

## Efeito do tempo e da temperatura de armazenamento na determinação de parâmetros bioquímicos séricos e plasmáticos de equinos Quarto de Milha\*

Ágatha Ferreira Xavier de Oliveira<sup>1</sup>, Juliana Macedo Raimundo<sup>2</sup>, Marcus Sandes Pires<sup>3</sup>, Gleice Marques Amaro<sup>2</sup>, Andresa Guimarães<sup>2</sup>, Aline Tonussi da Silva<sup>2</sup>, Camila Flavia Magalhães Botelho<sup>2</sup>, Carlos Henrique Machado<sup>4</sup>, Fernando Queiroz de Almeida<sup>4</sup> e Cristiane Divan Baldani<sup>5</sup>

**ABSTRACT.** Oliveira A.F.X., Raimundo J.M., Pires M.S., Amaro G.M., Guimarães A., Silva A.T., Botelho C.F.M., Machado C.H., Almeida F.Q. & Baldani C.D. [Effect of storage time and temperature in the determination of serum and plasma biochemical parameters of Quarter horses.] Efeito do tempo e da temperatura de armazenamento na determinação de parâmetros bioquímicos séricos e plasmáticos de equinos Quarto de Milha. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.2):11-16, 2016. Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal Rural do Estado do Rio de Janeiro, BR 465, KM 47, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: crisbaldani@gmail.com

The aim of the present study was to evaluate the effect of storage time and temperature of serum and plasma on the determination of clinical biochemistry analytes in horses. Blood samples were taken from ten clinically healthy Quarter Horses, and analysis were performed immediately after obtaining the sample (time zero) and after 24 hours, 48 hours, 7, 15, 30, 60 and 90 days. Samples were evaluated at room temperature (16.6 to 29.6° C), refrigeration (4° C) and freezing (-20° C). Biochemical parameters analysed were urea, creatinine, creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), glucose, lactate, total protein (TP) and albumin. All parameters were stable at room temperature for 24 hours. Under refrigeration conditions no significant differences ( $p > 0.05$ ) were observed until the 30<sup>th</sup> day of analysis, with exception of albumin which demonstrated instability from day 15. In frozen (-20° C) samples, albumin and AST were significantly unstable on 15 and 90 days ( $p < 0.05$ ) of analysis respectively, remaining the other analytes without significant changes for 90 days. The results showed considerable stability of biochemical parameters on serum or plasma, ensuring greater autonomy to veterinarians in sending samples to the clinical laboratory.

KEY WORDS. Serum/plasma stability, horses, storage time.

---

\* Recebido em 6 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 4 de outubro de 2016.

<sup>1</sup> Curso de Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Campus Seropédica, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: agtx@live.com

<sup>2</sup> Médica-veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, IV, UFRRJ, Campus Seropédica, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mails: julianam\_rj@hotmail.com; gleicemamaro@outlook.com; andresaguimaraes02@yahoo.com.br; aline\_tonussi@yahoo.com.br; camilafmbotelho@gmail.com

<sup>3</sup> Médico-veterinário, Programa de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias, Anexo 1, IV, UFRRJ, Campus Seropédica, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: marcussandes@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Médico-veterinário, DSc, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, IV, UFRRJ, Campus Seropédica, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mails: cahema2@gmail.com; almeidafq@yahoo.com.br

<sup>5</sup> Médica-veterinária, DSc, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, IV, UFRRJ, Campus Seropédica, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. \*Author for correspondence, E-mail: crisbaldani@ufrjr.br

