

Caracteres físico-químicos e citológicos do liquor de cães em diferentes fases da cinomose

Physical, chemical and cytological profiles of cerebrospinal fluid of dogs in different stages of distemper

Fernanda Gomes Velasque Gama¹ Celina Tie Nishimori¹
Márcia Rosa Sobreira² Aureo Evangelista Santana³

RESUMO

O líquido cerebrospinal é útil no diagnóstico, acompanhamento e prognóstico de enfermidades neurológicas caninas. Dentre elas, a cinomose é considerada a encefalite mais comum nos cães e inúmeras alterações podem ocorrer neste fluido frente a esta enfermidade. Sendo assim, diante da possível verificação de anormalidades precoces relacionadas com esta virose, amostras líquóricas de cães portadores do vírus da cinomose, na fase neurológica e não neurológica foram avaliadas quanto à coloração, aspecto, pH, densidade, glicose, proteínas totais, celularidade e comparadas com amostras líquóricas de cães hígidos. Os parâmetros coloração, aspecto, pH, densidade e glicose mostraram-se semelhantes entre animais acometidos pela cinomose, independentemente da fase evolutiva da doença, e animais normais. A concentração líquórica de proteínas totais mostrou-se mais elevada nos animais portadores de sinais neurológicos, bem como a celularidade total, cuja pleocitose foi observada em 50% dos cães deste mesmo grupo, com predominância de mononucleares.

Palavras-chave: cinomose, líquido cerebrospinal, cães, sistema nervoso central.

ABSTRACT

The cerebrospinal fluid is useful to diagnosis, monitoring and prognosis canine neurological diseases. Among them distemper is considered the most common encephalitis in dogs and several alterations can be observed in this fluid with this disease. Since the early abnormalities related to this virus were possibly verified, CSF samples of

dogs infected by distemper virus, with or without neurological signs were collected. The samples were evaluated according to colour, turbidity, pH, specific gravity, glucose, total proteins, and cytological examination, and then were compared to CSF samples of healthy dogs. The parameters related to colour, turbidity, pH, specific gravity, glucose showed to be similar between all animals studied in this attempt. The CSF total protein concentration revealed higher values in animals with neurological signs of distemper, as the cellularity, whose pleocytosis with predominance of mononuclear cells was observed in 50% of dogs among this group.

Key words: distemper, cerebrospinal fluid, dogs, central nervous system.

INTRODUÇÃO

O líquido cefalorraquidiano (LCR) é produzido preponderantemente nos ventrículos cerebrais e banha o sistema nervoso central (SNC) e parte do sistema nervoso periférico. Tem as funções de proteção, nutrição e, ainda, a faculdade de promover a defesa do sistema nervoso, transportando e colocando frente a frente agentes injuriantes e células e moléculas de defesa. A conservação das referidas propriedades e funções só é possível graças às trocas ativas que ocorrem continuamente e que conferem o dinamismo dos constituintes do liquor. Deste modo,

¹Médico Veterinário, Doutorando, Departamento de Clínica e Cirurgia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil.

²Médico Veterinário, Professor, Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

³Professor Adjunto, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, (FCAV), (UNESP), Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: santana@fcav.unesp.br. Autor para correspondência.

os constituintes líquóricos podem refletir tanto situações de normalidade quanto patológicas, visto que sua composição varia diretamente com estas diferentes situações. Por conseguinte, a colheita e a análise do LCR demonstram ser meios viáveis e eficazes de acesso e avaliação do sistema nervoso, no que diz respeito ao diagnóstico e prognóstico de suas inúmeras enfermidades.

WRIGHT (1978) ressalta ser possível aplicar ao LCR alguns dos inúmeros testes aplicados ao sangue e a outros fluidos biológicos obtendo-se informações importantes e de grande valor diagnóstico, destacando-se a coloração, aspecto, pH, densidade, glicose, proteínas totais e celularidade. Desta forma, no tocante à coloração CHRISMAN (1985) e COLES (1986) relatam que o líquido cefalorraquidiano normal é claro e incolor, porém em condições patológicas pode apresentar-se amarelado ou xantocrômico, indicando presença de bilirrubina, proveniente de possíveis hemorragias antigas ou rosado a avermelhado indicando hemorragias acidentais no momento da colheita.

