

Identifikasi Golongan Darah Anjing Kampung dengan Antibodi Monoklonal

(BLOOD GROUPING OF THE LOCAL BREED DOGS USING MONOCLONAL ANTIBODIES)

Helny Rosita Supriadi¹, Masaji Washio², Gunanti¹,
Damiana Rita Ekastuti³, Srihadi Agungpriyono^{3*}

¹*Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi*

³*Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi*

Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,

Jl. Agatis Wing 8, Lt.2 Kampus IPB Dramaga, Telpon 0251-421823

Bogor 16680 Koresponden Email: ysrihadi@yahoo.com*

²*Departement of Blood Products, SHIGETA Animal Pharmaceuticals, Inc Japan*

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi tipe dan sebaran golongan darah anjing kampung (*Canis familiares*) di beberapa lokasi di Jakarta, Bekasi dan Bogor serta keterkaitannya dengan warna rambut, jenis kelamin dan lokasi anjing.. Golongan darah anjing diidentifikasi dengan antibodi monoklonal produksi Shigeta. Sebanyak 50 ekor anjing kampung digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini. Penentuan golongan darah ditentukan berdasarkan adanya reaksi aglutinasi antara antigen dan antibodi. Hasil pemeriksaan didapatkan tiga golongan darah yaitu 1.1B (44.0%), 1.2B (42.0%) dan 1(-)B (14.0%) pada 50 ekor anjing. Dalam penelitian ini tidak ditemukan kaitan antara warna rambut, jenis kelamin dan lokasi terhadap kecenderungan munculnya golongan darah tertentu.

Kata kunci: anjing kampung, golongan darah, antibodi monoklonal

ABSTRACT

A study was carried out to identify the blood groups of dogs and to determine their distribution among dog population as well as their possible relationship with hair color, sexes and location. Fifty dogs were used in this study and they were originated from Jakarta, Bekasi and Bogor, Indonesia. The blood groups of dogs were determined by monoclonal antibodies and a positive reaction was characterized by the presence of agglutination as a result of antigen-antibody reaction. Three blood groups, 1.1B (44.0%), 1.2B (42.0%) and 1(-)B (14.0%) were detected among the 50 dogs examined. No significant relationship between certain the blood groups and the hair color, sexes and their origin were detected in this study.

Keywords: local breed dogs, blood type, monoclonal antibody

PENDAHULUAN

Transfusi darah merupakan salah satu memperbaiki homeostasis tubuh (Kris-
terapi penyelamatan pasien dalam kondisi tensen & Feldman 1995). Sebelum trans-
kritis yang terjadi akibat kekurangan fusi darah, penentuan golongan darah
darah. Terapi ini biasanya semacam ini perlu dilakukan untuk menghindari reaksi

buruk akibat transfusi dari donor yang golongan darahnya tidak sesuai. Reaksi buruk yang umum muncul akibat golongan darah yang tidak sesuai adalah alergi, demam, tremor, takikardia, konvulsi dan hipotermia. Karena itu, tersedianya uji yang dapat menentukan golongan darah dengan cepat dan akurat menjadi amat penting (Dodman 1980; Usui *et al.*, 1995).

Pengelompokan golongan darah anjing telah dilakukan sejak pada tahun 1910 oleh von Dungren dan Hirschfeld (Reihart & Reihart 1959). Golongan darah diklasifikasikan berdasarkan antigen yang terdapat pada permukaan eritrosit dan sampai saat ini telah diidentifikasi sembilan jenis antigen golongan darah pada anjing di seluruh dunia. Golongan darah anjing mulanya ditandai dengan notasi menggunakan huruf yang melambangkan jenis antigen pada permukaan sel darah merah. Dewasa ini golongan darah dinamai berdasarkan jenis antigen yang terdapat pada permukaan sel darah merah anjing (*Dog Erythrocyte Antigens/DEA*) (Tizard 1987; Hosgood & Hoskins 1998). Sembilan golongan darah anjing yang telah teridentifikasi adalah 1.1A, 1.1B, 1.1AB, 1.2A, 1.2B, 1.2AB, 1(-)A, 1(-)B dan 1(-)AB (Shigeta, 2003). Identifikasi golongan darah dapat dilakukan dengan antibodi mono-klonal yang bereaksi secara khas dengan antigen tertentu pada permukaan sel darah merah.

