



**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI
MEDICINĂ VETERINARĂ CLUJ NAPOCA
ȘCOALA DOCTORALĂ
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ**



CRISTIAN PAUL POPOVICI

**EVALUAREA INOCUITĂȚII UNOR
NEUROBLOCANTE ÎN ANESTEZIA BALANSATĂ
LA IEPURE ȘI CÂINE**

(REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT)

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC

Prof. Dr. Liviu Ioan OANA

CLUJ-NAPOCA

2015

INTRODUCERE

Dezvoltarea tehnicilor operatorii atât la om cât și la animale impune și protocoale noi de anestezie și terapie intensivă. Chirurgia veterinară depinde într-un grad mai mare de anestezie, comparativ cu cea umană, datorită dificultăților de cooperare dintre medicul veterinar și pacient.

Protocolul de anestezie trebuie personalizat ținându-se cont de specie și de terenul biologic specific fiecărui individ în parte, precum și de interesele tehnicii operatorii. În multe situații este necesară o mai bună miorelaxare, ceea ce presupune includerea în protocolul de anestezie și a neuroblocantelor musculare. În acest context trebuie să cunoaștem impactul acestora asupra organismului pentru contracararea eventualelor efecte adverse induse de folosirea acestor substanțe.

Literatura de specialitate este destul de săracă în informații referitoare la efectele neuroblocanților musculari asupra diferiților parametri clinici și paraclinici la iepure.

1. SCOPUL ȘI STRUCTURA TEZEI

Teza este structurată în două părți, cu un număr total de 3 capitole, 174 de pagini. Capitolul 1 cuprinde două subcapitole, 37 pagini și reprezintă stadiul actual al cunoașterii referitor la blocantele neuromusculare, caracteristici ale anesteziei la iepure, caracteristici fiziologice ale acestora, precum și date referitoare la interpretarea datelor obținute în urma analizelor hematologice, biochimice și ale

echilibrului acidobazic. În capitolul 2, cu un număr de 103 pagini, sunt prezentate cercetări proprii cu privire la inocuitatea Rocuroniumului și Atracuriumului în anestezia generală la iepure (*Oryctolagus cuniculus*). Acesta cuprinde două subcapitole reprezentate de materiale și metode (care au fost identice pentru toate evaluările clinice și paraclinice efectuate la această specie), respectiv rezultate și discuții care au fost defalcate în 4 subsubcapitole în funcție de parametrii clinici și paraclinici determinați. În capitolul 3 sunt prezentate date referitoare la evaluarea efectelor blocantului neuromuscular rocuronium, ca și componentă a unui protocol de anestezie utilizată în intervenția chirurgicală de osteotomie de cap femural la 5 pacienți canini, asupra unor parametri paraclinici, capitol cu un număr de 12 pagini.

De asemenea, lucrarea conține un număr de 44 tabele (6 în partea generală, 38 în partea de cercetări proprii) și 68 de figuri grafice.

Obiectivele tezei de doctorat au fost reprezentate de:

- Evaluarea efectelor rocuroniumului și atracuriumului asupra unor parametri clinici la iepure, temperatura corporală, frecvența cardiacă, frecvența respiratorie;
- Evaluarea efectelor rocuroniumului și atracuriumului asupra tensiunii arteriale medii (MAP), presiunii parțiale a oxigenului (SpO_2), dioxidului de carbon de la nivel expirator ($ETCO_2$) la această specie;
- Evaluarea efectelor rocuroniumului și atracuriumului asupra unor parametri paraclinici referitori la metabolismului hepatic, gazele sanguine arteriale, filtrarea glomerulară și metabolismul mineralelor.

- Evaluarea efectelor rocuroniumului în anestezia generală la pacienți canini supuși unei intervenții chirurgicale ortopedice.

2. MATERIALE ȘI METODE

Iepurii mețiși, în vârstă de 6 luni, au provenit din același efectiv, fiind considerați sănătoși din punct de vedere clinic, 19 femele și 23 masculi, cu masă corporală medie de 2.35 ± 0.65 kg.