Quanto ao aspecto, o liquor normal é completamente transparente e WRIGHT (1978), COLES (1986), FELDMAN (1989) e BRAUND (1994) relatam que um liquor turvo está relacionado, principalmente, ao aumento da sua celularidade, mas somente quando a contagem global de células ultrapassa a 500 células/ μL de liquor. FEITOSA et al. (1997) encontrou turbidez discreta em amostras de liquor de cães portadores de cinomose e relacionou-a ao aumento de proteína total no LCR. A densidade líquórica tem valores normais compreendidos entre 1,003 a 1,012, de acordo com KAY et al. (1974). MAYHEW & BEAL (1980) asseveram que a elevação deste parâmetro pode ocorrer nos casos de pleocitose e aumento dos níveis protéicos no liquor, também referidos por FEITOSA et al. (1997).

FELDMAN (1989) relata que, em estudos laboratoriais envolvendo animais, estabeleceu-se a presença de mecanismos homeostáticos a favor da manutenção de um pH líquórico relativamente constante e próximo daquele do sangue (7,35 e 7,45), mesmo frente a mudanças de pH sistêmico. A glicorraquia é outro ente químico importante a se observar no LCR e, deste modo, COLES (1986), MCGUIRK & MACWILLIAMS (1992) indicam que a concentração de glicose no liquor varia diretamente com a plasmática, representando de 60 a 80% da taxa de glicemia em cães normais, estando compreendida entre 40 a 80mg dL^{-1} . COLES (1986) ressalta que, em encefalites infecciosas, principalmente bacterianas, é possível observar hipoglicorraquia em razão do consumo de glicose por tais microrganismos.

Quanto à celularidade líquórica, WILSON & STEVENS (1977) relatam que o LCR normal não contém eritrócitos, porém uma hemorragia recente ou contaminação por sangue periférico poderá resultar na presença de hemácias. Em condições de normalidade e sem contaminações, o número total de células nucleadas geralmente não ultrapassa 8 céls/ μL , dentre as quais são encontrados linfócitos, monócitos e macrófagos, como reportado por FELDMAN (1989) e FERNANDES (1990). Por outro lado, em condições patológicas, VANDELDELDE & SPANO (1977) e FEITOSA et al. (1997) relatam que, geralmente, em cães portadores de encefalite ocorre hiper celularidade líquórica, em cujas infecções virais a pleocitose é caracterizada por maior quantidade de linfócitos, havendo ainda, a presença de monócitos, macrófagos e raros neutrófilos. COLES (1986) ressalta que o achado de pleocitose de natureza linfocíticas também pode ocorrer nas infecções crônicas, tóxicas ou, ainda, na uremia. Em casos de doenças bacterianas, VANDELDELDE & SPANO (1977) e SAFARTY et al. (1986) encontraram aumento marcado de polimorfonucleares, principalmente neutrófilos. Já a presença de eosinófilos foi relatada pelos supracitados autores nos casos de infecções por fungos ou parasitas.

Segundo COLES (1986), o liquor normal, proveniente da cisterna magna, possui aproximadamente 12 a 40mg dL^{-1} de proteína, já FERNANDES (1990) encontrou valor médio de 20mg dL^{-1} e BRAUND (1994) considera normal quantidades entre 25 e 30mg dL^{-1} . Os referidos autores relatam que o componente protéico do LCR é quase que totalmente constituído de albumina, sendo que pequenas quantidades de globulinas podem ser encontradas. No entanto, em situações de quebra do estado de higidez do SNC, os níveis protéicos podem estar aumentados, principalmente nos casos de encefalites, tal qual constatado por SORJONEM (1987) em cães com cinomose, toxoplasmose, meningite, abscessos de medula ou cérebro e, também, em condições não-inflamatórias caracterizadas por estados convulsivos e uremia.