Sampai saat ini, upaya penentuan golongan darah anjing di Indonesia belum pernah dilaporkan. Terbatasnya sarana dan prasarana yang tersedia di klinik dan rumah sakit hewan merupakan kendala utama dalam upaya penentuan golongan darah pada anjing di Indonesia. Namun, meningkatnya kasus bedah yang memerlukan terapi transfusi darah menyebabkan penentuan golongan darah pada anjing menjadi amat penting. Tersedianya reagen yang dapat menentukan golongan darah dengan mudah dan cepat memungkinkan untuk dilakukannya tranfusi darah dari satu anjing ke anjing yang lain. Tranfusi semacam ini sangat diperlukan dalam mengatasi kekurangan darah pada

anjing. Sampai saat ini, kekurangan darah pada hewan umumnya diatasi dengan pemberian cairan infus seperti dekstrose 5%, Ringer's, *lactated* Ringer's, sodium bikarbonat 5%, potasium kloride (Waterman 1977).

Anjing kampung keberadaannya telah lama diketahui di Indonesia. Berbagai jenis anjing yang ditemukan di Indonesia mempunyai fenotip berbeda-beda seperti warna rambut, dan ras (Giger *et al.* 2004). Apakah frekuensi munculnya golongan darah tertentu berkaitan dengan warna rambut, jenis kelamin dan lokasi anjing belum pernah dilaporkan di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mendapatkan informasi mengenai sebaran golongan darah pada anjing kampung di beberapa lokasi di Bogor (Dramaga, Ciampea, dan Parung), Bekasi dan Jakarta (Jakarta Barat) dengan kit antibodi monoklonal serta kemungkinan kaitannya dengan warna rambut, lokasi asal anjing dan jenis kelamin.

METODE PENELITIAN

Hewan Coba

Sebanyak 50 ekor anjing kampung dewasa digunakan dalam penelitian ini. Anjing tersebut diperoleh dari beberapa lokasi di sekitar Bogor (Dramaga, Ciampea dan Parung), Bekasi dan Jakarta (Jakarta Barat).

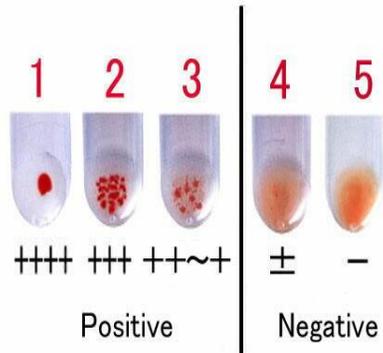
Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah sebanyak kurang lebih dua ml diambil dari *Vena Saphena* atau *Vena Cephalica Antibrachii Dorsalis* dengan *disposable* syringe berukuran 23 *gauge*. Sebelum pengambilan sampel darah, rambut di daerah sekitar pengambilan darah dicukur dan didesinfeksi dengan alkohol 70%.

