

PADRONIZAÇÃO ELETROFORÉTICA DE SOROS HIPERIMUNES DE CAVALOS

Marco Antonio STEPHANO*
Rosalvo GUIDOLIN**
Wilmar DIAS da SILVA***
Hisako Gondo HIGASHI**

RESUMO: Os autores determinaram, através de análise eletroforética, as concentrações de diferentes proteínas séricas em cavalos produtores de plasma hiperimunes antitóxicos e antipeçonhentos. Os valores obtidos através da eletroforese em suporte de acetato de celulose (Cellulogel^R) sugerem a existência de 11 frações protéicas: Albumina, globulinas alfa 1a e 1b, alfa 2a, 2b e 2c, beta 1, 2a e 2b e gama 1 e 2. O objetivo destas observações foi o de traçar um perfil eletroforético de referência para ser utilizado como critério de avaliação da pureza dos soros heterólogos finais para o uso terapêutico humano.

UNITERMOS: Eletroforese, soro hiperimune, albumina, globulinas alfa, beta e gama.

INTRODUÇÃO

A eletroforese em suporte de acetato de celulose é aceita como um método eficiente para a separação de proteínas plasmáticas identificando as diversas frações separadas por suas cargas². Todavia as raças, as alimentações e os habitats diferentes sob os quais os animais estão submetidos, acrescidos, ainda, da arbitrariedade do operador na separação das frações, de acordo com a sua experiência⁹, os eletroforetogramas podem exibir diversidades de tal ordem que impossibilitam a obtenção de um perfil eletroforético de referência⁴.

* Seção de Concentração e Fracionamento de Soros

** Serviço de IMUNOLOGIA

*** Laboratório Especial de IMUNOQUÍMICA

INSTITUTO BUTANTAN — CP 65 — São Paulo — SP

Recebido para publicação em 28.5.1990 e aceito em 14.2.1991

O objetivo deste trabalho é o de demonstrar a possibilidade de obtenção de perfis eletroforéticos de referência, pela técnica proposta, segundo as condições de utilização e manutenção dos animais em cada estabelecimento produtor de soros hiperimunes de origem equina. A comparação dos resultados traçados antes e após as hiperimunizações oferecerá os requisitos necessários às avaliações, sejam da pureza dos soros, bem como da adequação da técnica empregada durante o processo de purificação dos respectivos plasmas.

A eletroforese em suporte de acetato de celulose, empregando os soros de cavalos antes do início das hiperimunizações, poderá servir como meio de seleção de animais bons produtores de anticorpos, refugando aqueles eventualmente portadores de agamaglobulinemia ou hipogamaglobulinemia⁷.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Cavalos e amostragem:

Grupo A — animais soro-produtores, sem raça definida (SRD), pesando em média 400 kg, clinicamente sadios e submetidos a períodos de hiperimunização por mais de um ano e menos do que dois anos, assim discriminados:

Produtores de antivenenos:

Crotálico	9 amostras
Botrópico	9 "
Botrópico-Crotálico	9 "
Elapídico	9 "
Laquético	9 "
Aracnídico	9 "
Escorpiônico	6 "
Loxocélico	3 "

Produtores de antitóxicos:

Tetânico	9 amostras
Diftérico	9 "

Grupo B — animais semelhantes aos anteriores, não soro-produtores (Normais) — 9 amostras.

2. Sangrias e obtenção dos soros: Grupos A e B — o sangue foi obtido por punção da veia jugular, extraíndo-se 20ml com seringas e agulhas esterilizadas. Os soros foram separados após a coagulação em câmara fria a 4°C.

3. Eletroforese

3.1 Aplicação da amostra: em cada fita de acetato de celulose (Cellogel^R), de 2,5×17,0 cm, foram aplicadas 3 amostras em volume de 5µl por amostra.

3.2. Corrida eletroforética: as fitas foram submetidas a tensão de 200 volts por 35 minutos, em tampão barbital sódico +0,05M co 10mM de EDTA⁺, a pH 8,6.

3.3. Coloração e descoloração: a coloração foi feita pelo corante de negro amido 10B+ solubilizado na mistura metanol: ác. acético glacial: H₂O, nas proporções de 45:10:45, respectivamente. A descoloração foi conseguida por lavagem das fitas em solução de metanol: ác. acético glacial: H₂O nas proporções de 47,5:5,0:47,5, respectivamente. Em seguida as fitas foram desidratadas em metanol puro e transparentizadas em solução de metanol: ác. acético glacial: glicerol, nas proporções de 85:14:1, respectivamente. A secagem, executada sobre placas de vidros em estufa a 37°C, foi obtida após 10 a 15 minutos.

3.4 Leitura: executada em densitômetro Zenite Z30 que revelou a existência de 11 frações no perfil. As frações receberam nomenclatura de acordo com a migração eletroforética desde a mais até a menos eletronegativa.

3.5. Cálculos estatísticos: as mesmas frações protéicas observadas em soros de cavalos pertencentes ao mesmo serviço de hiperimunização tiveram suas médias e desvios padrões calculados, tanto em números percentuais, indicados pelo densitômetro como em número absoluto obtido pela determinação da concentração de proteínas totais do soro, pelo método de biureto⁸, modulados a partir dos números percentuais.

RESULTADOS E CONCLUSÃO

De acordo com o especificado em material e métodos, as 11 frações reveladas nos perfis eletroforéticos foram denominadas: albumina (ALB), alfa 1a, 1b, 2a, 2b e 2c, beta 1, 2a e 2b e gama 1 e 2 globulinas (FIG. I).

Os resultados referentes ao soro normal de cavalos, concentrados na TAB.I, demonstram um desnivelamento dos valores, e, de certo modo, também na nomenclatura empregada por autores em trabalhos publicados anteriormente. Essas diferenças são devidas, principalmente, às raças, às alimentações e aos habitats não uniformes aos quais os animais estão submetidos. Ainda, neste particular, deve ser levada em conta a capacidade de resolução dos densitômetros utilizados nas leituras.

