

ESTABILIDADE SOB CONGELAMENTO POR 90 DIAS DE COMPONENTES BIOQUÍMICOS DO SORO DE CANINOS SADIOS

Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias /UFRGS

Elisa Rocha, Magnus Dalmolin, Nicole Hlavac, Luciana Lacerda, Félix González

INTRODUÇÃO

O armazenamento de amostras biológicas para análise posterior é uma prática comum na experimentação científica. Em análises clínicas veterinárias, o congelamento de soro ou plasma é utilizado na tentativa de evitar a degradação da amostra se houver necessidade de avaliá-la novamente. Existem poucos dados na literatura veterinária e as informações disponíveis sobre a estabilidade dos diferentes analitos é baseada em estudos realizados em amostras sorológicas de humanos.

OBJETIVO

Avaliar a estabilidade de diferentes parâmetros bioquímicos em amostras sorológicas de canino armazenado por 90 dias a -20°C .

MATERIAIS E MÉTODOS

Para realizar este estudo foram selecionados 21 cães clinicamente saudáveis com idade entre 1 e 8 anos e peso corporal acima de 30 kg. Após autorização assinada pelo proprietário, jejum de 8 horas e antisepsia adequada, amostras de sangue foram coletadas através de punção a vácuo. Foram coletados 8 mL de sangue em tubos secos contendo ativador de coágulo para as análises bioquímicas. Os tubos foram deixados em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente para retração do coágulo e a seguir o material foi centrifugado por 15 minutos a 1036 g. O soro de cada animal foi dividido em 4 alíquotas de 1500 μL , sendo que duas foram utilizadas para a primeira avaliação e as outras duas foram congeladas a -20°C por 90 dias. Os parâmetros avaliados foram: atividade das enzimas lipase (LIP), amilase, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP) e os metabólitos amônia, albumina, creatinina, triglicerídeos, colesterol, proteínas totais e uréia. Os valores de amilase, lipase e amônia foram obtidos pela técnica de química seca, enquanto que as demais análises foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático pelo método de química úmida. Dentro da população avaliada, 14 cães apresentaram os parâmetros dentro do intervalo de referência para espécie (66,66%) e, portanto somente estes resultados foram utilizados para o estudo. Os dados apresentaram distribuição normal e foram submetidos ao teste-t para amostras pareadas ($p < 0,05$) através do pacote estatístico SPSS 19.0. Foram consideradas clinicamente significativas as alterações acima de 10% do valor inicial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior parte dos parâmetros apresentou diferenças estatisticamente significativas com exceção da concentração de creatinina e albumina, mas apenas a atividade das enzimas LIP, ALT e ALP e a concentração de amônia apresentaram alterações com possível significado clínico. Com o tempo de armazenamento há uma modificação no sítio ativo da enzima ALT, o que explica sua redução em 11,38%, no entanto a ALT humana apresentou estabilidade em estudos sob congelamento à -80°C . A ALP apresentou uma queda de 26,33%, possivelmente devido à instabilidade das isoformas enzimáticas e à formação de quelatos com íons de zinco em contato com eritrócitos. A enzima lipase teve um aumento da sua atividade de 14,85%, provavelmente por causa da presença de triglicerídeos no soro. Por fim, a concentração de amônia teve um aumento de 54,87%, possivelmente devido ao catabolismo proteico, onde ocorre a transaminação dos aminoácidos e a formação de amônia que será levada para o fígado para ser convertida em uréia e então ser excretada.

CONCLUSÃO

A partir desta análise, e dos estudos preexistentes, é possível afirmar que o congelamento das amostras de soro de cães saudáveis pode ser realizado sem alterar a interpretação clínica da maior parte dos parâmetros estudados por até 90 dias a -20°C . Outros estudos devem ser realizados avaliando-se um período menor de congelamento e utilizando animais com alterações bioquímicas clinicamente significativas para saber se o mesmo procedimento pode ser aplicado.

BIBLIOGRAFIA

Thoresen SI, Tverdal A, Havre G, Morberg H. 1995. Effects of storage time and freezing temperature on clinical chemical parameters from canine serum and heparinized plasma. *Vet Clin Pathol* 24: 129-133.

Cray C, Rodriguez M, Zaias J, Altman N. 2008. Effects of Storage Temperature and Time on Clinical Biochemical Parameters from Rat Serum. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 48: 202-204.

Brinc D, et al. Long-term stability of biochemical markers in pediatric serum specimens stored at -80°C : A CALIPER Substudy, *Clin Biochem* (2012), doi: 10.1016/j.clinbiochem.2012.03.029.

Hawkins MG, Kass, PH, Zinkl JG, Tell LA. 2006. Comparison of biochemical values in serum and plasma, fresh and frozen plasma, and hemolyzed samples from orange-winged Amazon parrots (*Amazona amazonica*). *Vet Clin Pathol*. 35: 219-225.

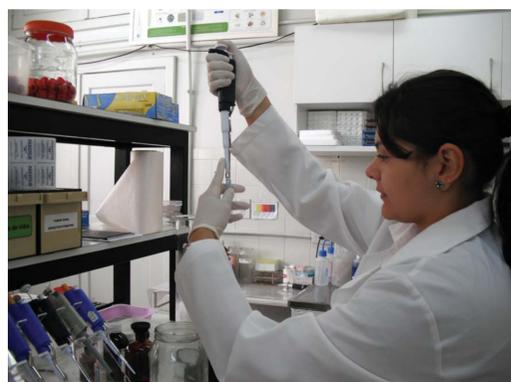
Coleta das amostras



Soro sem alterações macroscópicas



Separação do soro em alíquotas



Apoio:



Agradecimento:

