ingestão da toxina. NEWBERNE *et al.* (1966) observaram que não houve mortes com a dose única de 0,5mg/kg de peso em cães, e estes animais sacrificados entre 2 a 14 dias após a administração demonstraram lesões hepáticas, e também com a dose de 0,2mg/dia por 15 dias não ocorreram óbitos até 13 dias após a última dose, embora lesões hepáticas moderadas a severas fossem notadas, e enquanto o tratamento com 0,2mg/dia por 30 dias determinou anorexia, perda de peso e icterícia. Outro fato, é devido aos cães terem recebido uma dieta com proteína além de suas necessidades básicas, porque forneceu-se ração comercial, balanceada para as necessidades da espécie, acrescida de carne e leite, e isto pode ter influenciado a intensidade da intoxicação, uma vez que baixos níveis de proteína aumentaram a severidade da aflatoxicose em galinhas

(SHAEFFER & HAMILTON, 1991) e ratos (MADHAVAN & GOPALAN, 1965, SHAEFFER & HAMILTON, 1991). Além disso, MADHAVAN & GOPALAN (1968) citam que níveis baixos de proteína protegem contra o efeito carcinogênico em ratos, parecendo, então, que níveis altos de proteína protegem contra efeitos agudos, predispondo aos efeitos carcinogênicos.

Alguns cães tiveram apetite caprichoso concordando com a diminuição de apetite citada por HESSELTINE (1967). Observou-se avidez em ingerir água, principalmente nos grupos III e IV, o que concorda com os relatos de KETTERER *et al.* (1975) que constataram, em um cão intoxicado, um beber intermitente de grandes volumes de água e de GREENE *et al.* (1977) que encontraram poliúria com polidipsia. Houve persistência de sangramento nos locais de punção sangüínea nos cães intoxicados, fato também observado por HAGIWARA *et al.* (1990), enquanto ONYEKWEODIRI *et al.* (1988) encontraram somente uma tendência ao sangramento prolongado que puderam ser explicadas pelo efeito semelhante à cumarina causado pela aflatoxina (CHAFFEE *et al.*, 1969, WANNEMACHER Jr. *et al.*, 1991), ou à diminuição de plaquetas, HAGIWARA *et al.* (1990). O prejuízo ao estado nutricional dos cães, principalmente nos grupos III e IV, foi provável conseqüência da diminuição de apetite. Cinco cães eliminaram sangue nas fezes, fato também encontrado por SEIBOL & BAILEY (1952), BAILEY & GROTH (1959). Vômitos foram apresentados por um cão intoxicado, concordando com os registros de SEIBOL & BAILEY (1952), RAJAN & MOHIYUDDEN (1973), KETTERER *et al.* (1975), TANDON *et al.* (1977), JERICÓ *et al.* (1985).

As médias e desvios-padrões demonstrados para uréia nos períodos da administração da aflatoxina (Tabela 1) e após (Tabela 2) variaram de 20,99(\pm 6,94) a 29,46(\pm 9,28)mg/dl, e para a creatinina oscilaram entre 0,84(\pm 0,13) a 1,27(\pm 0,57)mg/dl, assemelhando-se aos valores de referência da literatura e diferindo daqueles evidenciados por SEIBOL & BAILEY (1952), JERICÓ *et al.* (1985), THAMMAN *et al.* (1987) que encontraram valores elevados na aflatoxicose canina.

As médias das concentrações de proteína total sérica nos períodos da administração da aflatoxina (Tabela 1) e após (Tabela 2) variaram de 7,50(\pm 0,83) a 8,57(\pm 0,70)g/dl, ficando próximas ou superiores aos valores máximos de referência da literatura, contrariando os achados de GREENE *et al.* (1977), JERICÓ *et al.* (1985), THAMMAN *et al.* (1987) e ONYEKWEODIRI *et al.* (1988), os quais

registraram valores baixos para a proteína total nos casos da intoxicação. Por outro lado, também deve-se considerar que os valores da proteína total já estavam altos antes do início da administração da toxina (período 0 - controle, Tabela 3), sugerindo que houve influência do manejo dos animais. Os valores médios da densidade urinária também foram altos, variando de 1031(±12,80) a 1046(±12,80), inclusive os de controle (Tabela 3), quando confrontados com aqueles obtidos por autores como WILKES *et al.* (1980), OSBORNE & POLZIN (1983), DOXEY (1985), Mc CAW *et al.* (1989) e WILLARD (1989). Porém, de acordo com BENJAMIN (1979), DUNCAN & PRASSE (1982) e OSBORNE & POLZIN (1983) a densidade urinária pode variar normalmente de 1001 a 1060 ou mais, estando assim dentro de um intervalo de normalidade. Através da análise estatística dos resultados, demonstrou-se haver uma relação linear significativa entre a proteína total e a densidade urinária ($P < 0,0469$), sendo que a equação