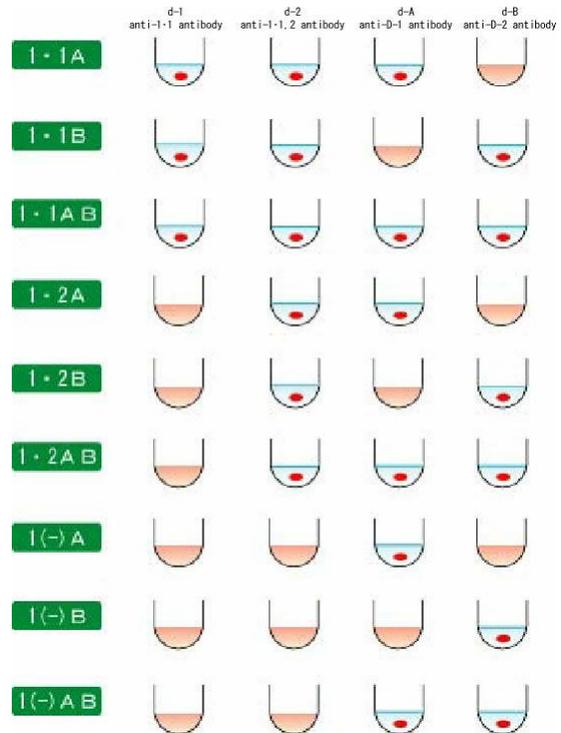
Penentuan Golongan Darah Anjing

Golongan darah anjing ditentukan dengan menggunakan *kit* antibodi monoklonal (Shigeta Animal Pharmaceuticals Inc, Jepang). Dua tetes suspensi darah 2-4% dalam PBS dimasukkan ke dalam

setiap tabung mikro. Empat panel antibodi monoklonal yang sesuai dengan golongan darah anjing ditambahkan ke dalam setiap tabung mikro dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama satu menit. Setelah didiamkan dalam posisi berdiri selama sekitar empat menit suhu 37 °C, semua tabung mikro disentrifuse selama 15 – 20 detik pada kecepatan 3500 rpm. Campuran kemudian digoyang secara perlahan-lahan. Adanya reaksi aglutinasi ditandai dengan terbentuknya butiran-butiran seperti pasir yang tampak secara kasat mata setelah endapan darah digoyang, sedangkan reaksi negatif ditandai dengan adanya campuran sel darah merah yang homogen (Gambar 1). Untuk penentuan golongan darah anjing dilakukan dengan mengacu pada skema yang tertera pada Gambar 2.



Gambar 1. Penentuan positif dan negatif berdasarkan ada tidaknya reaksi aglutinasi (Sumber : [Shigeta] Shigeta Animal Pharmaceuticals Inc. *Procedures For Canine Blood Typing and Crossmatching*. <http://www.Shigeta.co.jp/en>. [29 Juni 2003])



Gambar 2. Penentuan golongan darah berdasarkan reaksi aglutinasi (Sumber : [Shigeta] Shigeta Animal Pharmaceuticals Inc. *Procedures For Canine Blood Typing and Crossmatching*. <http://www.Shigeta.co.jp/en>. [29 Juni 2003])

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan sampel darah dari 50 ekor anjing menunjukkan bahwa 22 ekor anjing bergolongan darah 1.1B (44.0%), 21 ekor bergolongan darah 1.2B (42.0%) dan sisanya sebanyak tujuh ekor anjing bergolongan darah 1(-)B (14.0%). Data tersebut menunjukkan bahwa golongan darah yang muncul hanya tiga yaitu 1.1B, 1.2B dan 1(-)B, sedangkan enam golongan darah lainnya tidak muncul yaitu 1.1A, 1.1AB, 1.2A, 1.2AB, 1(-)A dan 1(-)AB (Tabel 1,2 dan 3).

Tabel 1. Sebaran golongan darah anjing berdasarkan warna rambut

Golongan Darah	Warna Rambut						Jumlah total (ekor)
	Coklat (ekor)	Hitam (ekor)	Putih (ekor)	Kombinasi Dua Warna(ekor)			
				Putih Hitam	Putih Coklat	Hitam Coklat	
1.1B	6 (12.0%)	4 (8.0%)	4 (8.0%)	1 (2.0%)	6 (12.0%)	1 (2.0%)	22 (44.0%)
1.2B	7 (14.0%)	6 (12.0%)	1 (2.0%)	3 (6.0%)	1 (2.0%)	3 (6.0%)	21 (42.0%)
1(-)B	3 (6.0%)	1 (2.0%)	0 (0.0%)	2 (4.0%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	7 (14.0%)
Total	16 (32.0%)	11 (22.0%)	5 (10.0%)	6 (12.0%)	7 (14.0%)	5 (10.0%)	50 (100.0%)