GREENE (1984) afirma que, dentre os processos patológicos que acometem o SNC, a cinomose é a causa de encefalite mais comum no cão. Esta enfermidade viral não tem predileção por sexo, idade ou raça (BRAUND, 1994). Segundo FENNER (1995), a principal forma de transmissão é por disseminação hematígena de partículas virais, com invasão de tecidos linfóides e a seguir dos tratos respiratório, gastrointestinal, tegumentar e nervoso (CHRISMAN, 1985). Neste caso, o que definirá a

gravidade da enfermidade e a disseminação do vírus pelos diferentes órgãos será a resposta imune do animal e, assim, animais previamente imunizados podem vencer o vírus ainda no território linfóide, evitando a invasão para outros órgãos. Porém, indivíduos imunossuprimidos permitem a replicação viral em diferentes tecidos, inclusive no sistema nervoso central, exteriorizando inúmeros sinais e culminando em óbito, na maioria dos casos (BRAUND, 1994).

Portanto, a análise do LCR, em cães, torna-se um recurso importante e altamente viável para caracterizar doenças que acometem freqüentemente o SNC, sendo a cinomose uma das mais relevantes, dentre elas, principalmente pelo número de pacientes que vêm a óbito, ou que sobrevivem, ainda que com seqüelas importantes. Dentro deste contexto, planejou-se o ensaio em tela tendo como escopo principal a avaliação físico-química e citológica do liquor de cães portadores do vírus da cinomose, com e sem sinais neurológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste experimento foram utilizados 30 cães, com ou sem raça definida, machos ou fêmeas, adultos, distribuídos em três grupos com 10 cães grupo⁻¹, assim caracterizados, grupo 1 (G1), grupo 2 (G2) e grupo 3 (G3). Grupo 1 formado por 10 cães clinicamente sadios, grupo 2, animais com cinomose, sem sinais neurológicos, formado por 10 cães apresentando pelo menos um dos seguintes sinais: secreção nasal e/ou ocular serosa a mucopurulenta, broncopneumonia, vômito e diarreia e grupo 3, cães com cinomose e sinais neurológicos, apresentando pelo menos um dos seguintes sinais: convulsões, paresia, ataxia, mioclonia, hipermetria, demência ou andar em círculos e nistagmo. Todos os animais foram obtidos junto à rotina do serviço ambulatorial do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Câmpus de Jaboticabal.

Os animais pertencentes aos grupos II e III foram selecionados com base na anamnese, exame físico e análises laboratoriais complementares, como sorologia para determinação de anticorpos contra o vírus da cinomose, realizada através da utilização de conjunto de reagentes Dot-Elisa^a. Desta forma, utilizaram-se apenas cães que não haviam sido previamente vacinados, que apresentavam títulos sorológicos elevados (igual ou maior que 4) e pelo menos um dos sinais supracitados. O líquido

cefalorraquidiano foi obtido por punção da cisterna magna, com o auxílio de agulhas (25x8) sendo, a seguir, transferido para frascos de vidro, após tranquilização prévia do animal com Levomepromazina^b e anestesia geral com Propofol^c. O aspecto e a cor do liquor foram avaliados comparando-se o tubo contendo a amostra com outro tubo de água destilada, ambos contra uma superfície de cor branca com letras impressas. A densidade foi obtida por refratometria^d e os valores de pH foram determinados mediante uso de tiras indicadoras de pH^e. As contagens globais de células foram realizadas em câmaras de Neubauer e as contagens diferenciais em preparações microscópicas obtidas por citocentrifugação^f, sendo, posteriormente, coradas com uma mistura de Metanol-May Grünwald-Giemsa. Tanto as contagens globais de células quanto as diferenciais foram realizadas prontamente após a obtenção das amostras, a fim de evitar a degeneração celular. A glicorraquia e a determinação dos valores de proteínas totais foram determinadas através do uso de conjunto de reagentes HK^g e Sensi Prot^g, respectivamente, cujas leituras foram realizadas em aparelho analisador bioquímico^h, por método colorimétrico.