Das TABs. 2 e 3, que mostram as médias e os desvios padrões das frações em números percentuais, bem como os mesmos parâmetros da concentração total de proteínas, como também de cada fração em números absolutos e ainda o quociente ALB/globulina, respectivamente, deduz-se que: os dados sobre os soros antiofídicos e antiaracnídicos, expressos em gráficos, quando comparados com aqueles obtidos com o soro normal, apresentam a maioria das frações globulínicas aumentadas, entre as quais o aumento é mais significativo na fração gama 2, enquanto a fração albumina e alfa 1a estão diminuídas (FIGs. 2 e 3). Por outro lado, o quociente ALB/globulina aparece menor do que no soro normal, condições estas que demonstram uma resposta imunitária positiva ao estímulo antigênico¹. No que se refere aos cavalos produtores de soros antitóxicos, os resultados comparados com o soro normal mostram que a maior parte das frações globulínicas estão elevadas, enquanto as concentrações das globulinas alfa 1a, gama 1 e gama 2 não estão significativamente diferentes. No entanto, nos soros dos cavalos produtores de antitoxina tetânica ou diftérica, observa-se um aumento acentuado da fração beta 2b, responsável pelo baixo quociente ALB/globulina. Weir e Porter¹⁰ observaram este aumento das betas globulinas em cavalos imunizados com anatoxinas ou toxinas bacterianas, tal observação é em decorrência do aumento de uma subclasse de imunoglobulina denominada IgG(T). Pelas experiências, agora realizadas, verifica-se que é a fração beta 2b que se encontra aumentada (FIG. IV).

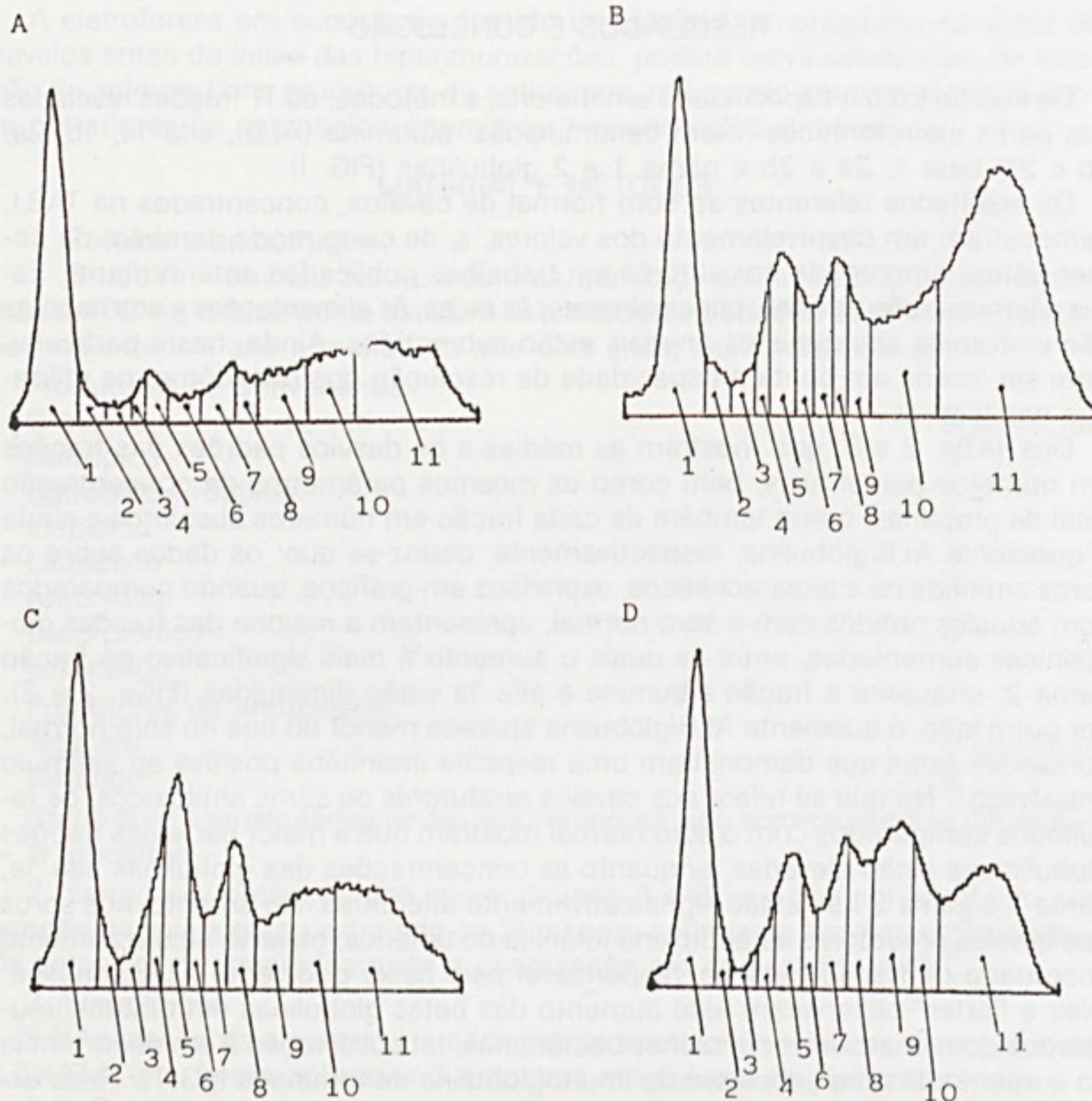
Frente aos resultados encontrados nestas experiências, parece ser lícito concluir que:

1 — a pureza e o rendimento satisfatórios do soro heterólogo final pronto para uso terapêutico estão diretamente relacionados às presenças das frações beta 2b, gama 1 e gama 2 globulinas.

2 — a técnica apresentada possibilita o diagnóstico de eventuais casos de agammaglobulinemia ou de hipogamaglobulinemia pois, nestas situações, observa-se ausência de IgM e IgA (ambas com motilidade igual a gama 1) e também de IgG(T) (motilidade igual a beta 2b) e de outras IgG (motilidade igual a gama 2) existente em baixas concentrações (ao redor de 16mg/100ml) e, obviamente, ausência de atividade dos anticorpos específicos para o antígeno empregado em animais imunizados. Devido a essa ausência de atividade dos anticorpos não há também a