Tabel 2. Golongan darah anjing berdasarkan lokasi penyebaran anjing

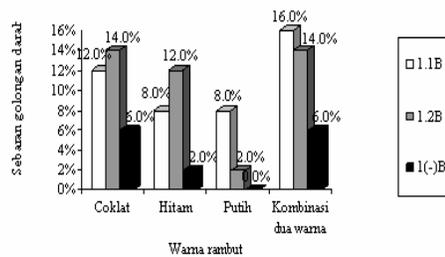
Golongan Darah	Lokasi					Jumlah total (ekor)
	Dramaga (ekor)	Ciampea (ekor)	Jakarta Barat (ekor)	Parung (ekor)	Bekasi (ekor)	
1.1B	3 (6.0%)	8 (16.0%)	4 (8.0%)	6 (12.0%)	1 (2.0%)	22 (44.0%)
1.2B	5 (10.0%)	1 (2.0%)	5 (10.0%)	2 (4.0%)	8 (16.0%)	21 (42.0%)
1(-)B	2 (4.0%)	1 (2.0%)	1 (2.0%)	2 (4.0%)	1 (2.0%)	7 (14.0%)
Jumlah Total	10 (20.0%)	10 (20.0%)	10 (20.0%)	10 (20.0%)	10 (20.0%)	50 (100.0%)

Tabel 3. Sebaran golongan darah anjing berdasarkan jenis kelamin anjing

Golongan Darah	Jenis Kelamin (ekor)		Jumlah Total (ekor)
	Jantan	Betina	
1.1B	10 (20.0%)	12 (24.0%)	22 (44.0%)
1.2B	15 (30.0%)	6 (12.0%)	21 (42.0%)
1(-)B	5 (10.0%)	2 (4.0%)	7 (14.0%)
Jumlah Total	30 (60.0%)	20 (40.0%)	50 (100.0%)

Sebanyak 16 ekor anjing (32.0%) ekor anjing yang berambut hitam, memiliki rambut berwarna coklat, lima sebanyak empat ekor (8.0%) bergolongan ekor warna putih (10.0%), 11 ekor hitam darah 1.1B, enam ekor (12.0%) bergolongan (22.0%), serta 18 ekor (36.0%) kombinasi darah 1.2B dan satu ekor bergolongan dua warna (Gambar 3). Dari 16 ekor yang darah 1(-)B. Lima ekor anjing berambut berrambut coklat, tujuh ekor (12.0%) putih terdiri atas empat ekor (8.0%) bergolongan darah 1.1B, tujuh ekor (14.0%) bergolongan darah 1.1B dan satu ekor bergolongan darah 1.2B dan tiga ekor (2.0%) bergolongan darah 1.2B. Anjing (6.0%) bergolongan darah 1(-)B. Dari 11 dengan warna rambut putih tidak ada yang

memiliki golongan darah 1(-)B. Sebanyak 18 ekor anjing yang berambut kombinasi dua warna terdiri dari delapan ekor (16.0%) bergolongan darah 1.1B, tujuh ekor (14.0%) bergolongan darah 1.2B dan tiga ekor (6.0%) bergolongan darah 1(-)B. Golongan darah yang paling banyak adalah 1.1B (44.0%), yang kedua 1.2B (42.0%) dan yang ketiga adalah 1(-)B (14.0%).