Os resultados obtidos para as diferentes características estudadas foram analisados estatisticamente de acordo com o método Kruskal Wallis, sendo as médias consideradas estatisticamente significativas comparadas pelo teste de comparação múltipla Student-Newman-Keuls a 5% de probabilidade (PIMENTEL GOMES, 1987).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste experimento, todas as amostras de liquor coletadas, referentes aos três grupos de animais estudados, G1 (cães normais), G2 (animais com cinomose e sem sinais neurológicos) e G3 (animais com cinomose e com sinais neurológicos) apresentaram-se incolores e límpidas. Esses resultados concordam, em parte, com os encontrados por KAY et al. (1974) e WRIGHT (1978), os quais referem que amostras líquóricas de animais normais apresentam-se límpidas e incolores, como também corroboram os achados de ALLEMAN et al. (1992) e FEITOSA et al. (1997), os quais fazem referência a amostras líquóricas de animais com cinomose, igualmente incolores e límpidas. Autores como COLES (1986) e COOK & DENICOLA (1988) relacionam a turbidez líquórica à pleocitose, sendo observada já em amostras contendo 200cél^s μL^{-1} , porém tal achado não foi observado nas amostras

ensaiadas, nas condições deste experimento, mesmo frente a uma pleocitose de 240cél μL^{-1} . Adicionalmente, a turbidez pode ser explicada por aumento de concentrações protéicas líquóricas, como referido por MAYHEW & BEAL (1980) e BRAUND (1994), fato tampouco constatado neste trabalho, pois amostras contendo até 396mg dL $^{-1}$ revelaram-se límpidas, concordando com dados de experimentos realizados em cães com cinomose por FEITOSA et al. (1997).

Segundo MAYHEW & BEAL (1980) e CHRISMAN (1985), elevações da densidade do líquido cerebrospinal podem ocorrer nos casos de pleocitose, ou ainda, pelo aumento de seu componente protéico. Entretanto, nos animais estudados neste ensaio não foram observadas diferenças significativas, entre grupos com relação à densidade (Tabela 1) e, apesar dos animais do grupo G3 terem evidenciado valores maiores que aqueles dos grupos G1 e G2, estes não foram capazes de ultrapassar os limites considerados fisiológicos por KAY et al. (1974) e FEITOSA et al. (1997). Sendo assim, a pleocitose e as elevações das concentrações protéicas observadas nas amostras dos animais do grupo G3 não foram suficientes para elevar a densidade líquórica.

Os valores médios obtidos para o pH (Tabela 1), nos diferentes grupos estudados, não revelaram diferenças estatísticas, corroborando dados de FEITOSA et al. (1997), cujas médias de pH, em cães com cinomose, não ultrapassaram os limites de normalidade (8,0 e 8,5) reportados por MAYHEW & BEAL (1980) e CHRISMAN (1985), porém, mostraram-se um pouco acima dos valores (7,4 e 7,6) citados por FELDMAN (1989).

Os dados obtidos para glicorraquia não diferiram significativamente na comparação entre os grupos (Tabela 1), como asseverado por ABATE et al. (1998) muito pelo contrário situaram-se na faixa de normalidade (61 e 116mg dL $^{-1}$) citada por KAY et al. (1974). Ademais, os resultados, deste ensaio concordam com aqueles de COLES (1986), cujo encontro de hipoglicorraquia, em condições infecciosas, ocorre somente frente a microrganismos

com ação glicolítica importante, que não foi o caso do vírus da cinomose, neste experimento.

Com relação à contagem total de células nucleadas no liquor, observou-se que, nos animais dos grupos G1 e G2, a celularidade total não ultrapassou 2cél μL^{-1} , contagem esta aceita em condições normais por diversos autores dentre os quais, BAILEY & HIGGINS (1985) e FERNANDES (1990). Já nos animais do grupo G3, encontraram-se celularidades líquóricas variando entre 0 e 240cél μL^{-1} e somente foram consideradas pleocitóticas aquelas amostras as quais apresentaram-se com mais de 8cél μL^{-1} . Deste modo, 50% dos animais do grupo G3 demonstraram aumento da celularidade do LCR concordando com os achados de VANDELVELDE & SPANO (1977), THOMAS et al. (1993), os quais relacionam este achado à cinomose canina. No entanto, a magnitude desta pleocitose foi superior àquela aceita por BRAUND (1994), para enfermidades virais. Ademais, a ausência de células no LCR, em cães com cinomose e sinais neurológicos, também foi verificada por CHRISMAN (1985), ABATE et al. (1998) e TIPOLD (2003) que ainda associa este achado a cães em estágios iniciais e agudos da fase neurológica da referida enfermidade. Desta forma, a observação de 50% de amostras sem pleocitose pode ser explicada pelo fato de, neste experimento, não ser possível identificar o período em que os animais foram infectados e então fazerem parte do grupo G3 cães em diferentes estágios da fase neurológica da cinomose.