Cei 42 de indivizi au fost împărțiți în mod uniform în grupuri a câte 7 indivizi pe lot cărora li s-au instituit următoarele protocoale de anestezie:

- Lotul **numărul 1**, lot martor, sevofluran și fentanil $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ masă corporală în blous urmată de menținere cu $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ masă corporală/minut în rată de infuzie continuă pe toată durata de desfășurare a experimentului;
- Lotul **numărul 2**, sevofluran, fentanil și rocuronium în doză de $0.25 \text{ mg}/\text{kg}$ în bolus;
- Lotul **numărul 3**, sevofluran, fentanil și rocuronium în doză de $2.5 \text{ mg}/\text{kg}$ în bolus;
- Lotul **numărul 4**, sevofluran și rocuronium în doză de $0.25 \text{ mg}/\text{kg}$ în bolus;
- Lotul **numărul 5**, sevofluran, fentanil și rocuronium în doză de $0.5 \text{ mg}/\text{kg}$ în bolus;
- Lotul **numărul 6**, sevofluran, fentanil și atracurium în doză de $0.1 \text{ mg}/\text{kg}$ în bolus.

Pe parcursul protocoalelor anestezice s-au utilizat aparatură de monitorizare adecvată pentru diferiți parametri: frecvența cardiacă, frecvența respiratorie, temperatura corporală, tensiunea arterială (metoda invazivă), SpO₂, Et CO₂ (cu senzorii monitorului Dräger Infinity Delta®).

Probele de sânge arterial pentru analiza gazelor sanguine (metoda Astrup, cu aparatul Gem Premier 3000®) s-au recoltat înainte de anestezie (0), înainte de administrarea neuroblocantelor nedepolarizante (1), în minutul 5, 30, 60 și 120 de minute postadministrare. Din probele recoltate în minutul 0, 120 și după 24 de ore s-au efectuat analize biochimice (cu analizatorul Spectrofotometru UV-VIS Screen Master Touch Hospitex®).

Hematologia s-a efectuat pe probe de sânge venos recoltat în timpii 0, 120 și la 24 de ore (analizator Abacus Junior Vet 3 diff®).

Interpretarea statistică a datelor obținute s-a efectuat cu ajutorul testului ANOVA cu măsurători repetate (cu aplicarea diferitelor corecții) și testul One Way ANOVA. Calculul statistic a urmărit dinamica evoluției fiecărui parametru pe 60 de minute pentru temperatura, SPO₂, tensiunea arterială medie și ETCO₂, pentru parametrii biochimici și hematologici pe un interval de 24 de ore, iar pentru gazele sanguine, pentru intervalele descrise anterior, efectuându-se totodată și compararea parametrilor între loturi.

Materialul biologic din cadrul capitolului 3 a fost reprezentat de un număr de 5 pacienți canini, de rase și sexe diferite, cu vârsta cuprinsă între 4 luni și 11 ani, care au prezentat afecțiuni ce au impus operația de osteotomie de cap femural. Materialele non biologice au fost identice cu cele utilizate în cazul studiului realizat pe iepuri.

3. REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele capitolului 2

Temperatura corporală

Testul One Way ANOVA prezintă valoare statistic semnificativă după 30 de minute $F(5, 36)=2.73$, $p=0.034$, după 45 de minute $F(5, 35)=3.79$, $p=0.07$ și la 60 de minute $F(5, 35)=4.18$, $p=0.004$ la toate cele 6 loturi luate în studiu. Acest aspect demonstrează efectul anesteziei asupra termoreglării, prin diminuarea metabolismului și a capacității de termoreglare (capacitate mai mică la iepuri decât la alte specii).

Testul de comparare intergroup Tukey este semnificativ la 30 de minute ($p=0.051$) la compararea între loturile 2, 4 și 5. Astfel se constată o scădere a temperaturii la 30 de minute de la administrarea (36.47 ± 0.314 °C) la lotul 2 comparativ cu lotul 4 (37.50 ± 0.54 °C) și la lotul 5 (37.50 ± 0.59 °C). La 45 de minute testul Tukey de comparare intergroup este semnificativ între loturile 2 și 4 ($p=0.038$), loturile 2 și 5 ($p=0.007$) și între loturile 2 și 6 ($p=0.017$). La 60 de minute semnificația testului Tukey se menține ridicată între loturile 2 și 4 ($p=0.010$), loturile 2 și 5 ($p=0.010$) și între loturile 2 și 6 ($p=0.019$).