PERFIL ELETROFORÉTICO DOS DIVERSOS SERVIÇOS DE PRODUÇÃO DE SOROS HIPERIMUNES

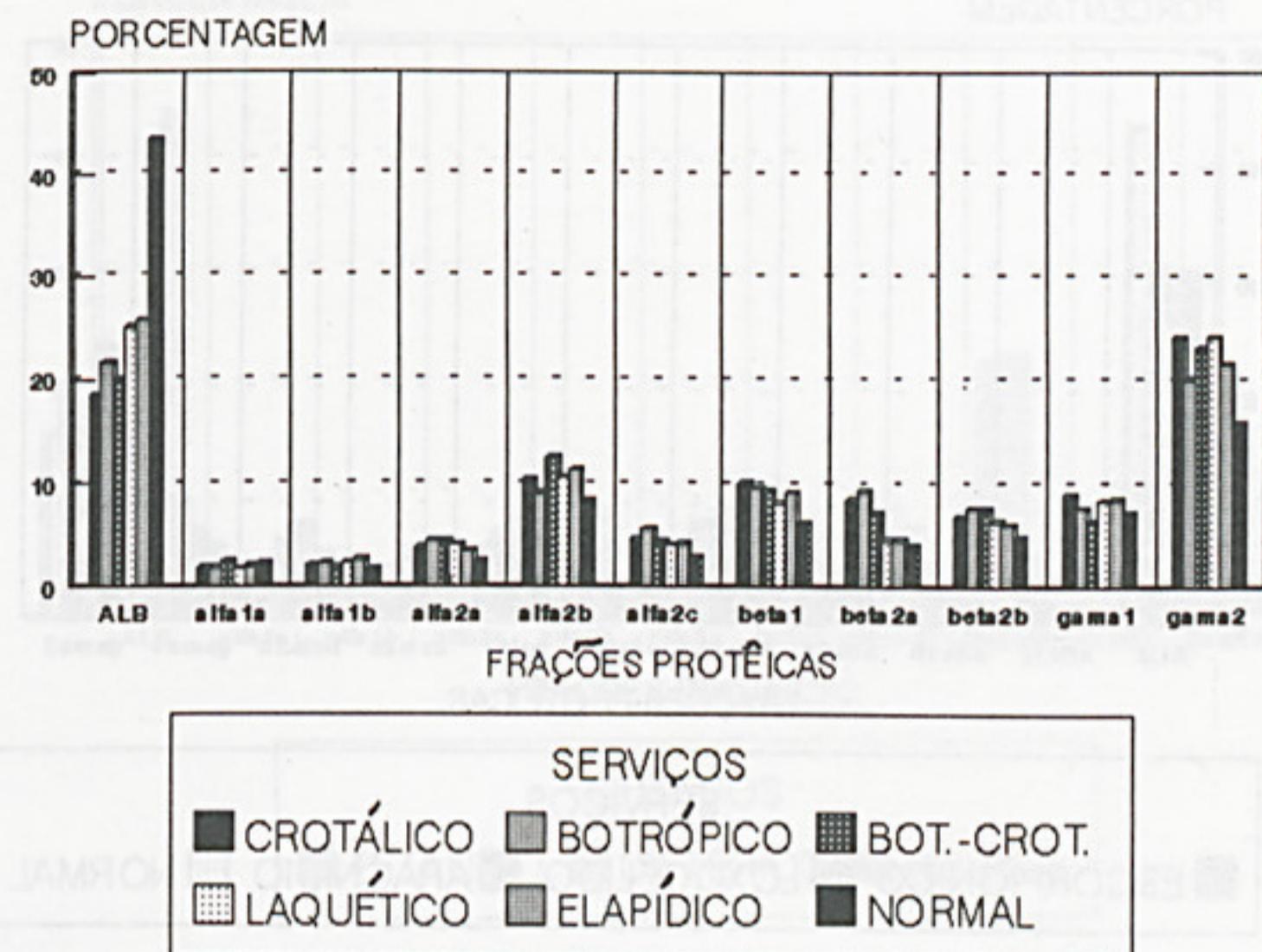
Os resultados obtidos mostraram que os soros hiperimunes possuem padrões de eletroforese semelhantes, com exceção da intensidade das bandas, que variam de acordo com o tipo de soro, bem como da existência de bandas que aparecem ou desaparecem ao longo do processo de purificação dos reagentes utilizados.



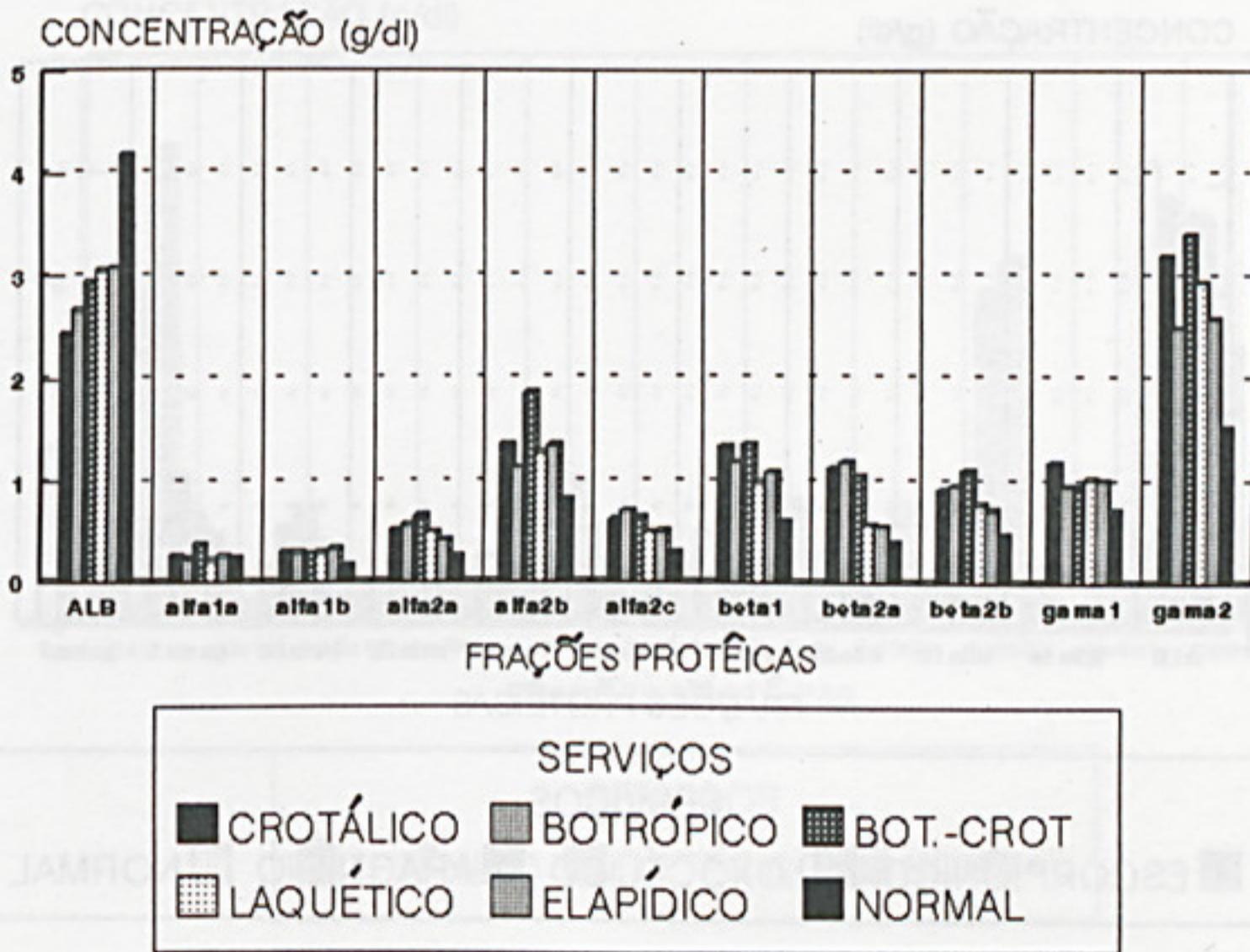
- | | | |
|--------------|-------------|-------------------------|
| 1 — ALBUMINA | 7 — beta 1 | A = SORO NORMAL |
| 2 — alfa 1a | 8 — beta 2a | B = SORO ANTIOFÍDICO |
| 3 — alfa 1b | 9 — beta 2b | C = SORO ANTIARACNÍDICO |
| 4 — alfa 2a | 10 — gama 1 | D = SORO ANTITÓXICO |
| 5 — alfa 2b | 11 — gama 2 | |
| 6 — alfa 2c | | |