A contagem diferencial de células nucleadas não foi realizada na ausência de pleocitose, visto ser desnecessária como relataram os autores MAYHEW & BEAL (1980). Sendo assim, as celularidades diferenciais de 50% das amostras líquóricas de animais do grupo G3 demonstraram predomínio de mononucleares, da mesma forma que os achados de THOMAS et al. (1993), FEITOSA et al. (1997) e ABATE et al. (1998), para cães acometidos pela cinomose.

A determinação dos níveis protéicos líquóricos totais, nos animais dos grupos G1 e G2, coincidiu com valores considerados normais por

Tabela 1 - Valores médios e respectivos desvios-padrão (X \pm S) obtidos para densidade, pH, glicose, proteínas totais e células do líquido cerebral em cães hígidos (controle G1) e com cinomose, na ausência (G2) e na vigência (G3) de sintomas neurológicos, atendidos junto ao serviço ambulatorial do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal (SP), 2002.

Grupo	Densidade	pH	Glicose (mg/dL)	Pt (mg/dL)	Células (cél μL^{-1})
1	1,0061 \pm 1,0016	8,05 \pm 0,05	72,2 \pm 1,44	26,0 \pm 4,88	0,4 \pm 0,84
2	1,0063 \pm 1,0015	8,20 \pm 0,08	74,2 \pm 4,91	37,5 \pm 6,89	0,2 \pm 0,63
3	1,0077 \pm 1,0017	8,25 \pm 0,13	69,5 \pm 9,05	192,9 \pm 45,75*	47,2 \pm 76,50*

* Existe diferença estatística entre os grupos pela ANOVA (Kruskal-Wallis) seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (P<0,05).

BAILEY & HIGGINS (1985), FERNANDES (1990). Nos cães do grupo G3, observou-se aumento significativo do componente protéico do liquor, como citado para viroses neurológicas por SORJONEM (1987), SORJONEM et al. (1989). E, ainda, nos animais do referido grupo, os valores médios observados revelaram-se acima dos reportados por FEITOSA et al. (1997) e ABATE et al. (1998), para cães na fase neurológica da cinomose.

CONCLUSÃO

Características físico-químicas do liquor tais como, coloração, aspecto, densidade, pH e glicose, não foram capazes de contribuir para indicar qualquer anormalidade líquórica, nas diferentes fases da cinomose canina. Por outro lado, o componente protéico e a celularidade líquórica mostraram alterações importantes na presença de sinais neurológicos, porém na ausência destes, não adicionam informações capazes de levar à detecção precoce de lesões do sistema nervoso central em colaboração ao diagnóstico da referida enfermidade.

FONTES DE AQUISIÇÃO

- ^a ImmunoComb – Orgenics - São Paulo - Brasil
- ^b Neozine – Aventis Pharma LTDA – Santo Amaro – São Paulo - Brasil
- ^c Propofol – Fresenius Kabi LTDA – Campinas – São Paulo - Brasil
- ^d Atago Co LTD – Tokyo - Japão
- ^e Merck do Brasil – Rio de Janeiro - Brasil
- ^f Fanem – São Paulo - Brasil
- ^g Labtest Diagnóstica – Lagoa Santa – Minas gerais - Brasil
- ^h Labquest – Lagoa Santa – Minas gerais - Brasil