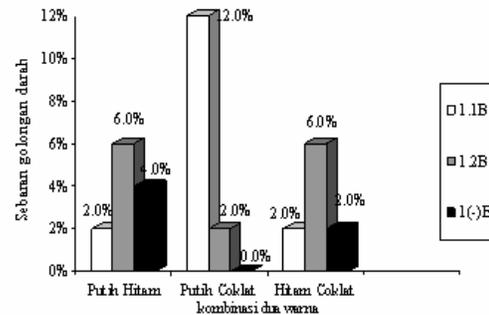


Gambar 3. Sebaran golongan darah berdasarkan warna rambut

Anjing dengan kombinasi dua warna berjumlah 18 ekor yang terdiri atas enam ekor (12.0%) kombinasi putih hitam, tujuh ekor (14.0%) putih coklat dan lima ekor (10.0%) hitam coklat (Gambar 4). Kelompok anjing dengan kombinasi warna putih hitam terdiri atas satu ekor (2.0%) bergolongan darah 1.1B, tiga ekor (6.0%) bergolongan darah 1.2B dan dua ekor (4.0%) bergolongan darah 1(-)B. Kelompok anjing dengan kombinasi warna putih coklat terdiri atas enam ekor (12.0%) bergolongan darah 1.1B dan satu ekor (2.0%) bergolongan darah 1.2B. Kelompok anjing dengan kombinasi warna hitam coklat yang masing-masing terdiri atas satu ekor (2.0%) bergolongan darah 1(-)B dan 1.1B, bergolongan 1.2B sebanyak tiga ekor (6.0%). Secara umum dari semua kombinasi warna pada anjing-anjing ini, golongan darah 1.1B merupakan golongan darah terbanyak yang ditemui yaitu sebanyak delapan ekor (16.0%).

Berdasarkan jenis kelamin didapatkan 30 ekor jantan (60.0%) dan 20 ekor betina (40.0%) (Gambar 5). Anjing jantan terdiri atas 10 ekor (20.0%)

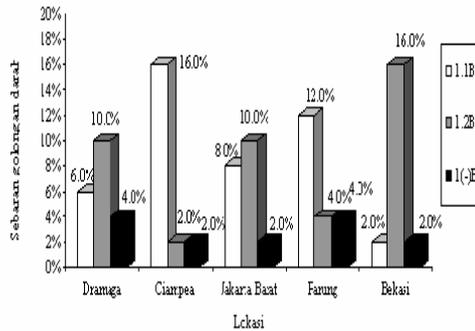
bergolongan darah 1.1B, 15 ekor (30.0%) bergolongan darah 1.2B dan lima ekor (10.0%) bergolongan darah 1(-)B. Anjing betina terdiri atas 12 ekor (24.0%) bergolongan darah 1.1B, 6 ekor (12.0%) bergolongan darah 1.2B dan dua ekor (2.0%) bergolongan darah 1(-)B.



Gambar 4. Sebaran golongan darah berdasarkan kombinasi dua warna

Dari setiap lokasi asal anjing yaitu dari Jakarta Barat, Dramaga, Ciampea, Bekasi dan Parung diambil 10 sampel darah (Gambar 6). Anjing yang berasal dari Dramaga sebanyak tiga ekor (6.0%) bergolongan darah 1.1B, lima ekor (10.0%) bergolongan darah 1.2B dan dua ekor (4.0%) bergolongan darah 1(-)B. Anjing yang berasal dari Jakarta Barat, terdiri atas empat ekor (8.0%) bergolongan darah 1.1B, lima ekor (10.0%) bergolongan darah 1.2B dan satu ekor (2.0%) bergolongan darah 1(-)B. Anjing yang berlokasi di Ciampea sebanyak delapan ekor (16.0%) bergolongan darah 1.1B, satu ekor (2.0%) bergolongan darah 1.2B dan satu ekor (2.0%) bergolongan darah 1(-)B. Anjing yang berlokasi di Parung, sebanyak enam ekor (12.0%) bergolongan darah 1.1B, dua ekor (4.0%) bergolongan darah 1.2B dan dua ekor (4.0%) bergolongan darah 1(-)B. Anjing yang berlokasi di Bekasi, sebanyak satu ekor (2.0%) bergolongan darah 1.1B, delapan ekor (16.0%) bergolongan darah 1.2B dan satu ekor (2.0%) bergolongan darah 1(-)B. Lokasi Dramaga, Bekasi dan Jakarta Barat didominasi oleh golongan darah 1.2B, sedangkan lokasi Ciampea dan Parung didominasi oleh golongan darah 1.1B. Frekuensi golongan darah 1(-)B cukup rendah tetapi memiliki

kecenderungan muncul yang hampir sama di tiap lokasi.