$$PT = -2,09 + 0,009 \cdot DU$$

define o relacionamento entre as duas variáveis ($CV=10,84$, $r^2 = 0,02$). Então pode ter ocorrido uma desidratação leve, não detectável clinicamente (menor que 4%, segundo FENNER, 1985). As diferenças estatisticamente significativas entre os valores de uréia no período de controle (Tabela 3) foram atribuídas à dieta.

Tabela 1. Médias e desvio-padrão (±) para as dosagens de uréia, creatinina, proteína total (PT) e densidade urinária (DU) durante o período de administração da aflatoxina.

Grupos (doses em µg/kg)	I(100)	II(200)	III(400)	IV(600)
Soro (n)	25	20	20	20
Urina (n)	25	19	18	19
Uréia* (mg/dl)	29,46a#	26,73ab	23,60ab	20,99 b
(±)	(9,28)	(14,49)	(5,97)	(6,94)
Creatinina(mg/dl)	1,08ab	1,27a	0,89 bc	0,87 c
(±)	(0,27)	(0,57)	(0,40)	(0,31)
PT (g/dl)	8,18ab	7,70 bc	7,50 c	8,57a
(±)	(0,60)	(0,74)	(0,83)	(0,70)
DU	1039a	1041a	1031ab	1028 b
(±)	(8,71)	(19,28)	(11,58)	(10,66)

*Uréia ($P < 0,0101$); $CV = 10,55$; $r^2 = 0,12$;
 Creatinina ($P < 0,0002$); $CV = -1671,22$; $r^2 = 0,21$;
 Proteína Total ($P < 0,0001$); $CV = 4,40$; $r^2 = 0,24$;
 Densidade urinária ($P < 0,0069$); $CV = 1,23$; $r^2 = 0,14$;
 # Letras diferentes indicam valores médios diferentes pelo teste de Tuckey.

Tabela 2. Médias e desvio-padrão (±) para as dosagens de uréia, creatinina, proteína total (PT) e densidade urinária (DU) durante o período após a administração da aflatoxina.

Grupos (doses em µg/kg)	I(100)	II(200)	III(400)	IV(600)
Soro (n)	20	16	16	16
Urina (n)	20	15	16	16
Uréia* (mg/dl)	27,17a#	25,52ab	21,38 b	21,40 b
(±)	(6,75)	(7,19)	(5,66)	(4,67)
Creatinina (mg/dl)	1,09a	1,16a	0,84 b	0,91 b
(±)	(0,16)	(0,20)	(0,13)	(0,27)
PT (g/dl)	7,97ab	8,46a	7,70 b	7,85ab
(±)	(0,44)	(0,85)	(0,91)	(0,89)
DU	1040ab	1046a	1034 b	1031 b
(±)	(8,84)	(12,80)	(10,96)	(12,80)

*Uréia ($P < 0,0132$); $CV = 8,14$; $r^2 = 0,15$;
 Creatinina ($P < 0,0001$); $CV = -1443,70$; $r^2 = 0,31$;
 Proteína Total ($P < 0,0432$); $CV = 4,75$; $r^2 = 0,11$;
 Densidade urinária ($P < 0,0020$); $CV = 1,08$; $r^2 = 0,20$;
 # Letras diferentes indicam valores médios diferentes pelo teste de Tuckey.

Tabela 3. Médias e desvio-padrão (±) para as dosagens de uréia, creatinina, proteína total (PT) e densidade urinária (DU) no período de controle.

Grupos (doses em µg/kg)	I(100)	II(200)	III(400)	IV(600)
Soro (n)	15	12	12	12
Urina (n)	15	11	12	10
Uréia* (g/dl)	26,38ab#	31,85a	19,21 c	21,38 bc
(±)	(5,24)	(7,27)	(4,88)	(5,79)
Creatinina (mg/dl)	1,08	1,06	0,97	0,94
(±)	(0,27)	(0,32)	(0,38)	(0,38)
PT(g/dl)	8,41	7,88	8,05	8,33
(±)	(1,10)	(1,41)	(0,84)	(0,60)
DU	1036	1045	1040	1037
(±)	(10,78)	(11,26)	(11,88)	(12,10)

* Uréia ($P < 0,0001$); $CV = 7,34$); $r^2 = 0,39$);
 # Letras diferentes indicam valores médios diferentes pelo teste de Tuckey.