Un aspect interesant este efectul rocuroniumului, care în doză minimă afectează mai puternic capacitatea de termoreglare alături de analgezic decât în cazul dozelor crescute. Administrarea rocuroniumului în doză mare a redus hipotermia, iar atracuriumul afectează liminal capacitatea de termoreglare; adăugarea acestuia în cadrul anesteziei nu determină modificarea statistic semnificativă a temperaturii față de lotul martor.

Frecvența cardiacă

Testul One Way ANOVA prezintă valoare statistică semnificativă în ceea ce privește modificarea frecvenței cardiace la cele 6 loturi în intervalul 1-7 minute $p < 0.05$, la 10 minute $F(5, 36) = 2.70$, $p = 0.36$ și la 15 minute $F(5, 36) = 2.91$, $p = 0.026$.

Testul de comparare intergroup Tukey este semnificativ în intervalul 1-6 minute ($p < 0.05$) la compararea între loturile numărul 2 și 4, Acest efect al rocuroniumului poate fi determinat de capacitatea acestuia de a induce vagoliza (Craig, 2009), aspect ce reprezintă o contradicție față de studiile efectuate la oameni unde utilizarea acestui neuroblocant nu produce efecte cardiace (Raghavendra, 2002), sau se poate datora efectului depresor al fentanilului. Trebuie precizat faptul că frecvențele cardiace nu depășesc valorile maxime și minime ale speciei.

Saturația parțială a oxigenului SpO_2

Testul One Way ANOVA prezintă valoare statistică semnificativă în ceea ce privește modificarea valorilor SpO_2 la cele 6 loturi în intervalul 1-45 minute $p < 0.05$. Testul de comparare intergroup Tukey este semnificativ în intervalul 1-45 minute ($p < 0.05$) la compararea efectuată între lotul numărul 4 și celelalte loturi, valoarea SpO_2 fiind mai scăzută la acesta. Cele mai constante saturații se obțin la loturile 2, 3 și 6. Dozele mari de rocuronium determină variații mari ale saturației de oxigen, iar utilizarea singulară a neuroblocantului fără combinarea cu un analgezic nu reușește menținerea unei saturații maxime a oxigenului

Tensiunea arterială medie (TAM)

Testul One Way ANOVA prezintă valoare statistică semnificativă în ceea ce privește modificarea valorilor tensiunii arteriale medii la cele 6 loturi în intervalul 1-15 minute $p < 0.05$, fiind evidente diferențe semnificative statistic între lotul 3 și lotul 4, iar în intervalul 30-60 minute sunt prezente diferențe semnificative între lotul 3 și loturile 4, respectiv 5.

Testul de comparare intergroup Tukey este semnificativ în intervalul 1-45 minute ($p < 0.05$) la compararea lotului 3 și 4. Valorile maxime ale tensiunii obținute în cadrul studiului nostru (68.00 ± 16.35 mmHg) se situează sub valoarea bazală a tensiunii arteriale medii obținută în cazul anesteziei efectuate numai cu sevofluran ($86,5 \pm 13.8$ mmHg).

Testul ANOVA cu măsurători repetate este semnificativ statistic la lotul 3, cu diferențe statistice semnificative la 2-3 minute de la administrare, observându-se o scădere a valorilor tensiunii arteriale medii. Doza de neuroblocant administrată în bolus determină o scădere a tensiunii arteriale medii.

Valorile pH-ului corectat

În cazul pH-ului corectat, testul OneWay ANOVA nu prezintă semnificație statistică. Nu există o corelație directă între substanțele administrate și modificarea valorii pH-ului. Valorile medii ale pH-ului sunt aproximativ egale la toate cele 6 loturi luate în studiu fără să depășească limitele fiziologice

Presiunea parțială a oxigenului din sângele arterial corectată

Testul OneWay ANOVA prezintă semnificație statistică în ceea ce privește modificarea valorilor PaO₂ corectat la cele 6 loturi înainte de administrarea medicației (F(5, 36)=4.02; p=0.05) și la 120 de minute F(5, 36)=3.69, p=0.008). Înainte de administrarea medicației sunt evidente diferențe între lotul 1 și loturile 4 și 5, iar la 120 de minute sunt evidente diferențe semnificative între lotul 1 și lotul 5, dar și între lotul 2 și lotul 5. Testul de comparare intergroup Tukey este semnificativ înainte de administrarea medicației între lotul 1 și lotul 4 (p=0.009). La 120 de minute există semnificație statistică între lotul 1 și 5 (p=0.049) și între lotul 2 și lotul 5 (p=0.004).