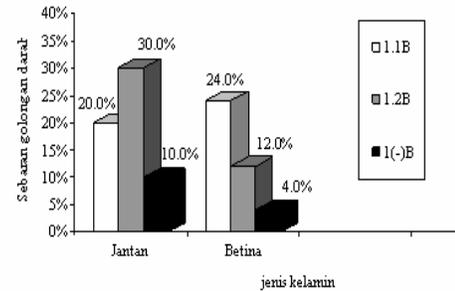


Gambar 5. Sebaran golongan darah berdasarkan lokasi

Beragamnya ras dan cara penentuan golongan darah pada anjing saat ini mempengaruhi kecenderungan munculnya golongan darah tertentu (Ejima *et al.* 1986). Penentuan golongan darah dengan antibodi monoklonal pada prinsipnya adalah untuk mendeteksi antigen penentu golongan darah pada permukaan eritrosit. Dari panel antibodi monoklonal penentu golongan darah yang telah ditetapkan oleh Shigeta, teridentifikasi tiga tipe golongan darah yaitu 1.1B (52,5%), 1.2B (32,5%) dan 1(-)B (15%). Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil studi terdahulu terhadap 14.000 ekor anjing di Jepang oleh Shigeta. Golongan darah 1.1B (44,4%) adalah yang tertinggi, yang kedua adalah 1.2B (21,7%) dan yang ketiga adalah 1(-)B (17,0%). Enam golongan darah lainnya yaitu 1.1A, 1.1AB, 1.2A, 1.2AB, 1(-)A dan 1(-)AB juga teridentifikasi dalam penelitian Shigeta, tetapi dengan persentase yang kecil.

Pada penelitian ini enam golongan darah tersebut tidak muncul. Hal ini mungkin disebabkan oleh jumlah anjing yang dipakai hanya 50 ekor dan hanya satu macam ras yaitu anjing kampung, sedangkan Shigeta memeriksa sekitar 32 ras anjing. Kecenderungan yang sama terhadap sebaran tiga golongan darah hasil penelitian ini dengan yang ditemukan di Jepang mungkin disebabkan oleh letak

geografis dan ras anjing (Giger *et al.* 2004). Secara genetik, anjing kampung di Indonesia mempunyai hubungan yang dekat dengan anjing ras asli di Jepang karena berasal dari nenek moyang yang sama jutaan tahun yang lalu. Shigeta (2003) menunjukkan bahwa golongan darah 1.1B 1.2B dan 1(-)B dominan pada hampir semua ras anjing termasuk anjing kampung.



Gambar 6. Sebaran golongan darah berdasarkan jenis kelamin

Menurut Ejima *et al.* (1986) dan Usui *et al.* (1995) fenotip dari ras anjing berkaitan erat dengan golongan darah, tetapi kedua peneliti ini tidak menjelaskan lebih lanjut tentang kemungkinan kaitan warna rambut dengan golongan darah. Warna rambut merupakan salah satu ekspresi fenotip yang tampak (Robinson 1990). Penelitian ini mencoba mengkaitkan kemungkinan hubungan antara warna rambut dan golongan darah, mengingat hanya satu ras yaitu ras kampung yang diamati. Hasil perhitungan persentase golongan darah dari jumlah total anjing menunjukkan bahwa tidak ada kaitan antara golongan darah dan warna rambut. Namun, golongan darah berkorelasi positif dengan kombinasi dua warna. Walaupun terlalu awal untuk mengatakan bahwa seekor anjing dengan warna rambut coklat yang dikombinasikan dengan warna rambut putih atau hitam akan cenderung mempunyai golongan darah 1.1B karena jumlah anjing yang digunakan sebagai sampel relatif terlalu sedikit.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ejima *et al.* (1986) menyatakan bahwa tidak ada kaitan antara jenis kelamin

dengan frekuensi munculnya golongan darah tertentu. Hasil penelitian tersebut telah terkonfirmasi pada penelitian ini. Baik jantan maupun betina cenderung memiliki golongan darah 1.1B yang merupakan golongan darah dominan, tetapi pada jantan memiliki frekuensi yang sama untuk golongan darah 1.1 dan 1.2B. Secara umum pada penelitian ini tidak ada kaitan antara jenis kelamin terhadap munculnya golongan darah tertentu. Perbedaan sebaran golongan darah dapat terlihat di antara beberapa ras anjing di Jepang dan ras-ras anjing Eropa atau Amerika dengan metode DEA (Ejima *et al.* 1986). Anjing ras Jepang yaitu Akita, Shiba dan Mongrel memiliki frekuensi tinggi golongan darah D3(+), sedangkan pada ras Eropa atau Amerika golongan darah ini jarang ditemukan.