FIG. I

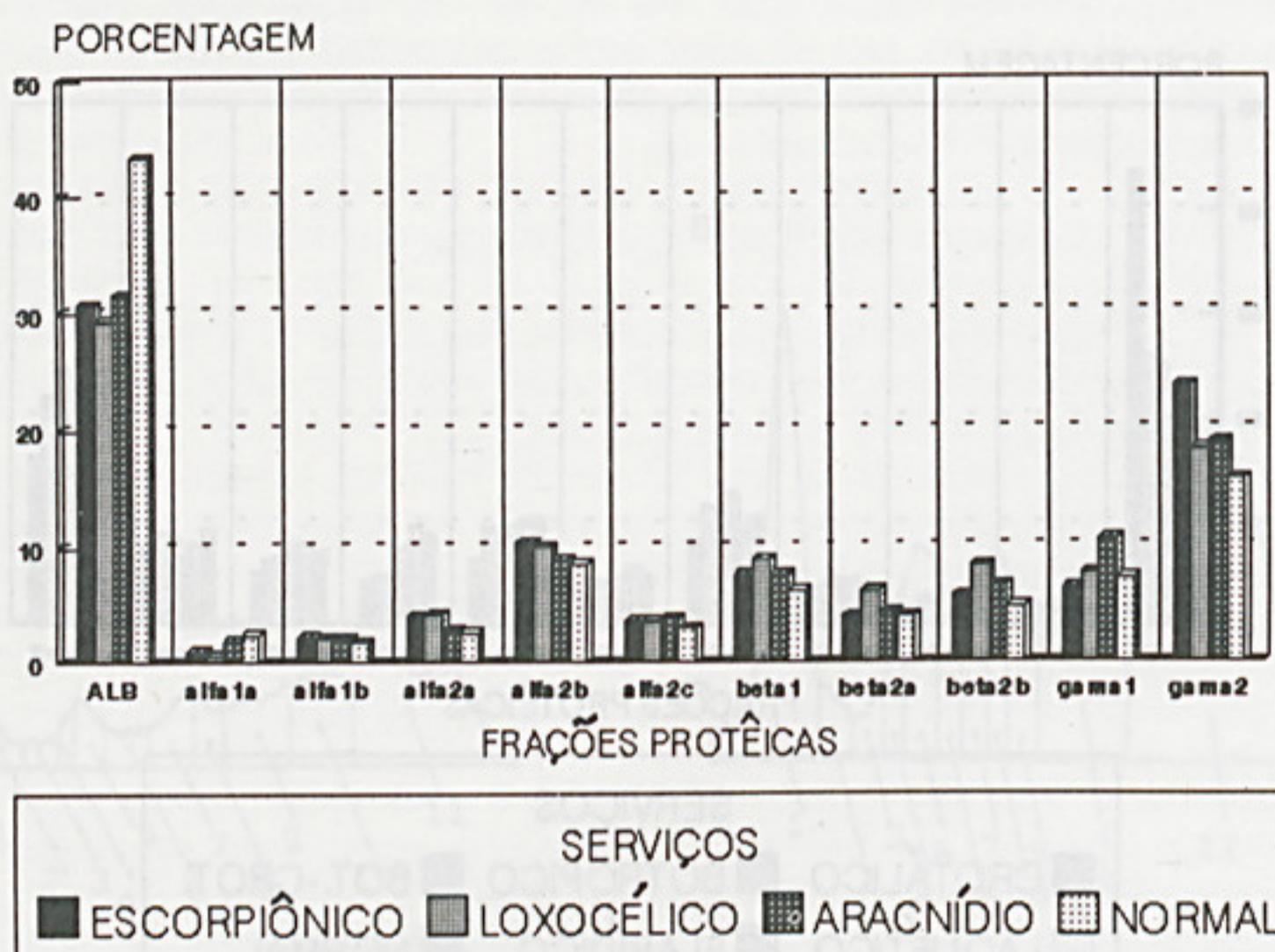
REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS SOROS ANTIOFÍDICOS EM NÚMEROS PERCENTUAIS



REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS SOROS ANTIOFÍDICOS EM NÚMEROS ABSOLUTOS



REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS SOROS ANTIARACNÍDICOS EM NÚMEROS PERCENTUAIS



REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS SOROS ANTIARACNÍDICOS EM NÚMEROS ABSOLUTOS

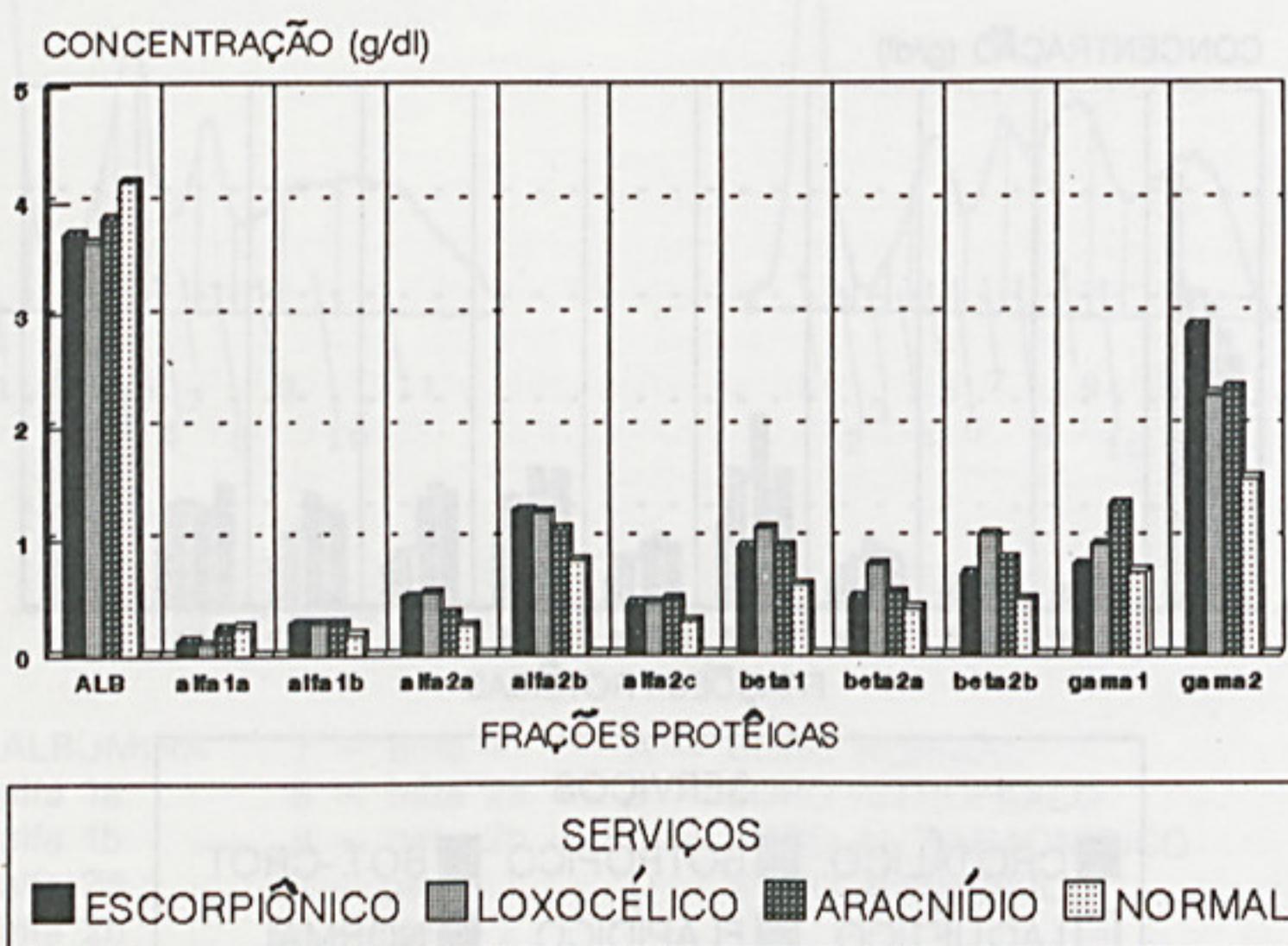
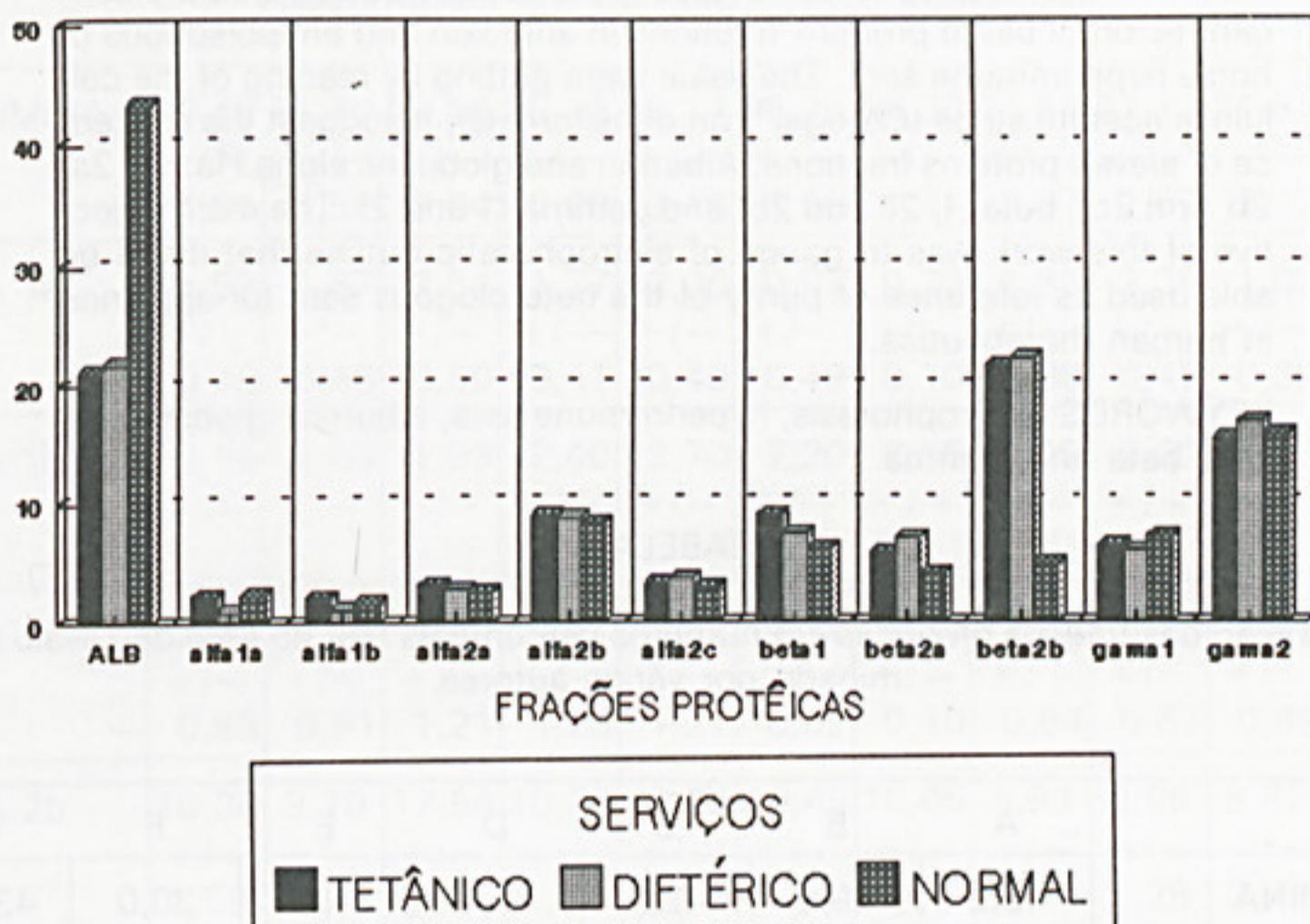