A uréia, creatinina e a densidade urinária tiveram relação linear decrescente com relação às doses nos períodos 1 (Tabela 1) e 2 (Tabela 2). Isso

pode ser explicado pela maior ingestão de água, que aparentemente ocorreu, sendo notada avidez em ingerir a mesma.

As urinálises não evidenciaram nefropatia, hepatopatias e nem doenças metabólicas, de acordo com os dados de referência da literatura, estando assim ausentes os sinais de nefro e hepatotoxicidade demonstrados por LIGGETT *et al.* (1986) e HAGIWARA *et al.* (1990).

As dosagens de uréia e creatinina, e a medida da densidade urinária, não evidenciaram alteração de função renal, diferindo de GROSMAN *et al.* (1983) e GLAHN *et al.* (1991) sobre a alteração da mesma na aflatoxicose em ratos e aves respectivamente, porém não descartam a possibilidade de interferência sobre o funcionamento renal. Segundo KLUWE (1981), o rim do mamífero, em estado normal, utiliza somente uma porção (aproximadamente 20 a 25%) da capacidade renal total, e os testes padrões podem ser insuficientemente sensíveis para detectar efeitos tóxicos súbitos, por causa dessa grande reserva funcional. Talvez, doses maiores e por tempo mais prolongado pudessem evidenciar alterações renais com os testes empregados.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, é permitido concluir-se que: os valores das taxas de uréia e creatinina séricas não tiveram elevação para caracterizar insuficiência renal; a densidade urinária apresentou valores que indicaram função tubular renal normal;

FONTES DE AQUISIÇÃO

- a - Guabi Trotter - Alisul Indústria de Alimentos. Rua João Carlos Hohendorf, 930. São Leopoldo - RS.
- b - Rapignost Total - Screen - Behring. Behringweike AG, Marburg, Germany.
- c - Bioclin - Químico Básica LTDA. Rua Teles de Menezes, 92. Belo Horizonte - MG.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILEY, W.S., GROTH, A.H. The relationship of hepatitis x of dogs and moldy corn poisoning of swine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 134, p. 514-516, 1959.
- BENJAMIN, M.N. *Outline of veterinary clinical pathology*. 3. ed. Ames: The Iowa State University Press, 1979. 351 p.
- CHAFFEE, V.W., EDDS, G.T., HIMES, J.A., *et al.* Aflatoxicosis in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v. 30, n. 10, p. 737-749, 1969.
- DOXEY, D.L. *Patologia clínica e métodos de diagnóstico*. 2. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1985. 306 p.
- DUNCAN, R.J., PRASSE, K.W. *Patologia clínica veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982, 217 p.
- EDDS, G.T. Acute aflatoxicosis: a review. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 162, n. 4, p. 304-308, 1973.
- FENNER, W.R. *Manual de prática clínica veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985. 413 p.
- GLAHN, R.P., BEER, K.W., BOTTJE, W.G. Aflatoxicosis alters avian renal function, calcium, and vitamin D metabolism. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, v. 34, n. 3, p. 309-321, 1991.
- GREENE, C.E., BARSANTI, J.A., JONES, B.D. Disseminated intravascular coagulation complicating aflatoxicosis in dogs. *Cornell Veterinarian*, v. 67, n. 1, p. 29-49, 1977.
- GROSMAN, M.E., ELÍAS, M.M., COMIN, E.J. *et al.* Alterations in renal function induced by aflatoxin B₁ in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 69, n. 3, p. 319-325, 1983.
- HAGIWARA, M.K., KOGIKA, M.M., MALUCELLI, B.E. Disseminated intravascular coagulation in dogs with aflatoxicosis. *Journal of Small Animal Practice*, v. 31, p. 239-243, 1990.
- HESELTIME, C.W. Aflatoxins and other mycotoxins. *Health Lab Sci*, v. 4, n. 4, p. 222-228, 1967.
- JERICÓ, M.M., ANDRADE NETO, J.P., PURCHIO, A. *et al.* Ocorrência natural de aflatoxicose em cães. *Veterinária Brasileira*, v. 3, p. 5-9, 1985.
- KETTERER, P.J., WILLIAMS, E.S., BLANEY, B.J. *et al.* Canine aflatoxicosis. *Australian Veterinary Journal*, v. 51, p. 355-357, 1975.
- KLUWE, W.M. Renal function tests as indicator of kidney injury in subacute toxicity studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 57, n. 3, p. 414-424, 1981.
- KRISHNAMACHARI, K.A.V.R., RAMESH, V., BHAT, V.N. *et al.* Investigations into an outbreak of hepatitis in parts of Western India. *Indian Journal of Medical Research*, v. 63, n. 7, p. 1036-1049, 1975.
- LIGGETT, A.D., COLVIN, B.M., BEAVER, R.W., *et al.* Canine aflatoxicosis: a continuing problem. *Veterinary and Human Toxicology*, v. 28, n. 5, p. 428-430, 1986.
- MADHAVAN, T.V., GOPALAN, C. Effect of dietary protein on aflatoxin liver injury in weanling rats. *Arch Pathol*, v. 80, p. 123-126, 1965.
- MADHAVAN, T.V., GOPALAN, C. The effect of dietary protein on carcinogenesis of aflatoxin. *Arch Pathol*, v. 85, p. 133-137, 1968.