Presiunea parțială a dioxidului de carbon (PCO₂ CORECTAT)

Testul OneWay ANOVA prezintă semnificație statistică la 1 minut (F(5, 36)=2.54; p=0.46), la 5 minute (F(5, 36)=3.20; p=0.017) și la 120 de minute F(5, 36)=4.29, p=0.004. La 1 minut și la 5 minute diferențele sunt statistic semnificative între loturile 2 și 4, iar la 120 de minute între loturile 1 și 5, dar și între lotul 5 și 6.

Testul de comparare intergroup Tukey este semnificativ la 1 de minut între lotul 2 și lotul 4 (p=0.027), la 5 minute între lotul 2 și 4 (p=0.006). La 120 de minute semnificație statistică există între loturile 1 și 5 (p=0.001); dar și între loturile 5 și 6 (p=0.033).

Excesul de bază al lichidului extracelular (BE ecf)

Testul One Way ANOVA prezintă semnificație statistică în ceea ce privește modificarea valorilor BE ecf la cele 6 loturi la 5 minute F(5,

97.461)=4.628, $p=0.002$, la 30 de minute $F(5, 97.068)=5.097$, $p=0.001$, la 60 de minute $F(5, 84.877)=4.960$, $p=0.001$ și la 120 de minute $F(5, 32.591)=3.185$, $p=0.018$).

Valorile obținute în urma interpretării deficitului de bază sunt similare cu cele obținute în urma interpretării deficitului de bază al lichidului extracelular. Testul de comparare intergroup Tukey este semnificativ la 5 minute ($p<0.05$) între loturile 1 și 3, între loturile 3 și loturile 4 și 6. Administrarea rocuroniumului în doză mare determină o scădere accentuată a rezervei de bază, fapt ce poate indica instalarea acidozei metabolice (Fontelles, 2007). Administrarea atracuriumului crește rezerva de bază peste limita maximă a speciei -6.5 până la 6.7mmol/l (Eatwell, 2013). În cazul ambelor produse administrate se observă o modificare minimală a acestor valori.

Număr total de leucocite (WBC)

Protocoloalele de anestezie utilizate nu au determinat modificări semnificative statistice ale acestui parametru. Valorile medii ale acestora sunt aproximativ egale la toate cele 6 loturi luate în studiu ceea ce atestă faptul că nu există nicio corelație directă între produsele administrate și valoarea WBC.

Aplicarea testului ANOVA cu măsurători repetate ne atestă faptul că nu apar modificări statistice în cazul loturilor 2, 3, 5 și 6.

Limfocite (LYM)

Testul One Way ANOVA prezintă semnificație statistică în ceea ce privește modificarea valorilor limfocitelor la cele 6 loturi, $p<0.05$.

Modificările au semnificație statistică evidentă la 120 de minute ($F(5, 36)=5.631$, $p=0.009$) și la 24 de ore ($F(5, 36)=7.048$, $p=0.000$) după administrare. Testul de comparare intergroup Tukey este semnificativ la 120 minute între loturile 1 și 3 ($p=0.007$). Dintre toate loturile doar în cazul lotului numărul 3 se constată o scădere a numărului de limfocite sub valoarea minimă a speciei.

În literatura consultată nu am găsit studii, până la această dată, despre modificările induse de anesteziile folosite la iepure în cadrul experimentului nostru.

Granulocitele

Deoarece experimentul nostru a fost realizat doar pentru testarea efectelor anesteziilor fără efectuarea unor manopere chirurgicale, singurul aspect posibil al modificărilor celulelor albe este legat de efectul stresului modulat diferit de substanțele medicamentoase folosite.

Protocoalele de anestezie folosite determină modificări statistice semnificative în ceea ce privește acest parametru, $p<0.05$ (Testul One Way ANOVA). Modificările au semnificație statistică evidentă la 120 de minute ($F(5, 36)=3.892$, $p=0.006$) și la 24 de ore ($F(5, 36)=3.999$, $p=0.005$).