FIG. 3

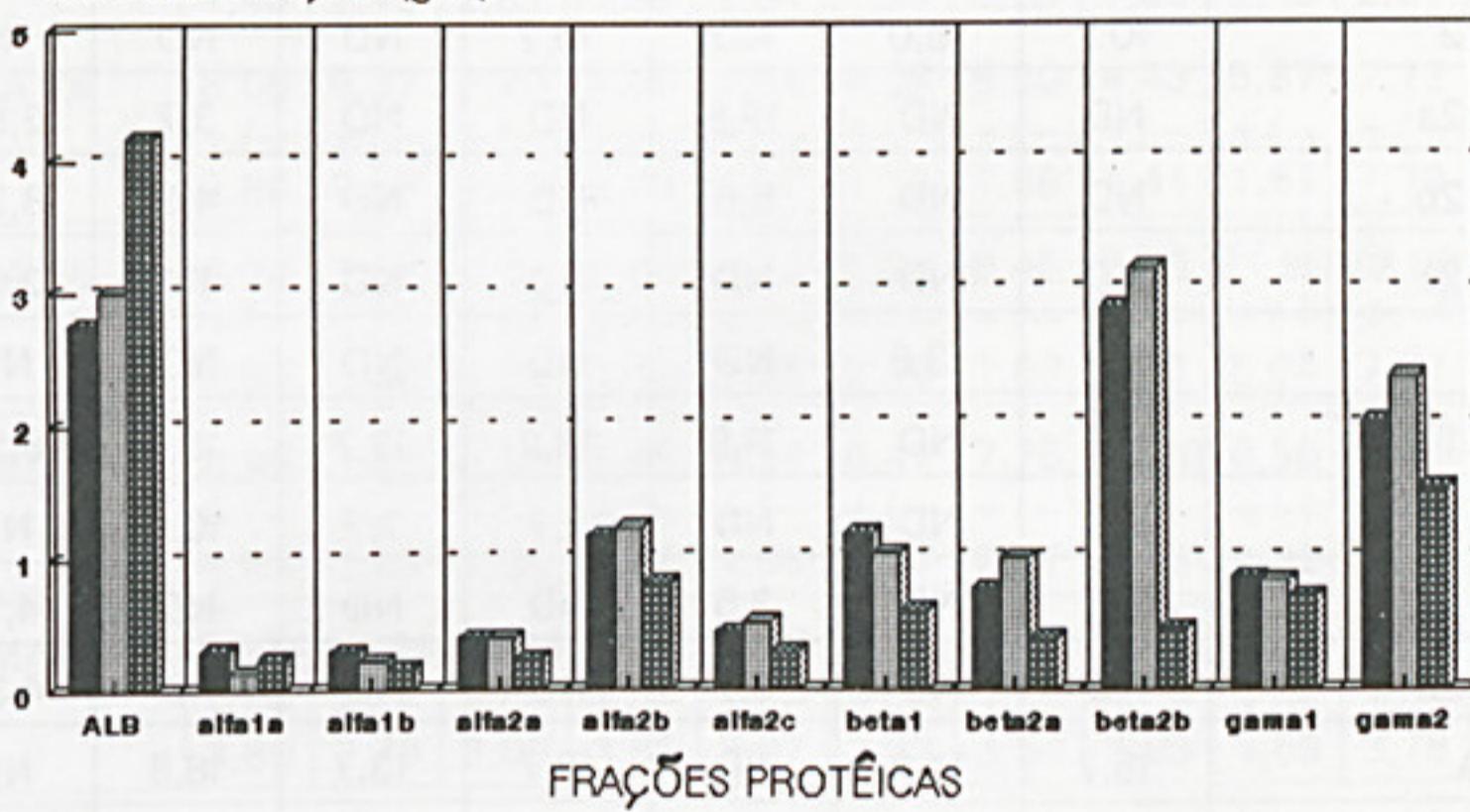
REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS SOROS ANTITÓXICOS EM NÚMEROS PERCENTUAIS

PORCENTAGEM



REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS SOROS ANTITÓXICOS EM NÚMEROS ABSOLUTOS

CONCENTRAÇÃO (g/dl)



SERVIÇOS

TETÂNICO DIFTÉRICO NORMAL

diminuição do quociente ALB/globulina, ficando este quociente igual ou maior do que aos animais considerados normais.

ABSTRACT: By electrophoresis analysis, the authors determined the concentration of blood proteins fractions in antitoxin and antipoisonous of horse hyperimmune sera. The values were getting by reading of the cellulose acetate strips (Cellogel^R) on densitometer, it suggest the existence of eleven proteins fractions: Albumin and globulins alpha (1a, 1b, 2a, 2b, and 2c), beta (1, 2a and 2b) and gamma (1 and 2). The main objective of this work was to gauge of electrophoretic outline that it will be able used as reference of purity of the heterologous sera for appliance in human therapeutics.

KEYWORDS: Electrophoresis, hyperimmune sera, albumin, globulins alpha, beta and gamma.

TABELA I

Comparação das frações protéicas em números percentuais (%) do soro de cavalo determinado por vários autores.