- Mc CAW, D., FLEMING, E.J., MIKICIUK, M.G. Interpreting the results of urinalysis: a key to diagnosing renal disorders. *Veterinary Medicine*, v. 84, n. 3, p. 281-286, 1989.
- NEWBERNE, P.M., RUSSO, R., WOGAN, G.N. Acute toxicity of aflatoxin B₁ in the dog. *Pathologia Veterinaria*, v. 3, n. 4, p. 331-340, 1966.
- NEWBERNE, P.M. Chronic Aflatoxicosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 163, n. 11, p. 1262-1267, 1973.
- ONYEKWEODIRI, E.O., ASUZU, I.U., SHETTY, S.N. Natural aflatoxicosis in Alsatian dogs in Nigeria. *Bull Anim Hlth Prod Afr*, v. 36, p. 380-384, 1988.
- OSBORNE, C.A. POLZIN, D.J.. Azotemia: a review of what's old and what's new - part I. Definition of terms and concepts. *Compendium of Continuing Education*, v. 5, n. 6., p.497-508, 1983.
- RAJAN, A., MOHIYUDDEN, S. Comparative pathology of the endocrine glands in experimental aflatoxicosis in dogs, guinea pigs, ducklings and chicken. *The Indian Veterinary Journal*, v. 50, n. 6, p. 501-508, 1973.
- SANTOS, J.A. dos. Aflatoxina e câncer hepático. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 1, p. 75-85, 1966.
- SEIBOL, H.R., BAILEY, W.S. An epizootic of hepatitis in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 121, p. 201-206, 1952.
- SHAEFFER, J.L., HAMILTON, P.B. Interactions of mycotoxins with feed ingredients. Do safe levels exist? In: SMITH, J.E., HENDERSEN, R.S.. *Mycotoxins and animal foods*. Florida: CRC Press, 1991. p. 827-843.
- SHOTWELL, O.L., HESSELTINE, C.W., STUBBLEFIELD, R.D. *et al.* Production of aflatoxin on rice. *Applied Microbiology*, v. 14, n. 3, p. 425-428, 1966.
- TANDON, B.N., KRISHNAMURTHY, L., KOSHY, A., *et al.* Study of an epidemic of jaundice, presumably due to toxic hepatitis, in northwest India. *Gastroenterology*, v. 72, n. 3, p. 488-494, 1977.
- THAMMAN, N.P., GALHOTRA, A.P., GUPTA, P.P. Pathological changes in experimental aflatoxicosis in dogs. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 57, n. 6, p. 537-541, 1987.
- WANNEMACHER Jr., R.W., BUNNER, D.L., NEUFELD, H.A. Toxicity of trichothecenes and other related mycotoxins in laboratory animals. In: SMITH, J.E., HENDERSEN, R.S. *Mycotoxins and animal foods*. Florida: CRC Press, 1991. p. 499-552.
- WILKES, R.D., GOLDSTON, R.T., SEYBOLD, I.M. Urinalysis: the physical and chemical examination. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, v. 75, n. 11, p. 1683-1686, 1980.
- WILLARD, M.D. Urinary disorders. In: WILLARD, M.D., TVEDTEN, H., TURNWALD, G.H.. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1989. p. 121-153.
- WOGAN, G.N. Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. *Bacteriological Review*, v. 30, n. 2, p. 460-470, 1966.