Uree

Se observă faptul că există o diferență semnificativă între cele 6 loturi luate în studiu, testul de comparare intergroup Tukey fiind semnificativ înainte de administrarea medicației între loturile 2 și 4, 5 și 6, la 120 de minute între loturile 1 și 2, respectiv 2 și 4, iar la 24 de ore între

lotul 2 și loturile 1, 3, 4, 5 și 6. La această specie capacitatea de eliminare a ureei este dependentă de consumul apei, uremia prerenală fiind frecventă în cadrul deshidratării (Butterworth-Heinemann, 2002).

Creatinina

Deși există variații statistic semnificative atât între loturi, cât și la diferiți timpi pentru loturi în parte, valorile creatininei se păstrează în limite normale. Mai mult, acestea nu sunt influențate de doza de rocuronium administrată. Totuși, protocolul în care s-a utilizat atracurium ca neuroblocant a fost unul cu valori ale creatininei mult mai puțin variate comparativ chiar și cu lotul martor. Niciunul dintre protocoalele utilizate nu determină modificări întârziate ale ratei de filtrarea glomerulară (nu au un efect remanent pe termen lung).

Alanin-aminotransferaza (ALAT)

Protocoalele de anestezie folosite nu determină modificări statistic semnificative în ceea ce privește modificarea valorilor alanin-aminotransferazei între cele 6 loturi, $p > 0.05$

Aspartat-aminotransferaza (ASAT)

La majoritatea loturilor luate în studiu valorile acestui parametru sunt superioare limitei superioare a speciei descrise de Kraft (28 UI/l), dar apropiată de cea găsită de alți cercetători 17-98 UI/l (Archetti, 2008). Valorile foarte diferite ale acestui parametru sunt foarte puternic influențate de tipul de reactiv care se folosește pentru determinare (Butterworth-Heinemann, 2002). Deviația standard crescută existentă

inițial la lotul numărul 3($\pm 73.85\text{UI/l}$) face ca modificările acestui parametru să fie greu interpretabile în cazul acestui lot.

Gamma-glutamyltransferaza (GGT)

Protocoalele de anestezie folosite nu determină modificări statistice semnificative în ceea ce privește modificarea valorilor gamma-glutamyltransferazei între cele 6 loturi, $p > 0.05$.

Fosfataza alcalină (PAL)

Testul One Way ANOVA nu prezintă semnificație statistică în ceea ce privește modificarea valorilor PAL la cele 6 loturi, $p > 0.05$.

Lactat dehidrogenaza (LDH)

Testul One Way ANOVA prezintă semnificație statistică în ceea ce privește modificarea valorilor LDH la cele 6 loturi, $p < 0.05$. La majoritatea loturilor luate în studiu valoarea acestei enzime se încadrează inițial în limitele speciei, cu excepția lotului numărul 6 la care datorită existenței unei deviații standard crescute există indivizi ale căror valori sunt situate peste limita superioară a speciei.

Proteina totală (PT)

Testul One Way ANOVA prezintă semnificație statistică în ceea ce privește modificarea valorilor proteinei totale la cele 6 loturi, $p < 0.05$, dar la toate loturile luate în studiu valoarea proteinemiei se încadrează în limitele speciei.

Albumina (Alb)

Testul One Way ANOVA prezintă semnificație statistică în ceea ce privește modificarea valorilor albuminei la cele 6 loturi, $p < 0.05$. Testul OneWay ANOVA prezintă semnificație statistică în ceea ce privește modificarea valorilor albuminei atât înainte de administrarea medicației, la 120 de minute, dar și la 24 de ore. La majoritatea loturilor, cu excepția lotului 3, valoarea albuminemică se încadrează înspre limita inferioară a speciei. Acest aspect se poate datora și vârstei pacienților, deoarece se cunoaște că valoarea proteinemică și albuminemică crește odată cu înaintarea în vârstă (Kaneko, 2008).

Globuline

Testul OneWay ANOVA nu prezintă semnificație statistică în ceea ce privește modificarea valorilor globulinelor (GLO) la cele 6 loturi.

Rezultatele capitolului 3

Parametri hematologici se modifică neglijabil în urma procedurilor chirurgicale ortopedice în sensul apariției unei anemii ușoare postintervenționale, dar aceste alterări nu sunt datorate administrării blocantului neuromuscular. Aceste scăderi nu sunt determinate de administrarea rocuroniumului deoarece valorile semnificative din punct de vedere statistic se obțin între animalul vigیل (timp 0- preoperator) și imediat după inducție (timp 1); și nu între timpul 0 și 15 minute de la administrarea neuroblocantului (timp 2). Acest aspect se poate explica

prin reducerea valorii deviației standard din timpul 1 de la ± 0.80 până la ± 0.36 , datorită miorelaxării induse de neuroblocant.