	A	B	C	D	E	F	G
ALBUMINA	49,2	39,6	43,0	45,4	41,1	30,0	43,37
ALFA	ND	ND	ND	ND	13,7	ND	ND
ALFA 1	1,6	16,9	ND	ND	ND	8,1	ND
ALFA 1a	ND	ND	2,2	4,0	ND	ND	2,43
ALFA 1b	ND	ND	3,1	2,8	ND	ND	1,76
ALFA 2	10,2	15,0	ND	13,2	ND	ND	ND
ALFA 2a	ND	ND	12,8	ND	ND	3,7	2,59
ALFA 2b	ND	ND	5,6	ND	ND	4,3	8,38
ALFA 2c	ND	ND	ND	ND	ND	11,1	2,99
BETA	ND	13,6	ND	ND	ND	ND	ND
BETA 1	14,1	ND	11,9	13,2	13,7	13,1	6,28
BETA 2	8,9	ND	ND	7,7	7,7	10,9	ND
BETA 2a	ND	ND	3,5	ND	ND	ND	4,10
BETA 2b	ND	ND	3,7	ND	ND	ND	4,32
GAMA	15,7	14,9	ND	13,7	13,7	18,8	ND
GAMA 1	ND	ND	12,0	ND	ND	ND	7,31
GAMA 2	ND	ND	2,0	ND	ND	ND	15,87

A = Mattheus et al. 1966
 B = Kao et al. 1954
 C = Bierer, 1969
 ND = Não Determinado

D = Massip & Fumiere, 1954
 E = Osbaldiston, 1972
 F = Kristensen & Firth, 1977
 G = PRESENTE ESTUDO

TABELA 2

Frações protéicas dos diferentes serviços de produção de soros
Hiperimunes em números percentuais (%)

ALBUMINA	18,49	21,70	20,08	25,12	25,77	30,70	29,30	31,54	21,17	21,87	43,37
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	2,34	3,58	2,64	2,29	3,16	3,50	1,41	3,97	2,67	2,17	3,23
ALFA 1a	1,93	1,87	2,54	1,77	2,06	0,97	0,70	1,89	2,38	1,03	2,43
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	0,49	0,46	0,50	0,41	0,49	0,49	0,10	0,35	0,45	0,39	0,24
ALFA 1b	2,18	2,34	1,93	2,40	2,70	2,20	2,15	2,19	2,22	1,68	1,76
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
ALFA 2a	3,82	4,56	4,49	4,11	3,52	4,12	4,30	2,88	3,18	2,87	2,59
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	0,83	0,91	1,21	1,23	1,21	0,62	0,10	0,64	0,67	0,89	0,96
ALFA 2b	10,30	9,20	12,54	10,63	11,39	10,45	10,05	8,93	8,99	8,82	8,38
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	1,59	2,76	2,53	2,16	2,04	1,54	1,62	2,34	1,25	2,44	2,73
ALFA 2c	4,67	5,76	4,47	4,10	4,27	3,68	3,60	3,91	3,33	3,79	2,99
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	2,01	1,69	1,34	1,07	0,57	0,59	0,85	1,29	0,89	1,49	0,94
BETA 1	10,14	9,67	9,37	8,13	9,26	7,70	9,00	7,71	9,06	7,47	6,28
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	1,40	2,40	2,81	0,95	1,34	1,94	0,28	1,86	2,15	2,37	1,01
BETA 2a	8,56	9,37	7,20	4,65	4,64	4,08	6,30	4,43	5,87	7,12	4,10
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	2,80	2,58	2,09	2,08	1,17	1,12	1,98	1,41	1,67	1,70	1,30
BETA 2b	6,74	7,66	7,61	6,40	6,14	5,83	8,45	6,76	21,80	22,38	4,92
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	1,50	1,98	1,03	1,10	1,35	2,10	1,63	1,71	5,04	7,27	1,79
GAMA 1	8,96	7,66	6,54	8,48	8,57	6,47	7,75	10,70	6,50	6,01	7,31
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	1,53	1,55	1,38	2,81	1,38	1,57	2,47	2,58	1,32	1,38	1,67
GAMA 2	24,21	20,21	23,23	24,21	21,68	23,80	18,40	19,06	15,50	16,96	15,87
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
	3,89	2,79	3,09	3,55	3,07	2,93	3,54	3,93	4,69	3,78	2,31

- A — Soro Anticrotálico
- B — Soro Antibotrópico
- C — Soro Antibot.-crot.
- D — Soro Antilaquético
- E — Soro Antielapídico
- F — Soro Antiescorpiônico

- G — Soro Antiloxocélico
- H — Soro Antiaracnídico
- I — Soro Antitetânico
- J — Soro Antidiftérico
- L — SORO NORMAL