**RESUMO.** Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do tempo e da temperatura no armazenamento de soro e plasma na determinação de valores bioquímicos em equinos. Foram utilizados 10 equinos clinicamente sadios da raça Quarto de Milha, sendo as análises realizadas imediatamente após a obtenção da amostra (Tempo zero) e após 24 horas, 48 horas, 7, 15, 30, 60 e 90 dias. As amostras foram avaliadas à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), de refrigeração (4°C) e de congelamento (-20°C). Os parâmetros bioquímicos avaliados foram ureia, creatinina, creatinaquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), glicose, lactato, proteínas totais (PT) e albumina. Todos os parâmetros foram estáveis à temperatura ambiente por 24 horas e à temperatura de refrigeração, não se observando diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) até o 30º dia de análise, com exceção da albumina que apresentou instabilidade a partir do 15º dia. Nas amostras congeladas a -20°C, verificou-se instabilidade da albumina e AST nas análises de 15 e 90 dias ( $p < 0,05$ ), respectivamente, permanecendo os demais analitos sem alterações significativas por 90 dias. Os resultados demonstraram uma estabilidade considerável dos parâmetros bioquímico-séricos ou plasmáticos analisados, garantindo ao médico veterinário maior autonomia e adequação no envio das amostras ao laboratório clínico.

**PALAVRAS-CHAVE.** Estabilidade do soro/plasma, equinos, tempo de armazenamento.

## INTRODUÇÃO

A determinação de painéis bioquímicos, realizada a partir de soro e plasma sanguíneos, são importantes ferramentas para auxiliar no diagnóstico e prognóstico de enfermidades que acometem os animais domésticos. O perfil bioquímico reflete a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos (Kaneko et al. 1997). Coppo e Musart (2000) avaliando diversos casos clínicos no Hospital Escuela de Corrientes observaram que em 54,4% dos casos, o diagnóstico inicial foi modificado a partir dos resultados pertinentes à bioquímica clínica.

A interpretação do perfil bioquímico é complexa, sendo sujeita a inúmeras variações. Isso se deve aos diversos mecanismos de controle dos níveis sanguíneos e à própria variação do constituinte em si, em função da raça, idade, estresse, dieta, ní-

vel de produção, manejo, clima e estado fisiológico (Ehsani et al. 2008, Oliveira et al. 2011). Sabe-se também que fatores críticos durante as fases pré-analítica (método de coleta, armazenamento, tempo), analítica e pós-analítica podem comprometer a estabilidade da amostra e interferir nos parâmetros a serem analisados (Sartor et al. 1985, Zhang et al. 1998, Stockham & Scott 2012). Kouri et al. (2005) demonstraram que erros na fase pré-analítica foram os principais responsáveis por falhas nos resultados laboratoriais, sendo responsáveis por 62% dos erros. Logo, para que as alterações patológicas sejam estabelecidas, as variações pré-analíticas e analíticas devem ser reduzidas a ponto de não influenciarem a interpretação dos resultados (Zhang et al. 1998, Stockham & Scott 2012).

Na rotina clínica, a necessidade de processar a amostra em menor tempo possível, desde a sua coleta, torna-se cada vez mais crítica. Entretanto, isso impõe-se como um sério fator de limitação, particularmente para grandes estudos epidemiológicos ou clínicos. De modo geral, o tempo de armazenamento é maior, variando de semanas a meses ou até mesmo anos. E, pode haver a necessidade de refrigeração ou congelamento da amostra, a fim de prevenir a degradação de analitos termolábeis (Cray et al. 2009). No entanto, na Medicina Veterinária, há muito pouca informação acerca da estabilidade de constituintes bioquímicos no sangue, o que pode estar contribuindo para o menor aproveitamento das amostras ou mesmo gerando erros pré-analíticos (Comis 2006, Ehsani et al. 2008, Tóthova et al. 2012).