Penelitian ini juga mencoba untuk menghubungkan antara lokasi asal anjing dan golongan darah anjing yang ditemukan. Ciampea dan Parung didominasi oleh golongan darah 1.1B, sedangkan Dramaga dan Jakarta Barat didominasi oleh golongan darah 1.2B. Golongan darah 1(-)B, walaupun frekuensinya rendah memiliki kecenderungan muncul yang hampir sama di tiap wilayah. Namun, penelitian lebih lanjut perlu dilakukan karena jumlah dan lokasi pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini masih sedikit. Jarak antara Jakarta dan Bogor relatif cukup dekat (± 60 km), sehingga perbedaan lokasi bisa jadi tidak terlalu berpengaruh dalam studi ini.

SIMPULAN

Hasil pemeriksaan didapatkan tiga golongan darah yaitu 1.1B (44.0%), 1.2B (42.0%) dan 1(-)B (14.0%) pada 50 ekor anjing. Secara umum kaitan antara warna rambut, jenis kelamin dan lokasi terhadap kecenderungan munculnya golongan darah tertentu belum dapat dipastikan dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada SHIGETA Animal Pharmaceuticals Inc, Jepang atas donasi *kit* antibodi monoklonal. Penelitian ini dibiayai oleh Sistem Perencanaan, Penyusunan, Program dan Penganggaran No. 95/K13.18.1/SPHP/2004. Direktorat Jenderal, Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.

DAFTAR PUSTAKA

- [Shigeta]. 2003. Procedures for canine blood typing and crossmatching. <http://www.shigeta.co.jp/en/>. Shigeta Animal Pharmaceuticals Inc [29 Juni 2003]
- Dodman NH. 1980. Fluid Balance and Therapy in Small Animal Practice. Di dalam: Jones BV, editor. Jones's Animal Nursing. Ed ke-3. Oxford, New York, Toronto, Sydney, Paris, Frankfurt: Pergamon Press. Pp: 334 – 343.
- Ejima H, Kurokawa, Ikemoto S. 1986. Phenotype and gene frequencies of red blood cell groups in dogs of various breed reared in Japan. *Jpn. J. Vet. Sci.* 48(2):363 -368.
- Giger U, Oakley DA, Callan MB, Kohn B. 2004. Advances in canine blood typing, crossmatching and donor program. http://www.rapidvet.com/canine_edonor.html. [29 Juni 2004].
- Hosgood G, Hoskins JD. 1998. Small Animal Paediatric Medicine and Surgery. Oxford: Butterworth-Heinemann. Pp: 41 -57.
- Kristensen AT, Feldman BF. editor. 1995. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 4th Ed, Vol 1. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: WB Saunders Company. Pp: 347 -360.
- Reihart OF, Reihart HW. 1959. The Blood An Blood Forming Organs. In: Hoskins HP, Lacroix JV, Mayer K, editor. Canine Medicine. Ed ke-2. Santa Barbara, California: *American Veterinary*. Pp: 221 – 274.

- Robinson R. 1990. *Genetics For Dogs Breeder*. Ed Ke-2. Oxford, New York, Beijing, Frankfurt, Sao Paulo, Sydney, Tokyo, Toronto: Pergamon Press. Pp: 109 – 144.
- Tizard I. 1987. *Pengantar Imunologi Veteriner*. Ed ke-2., penerjemah Partadiredja M; Hardjosworo S, editor. Surabaya: Airlangga University Press. (Terjemahan dari: *An Introduction to Veterinary Immunology*). Pp: 373 – 387.
- Usui R, Hirota J, Oyamada T, Ikemoto S. 1995. Differences of phenotype and gene frequency by C system in canine species. *J Vet Med Sci*. 57(2):379 – 380.
- Waterman AE. 1977. Body Fluids. In: Archer RK, editor. *Canine Medicine and Therapeutics*. Oxford London Edinburgh Melbourne: Blackwell Scientific