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo suporte financeiro concedido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABATE, O. et al. Cytological, immunocytochemical and biochemical cerebrospinal fluid investigations in selected central nervous system disorders of dogs. **Journal of Veterinary Medicine**, v.45, p.73-85, 1998.
- ALLEMAN, A.R. et al. Identification of intracytoplasmatic inclusion bodies in mononuclear cells from the cerebrospinal fluid of a dog with canine distemper. **Veterinary Pathology**, v.29, p.84-85, 1992.
- BAILEY, C.S.; HIGGINS, R.J. Comparison of total white blood cell count and total protein content of lumbar and cisternal cerebrospinal fluid of healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.46, n.5, p.1162-1165, 1985.
- BRAUND, K.G. Diagnostic techniques. In: BRAUND, K.G. **Clinical syndromes in veterinary neurology**. St Louis : Mosby, 1994. p.333-421.
- CHRISMAN, C.L. Investigações auxiliares especiais. In : CHRISMAN, C.L. **Neurologia dos pequenos animais**. São Paulo : Roca, 1985. p.63-96.
- COLES, E.H. Cerebrospinal fluid. In: COLES, E.H. **Veterinary clinical pathology**. Canadá : Saunders, 1986. p.267-278.
- COOK, J.R.; DENICOLA, D.B. Cerebrospinal fluid. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.18, n.3, p.475-497, 1988.
- FEITOSA, M.M. et al. Avaliação física, citológica, conteúdo de proteínas e determinação qualitativa de globulinas do liquor de cães com encefalite por cinomose. **Brazilian Journal of Veterinary Research of Animal Science**, v.34, n.3, p.147-151, 1997.
- FELDMAN, B.F. Cerebrospinal fluid. In: KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4.ed. San Diego : Academic, 1989. p.835-865.
- FENNER, W.R. Moléstias do cérebro. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4.ed. São Paulo : Manole, 1995. V.1, p.819-879.
- FERNANDES, R.W. Determinação dos valores líquóricos normais de glicose, proteína, globulina, uréia, creatina fosfoquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), leucócitos e da coloração, turbidez e coagulabilidade em cães saudáveis. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v.27, n.2, p.209-216, 1990.
- GREENE, C.E. Infections of the central nervous system. In: _____. **Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia : Saunders, 1984. p.226-241.
- KAY, W.J. et al. Cerebrospinal fluid. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v.4, n.2, p.419-35, 1974.
- MAYHEW, I.G.; BEAL, C.R. Techniques of analysis of cerebrospinal fluid. **Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice**, v.10, n.1, p.155-177, 1980.
- MCGUIRK, S.M.; MACWILLIAMS, P.S. Cerebrospinal fluid. In: COWELL & TYLER. **Cytology and hematology of the horse**. California : American Veterinary Publications, 1992. p.163-171.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 2.ed. São Paulo : Nobel, 1987. p.467.
- SAFARTY, D. et al. Differential diagnosis of granulomatous meningoencephalomyelitis, distemper, and suppurative meningoencephalitis in the dog. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.188, n.4, p.387-392, 1986.
- SORJONEM, D.C. Total protein, albumin quota, and electrophoretic patterns in cerebrospinal fluid of dogs with central nervous system disorders. **American Journal of Veterinary Research**, v.48, n.2, p.301-305, 1987.

SORJONEM, D.C. et al. Electrophoretic determination of albumin and gammaglobulin concentrations in the cerebrospinal fluid of dogs with encephalomyelitis attributable to canine distemper virus infection: 13 cases (1980-87). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.195, n.7, p.977-980, 1989.

THOMAS, W.B. et al. A retrospective evaluation of 38 cases of canine distemper encephalomyelitis. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.29, p.129-33, 1993.

TIPOLD, A. Cerebrospinal fluid. In: VITE, C.H.; BRAUND, K.G. **Braund's clinical neurology in small animals: localization, diagnosis and treatment**. Ithaca NY :

International Veterinary Information Service, 2003. Capturado em 23 dez. 2004. Online. Disponível na internet: <http://www.ivis.org/advances/Vite/toc.asp>.

VANDEVELDE, M.; SPANO, J.S. Cerebrospinal fluid cytology in canine neurologic disease. **American Journal of Veterinary Research**, v.38, n.11, p.1827-1832, 1977.

WILSON, J.W.; STEVENS, J.B. Effects of blood contamination on cerebrospinal fluid analysis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.71, n.3, p. 256-258, 1977.

WRIGHT, J.A. Evaluation of cerebrospinal fluid in the dog. **Veterinary Record**, v.103, p.48-51, 1978.