Administrarea rocuroniumului nu determină creșteri semnificative ale bicarbonatului și a rezervei de alcalină în cadrul studiului nostru. Administrarea rocuroniumului nu determină modificarea din punct de vedere statistic a ALAT, ASAT, GGT, PAL, LDH la pacienții canini.

Valorile inițiale ale glicemiei depășesc limita superioară a speciei 63-100 mg/dl. Acest aspect se poate datora durerii resimțite de pacient înaintea intervenției chirurgicale. Nivelul acesteia scade constant pe toată perioada de desfășurare a studiului, administrarea rocuroniumului nu determină modificări semnificative statistice ale acestui parametru

Nivele normale ale creatininemiei (situate între 0.48-1.54 mg/dl) și uremiei (situate între 24-54 mg/dl) atestă un nivel normal al filtrării glomerulare, ceea ce sugerează un impact minim al protocolului de anestezie asupra perfuziei renale

4. CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

- Atât Rocuroniumul cât și Atracuriumul au influențat într-o mică măsură capacitatea de termoreglare a iepurilor luați în studiu.
- Rocuroniumul a contracarat efectul bradicardizant al fentanilului în timp ce Atracuriumul a influențat foarte puțin frecvența cardiacă.
- Rocuronium în doză de 2.5 mg/kg administrat în bolus poate determina o scădere a tensiunii arteriale medii și a saturației parțiale de O₂.

- Doza de 0.25 mg/kg de Rocuronium și doza de 0.1 mg/kg de Atracurium nu au influențat semnificativ statistic pH-ul.
- Rocuronium în doză de 0.25 mg/kg a asigurat un echilibru acidobazic adecvat pe tot parcursul anesteziei.
- Niciun protocol de anestezie utilizat de noi nu a determinat modificări statistic semnificative ale leucocitelor, dar, unele protocoale au determinat o scădere semnificativă a numărului de limfocite.
- Doza de Rocuronium a influențat numărul de granulocite.
- Protocoalele de anestezie utilizate au influențat într-o măsură foarte mică activitatea hepato-renală.
- Influența Rocuroniumului asupra unor parametrii paraclinici ai pacienților canini supuși intervenției de osteotomie de cap femural a fost ne semnificativă statistic.

Recomandări:

- Recomandăm administrarea lentă a rocuroniumului, în doză de 0.25-0.5 mg/kg, pentru a evita riscul scăderea tensiunii medii arteriale.
- Deoarece rocuronium a avut o slabă influență asupra activității unor organe cu influență majoră asupra homeostaziei, acesta poate fi inclus în protocoalele de anestezie și în cazul pacienților cu diferite afecțiuni conexe și care trebuie să beneficieze de un tratament chirurgical.

BIBLIOGRAFIE

1. **Archetti I., Tittarelli C., Cerioli M., Brivio R., Grilli G., Lavazza A.**, 2008, Serum chemistry and hematology values in commercial rabbits: preliminary data from industrial farms in Northern Italy. *Ethology and Welfare – 9th World Rabbit Congress – June 10-13, 2008 - Verona*; 1147-1151.
2. **Craig R. G., Hunter J. M.**, 2009, Neuromuscular blocking drugs and their antagonists in patients with organ disease. *Anaesthesia*; 1(64): 55-65.
3. **Fontelles M. J., Carvalho R. M. de, D’Oliverira L. M. R. și colab.**, 2007, Profile of hemodynamic and gasometric parameters in rabbits submitted to controlled hemorrhagic shock. *Revista Paranse de Medicina*; 21: 15-21.
4. **Kaneco J. J., Harvey J. W., Bruss M. L.**, 2008, Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press. 889-895.
5. **Kraft W., Durr U. M.**, 2005, *Klinische Labordiagnostic in der Tiermedizin*. Schattauer Verlag.
6. **Thandia Raghavendra**, 2002, Neuromuscular blocking drugs: Discovery and development. *J. R. Soc. Med.*; 95(7): 363-367.