TABELA 3

Frações protéicas dos diferentes serviços de produção de soros hiperimunes em números absolutos (g/dl)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	L
PTNs TOTAIS	13,27 +/- 0,34	12,39 +/- 1,89	14,67 +/- 1,12	12,14 +/- 0,66	11,93 +/- 0,99	12,08 +/- 1,53	12,40 +/- 1,06	12,23 +/- 1,22	13,12 +/- 0,80	13,95 +/- 12,06	9,70 +/- 0,60
ALBUMINA	2,44 +/- 0,26	2,66 +/- 0,42	2,93 +/- 0,25	3,05 +/- 0,34	3,08 +/- 0,52	3,64 +/- 0,47	3,64 +/- 0,13	3,84 +/- 0,89	2,76 +/- 0,33	3,00 +/- 0,41	4,18 +/- 0,44
ALFA 1a	0,25 +/- 0,06	0,23 +/- 0,07	0,37 +/- 0,07	0,21 +/- 0,09	0,25 +/- 0,11	0,11 +/- 0,05	0,09 +/- 0,01	0,23 +/- 0,09	0,31 +/- 0,06	0,14 +/- 0,06	0,24 +/- 0,07
ALFA 1b	0,29 +/- 0,10	0,29 +/- 0,09	0,28 +/- 0,07	0,29 +/- 0,08	0,33 +/- 0,08	0,27 +/- 0,08	0,27 +/- 0,15	0,27 +/- 0,11	0,30 +/- 0,11	0,23 +/- 0,07	0,17 +/- 0,04
ALFA 2a	0,51 +/- 0,10	0,56 +/- 0,14	0,66 +/- 0,20	0,50 +/- 0,13	0,42 +/- 0,15	0,50 +/- 0,10	0,54 +/- 0,01	0,36 +/- 0,10	0,41 +/- 0,08	0,41 +/- 0,15	0,25 +/- 0,10
ALFA 2b	1,37 +/- 0,25	1,14 +/- 0,35	1,86 +/- 0,44	1,28 +/- 0,20	1,36 +/- 0,29	1,27 +/- 0,28	1,24 +/- 0,19	1,09 +/- 0,29	1,18 +/- 0,23	1,24 +/- 0,39	0,82 +/- 0,30
ALFA 2c	0,62 +/- 0,29	0,71 +/- 0,23	0,65 +/- 0,21	0,50 +/- 0,14	0,51 +/- 0,06	0,46 +/- 0,10	0,45 +/- 0,11	0,48 +/- 0,18	0,44 +/- 0,13	0,52 +/- 0,20	0,29 +/- 0,10
BETA 1	1,35 +/- 0,21	1,19 +/- 0,34	1,37 +/- 0,40	0,99 +/- 0,12	1,10 +/- 0,16	0,94 +/- 0,29	1,10 +/- 0,04	0,95 +/- 0,29	1,19 +/- 0,30	1,04 +/- 0,35	0,61 +/- 0,09
BETA 2a	1,14 +/- 0,40	1,19 +/- 0,45	1,06 +/- 0,34	0,57 +/- 0,28	0,55 +/- 0,10	0,50 +/- 0,17	0,78 +/- 0,25	0,56 +/- 0,23	0,77 +/- 0,24	1,00 +/- 0,33	0,40 +/- 0,14
BETA 2b	0,92 +/- 0,23	0,96 +/- 0,36	1,12 +/- 0,17	0,78 +/- 0,16	0,72 +/- 0,14	0,73 +/- 0,35	1,05 +/- 0,19	0,84 +/- 0,29	2,87 +/- 0,73	3,17 +/- 1,33	0,48 +/- 0,20
GAMA 1	1,19 +/- 0,24	0,96 +/- 0,25	0,96 +/- 0,19	1,03 +/- 0,37	1,02 +/- 0,18	0,78 +/- 0,23	0,96 +/- 0,30	1,30 +/- 0,35	0,86 +/- 0,18	0,84 +/- 0,21	0,72 +/- 0,19
GAMA 2	3,19 +/- 0,52	2,50 +/- 0,46	3,41 +/- 0,80	2,94 +/- 0,45	2,59 +/- 0,42	2,90 +/- 0,68	2,28 +/- 0,46	2,21 +/- 0,47	2,03 +/- 0,62	2,36 +/- 0,85	1,54 +/- 0,25
ALB/glob.	0,23	0,27	0,25	0,34	0,35	0,44	0,42	0,46	0,27	0,27	0,76

A — Soro Anticrotálico

B — Soro Antibotrópico

C — Soro Antibot.-crot.

D — Soro Antilaquético

E — Soro Antielapídico

F — Soro Antiescorpiônico

G — Soro Antiloxocélico

H — Soro Antiaracnídico

I — Soro Antitetânico

J — Soro Antidiftérico

L — SORO NORMAL

PTNS — Proteínas

STEPHANO, M. A.; GUIDOLIN, R.; DIAS DA SILVA, W.; HIGASHI, H. G. Padronização eletroforética de soros hiperimunes de cavalos. *Bol. Biotecnol.*, v. 2, p. 3-13, 1991

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BENJAMIN, M.M. *Outline of Veterinary clinical pathology*. 3.ed. Iowa, Iowa State University Press, 1979, 351p.
2. BIERER, B.W. Eletrophoretic analysis of blood serum and plasma proteins of normal horses. *Am. J. Vet. Res.* 30:2237-2240, 1969.
3. KAO, K.Y.T.; REAGAN, R.L.; BREUCKNER, A.K. Eletrophoretic study of horse serum of equine infection anemia. *Am. J. Vet. Res.* 15:343-345, 1954.
4. KRISTENSEN, F. & FIRTH, E.C. Analysis of serum proteins and cerebrospinal fluid in clinically and normal horses using agarose eletrophoresis. *Am. J. Vet. Res.* 38:1089-1092, 1977.
5. MATTHEEUWS, D.R.G.; KANKO, J.J.; LOY, R.G.; CORNELIUS, C.E.; WHEAT, J.D. Compartmentalization and turnover of ^{131}I labeled albumin and gamma globulin in horse. *Am. J. Vet. Res.* 27:699-705, 1966.
6. MASSIP, A. & FUMIERE, I. Analyse eletrophoretique des protéines du serum sanguin de chevaux adultes normaux âgés de quatre à dix ans. *Ann. Med. Vet.* 118:221-229, 1974.
7. McGuIRE, T.C.; BANKS, K.L.; EVANS, D.R.; POPPIE, M.J. Agammaglobulinemia in a horse with evidence of functional T lymphocytes. *Am. J. Vet. Res.* 37:41-46, 1976.
8. NOWOTNY, A. *Basic exercises in immunochemistry*. Berlin, Springer-Verlag. 1969. 197p.
9. OSBALDISTON, G.W. Serum protein fraction in domestic animal. *Br. Vet. J.* 128:386-393, 1972.
10. WEIER, R.C. & PORTER, R.R. Comparison of the structure of the immunoglobulins from horse serum. *Biochem. J.* 100:63-68, 1966.

de plasmas equinos destinados à produção de soros hiperimunes. As soluções de albumina obtidas eram homogêneas, com precipitação menor que 1% quando diluída 100 vezes, e quando em ultrafiltrado elutava-se albumina. A fração proteica pura obtida através da coagulação com amônium picrato era de 90% em relação à fração original.

CONTRIBUIÇÕES: São agradecidas ao Dr. José Roberto Heterólogos

INTRODUÇÃO

No preparação de soros específicos, anticoagulantes ou antitoxinas de origem equina heterólogas, os componentes de solução de albumina são considerados e desprezados. O concentrado destinto albumina equina (SA) é um subproduto para utilização clínica na área clínica veterinária é produzido pelo processo de fracionamento com álcool etílico e aquecimento a 60°C, segundo a técnica de Schneider modificada¹, como proposta neste trabalho. As experiências foram feitas com até 20 litros de solução inicial de albumina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado plasma hiperimune de cavalos portadores de antiveneno batrópico, tratado de acordo com o esquema sugerido por Schreiber et al.².

¹ Tratado original: Schreiber, R. *Die Züchtung der Antivenene und Immunseren aus Pferdern*. Berl. Tierarztl. Wiss., 1930, 10, 1-10.

² Recente para publicação em 27/12/1990 e aceito em 21/3/1991.