Desta forma, o presente estudo objetivou avaliar o efeito do tempo e da temperatura de armazenamento, de amostras séricas e plasmáticas de cavalos da raça Quarto de Milha, na determinação dos parâmetros bioquímicos uréia, creatinina, creatinaquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), glicose, lactato, proteínas totais (PT) e albumina.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados no presente estudo 10 equinos da raça Quarto de Milha, hípidos, sendo seis machos e quatro fêmeas, com idades variando de um a 13 anos. Os animais foram mantidos em pastagem, concentrado e água *ad libitum*. As amostras foram obtidas mediante venopunção jugular, após antisepsia local, utilizando-se frascos sem anticoagulante, os quais após a retração do coágulo, foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos. Foram também empregados tubos contendo o anticoagulante fluoreto de sódio para a obtenção do plasma. Amostras hemolisadas foram excluídas do estudo. Ime-

diatamente após a centrifugação, todas as amostras foram analisadas, a fim de determinar os valores do tempo zero (*baseline*). Em seguida, o soro e plasma de cada animal foram separados e armazenados em microtubos de 1,5 mL, de modo que as alíquotas foram identificadas e armazenadas nas seguintes condições de tempo e temperatura:

- T0 - Logo após a obtenção do soro/plasma sanguíneo
- T24 - 24 horas após para amostra armazenada à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)
- T48 - 48 horas após para amostra armazenada à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C)
- T4°/24 - 24 horas após para amostra armazenada à 4°C
- T4°/48 - 48 horas após para amostra armazenada à 4°C
- T4°/7 - sete dias após para amostra armazenada à 4°C
- T4°/15 - 15 dias após para amostra armazenada à 4°C
- T4°/30 - 30 dias após para amostra armazenada à 4°C
- T-20°/24 - 24 horas após para amostra armazenada à -20°C
- T-20°/48 - 48 horas após para amostra armazenada à -20°C
- T-20°/7 - sete dias após para amostra armazenada à -20°C
- T-20°/15 - 15 dias após para amostra armazenada à -20°C
- T-20°/30 - 30 dias após para amostra armazenada à -20°C
- T-20°/60 - 60 dias após para amostra armazenada à -20°C
- T-20°/90 - 90 dias após para amostra armazenada à -20°C

As determinações bioquímicas foram efetuadas utilizando-se kits comercialmente disponíveis (Labtest®), de acordo com as recomendações do fabricante, e os métodos de determinação, aqueles preconizados por Kaneko et al. (1997). Os parâmetros analisados e seus respectivos métodos de determinação foram: ureia (método cinético), creatinina (cinético colorimétrico), creatinaquinase (CK) (método cinético), aspartato aminotransferase (AST) (método cinético), fosfatase alcalina (FAL) (método cinético), glicose (enzimático colorimétrico), lactato (enzimático colorimétrico), proteínas totais (PT) (biureto) e albumina (verde de bromocresol-VBC). Ressalte-se

que o plasma foi empregado na determinação da glicose e do lactato, e o soro, na determinação dos demais parâmetros bioquímicos. As análises laboratoriais foram executadas em analisador bioquímico semi-automático (BIOPLUS 200).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa de análise estatística Biostatic. O tempo T0 foi utilizado como controle. As análises de variância para os diferentes tempos em cada grupo foram realizadas relacionando a comparação das médias (Fernandes et al. 2001).

## RESULTADOS

Verificou-se, no presente estudo, que ao longo do tempo de armazenamento ocorreram alterações significativas nas amostras mantidas sob determinadas condições de armazenamento (Tabela 1). Quanto à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), foi observada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) nas concentrações séricas de ureia e creatinina na avaliação de 48 horas (T48). De modo semelhante, foi verificada diferença estatística para a análise da albumina entre a primeira análise (T0) e após 48 horas (T48), a qual apresentou valores drasticamente reduzidos. Os demais parâmetros bioquímicos (CK, AST, FAL, glicose, lactato e PT) mantiveram-se com resultados estáveis por até 48 horas quando mantidos à temperatura ambiente. Sob refrigeração à 4°C, foi observada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) apenas na concentração da albumina, a qual apresentou valores reduzidos nas análises de 15 e 30 dias. Os demais parâmetros bioquímicos (uréia, creatinina, CK, AST, FAL, glicose, lactato e PT) mantiveram-se com resultados estáveis por até 30 dias. Já na avaliação das amostras congeladas a -20°C por até 90 dias verificou-se alterações significativas ( $p < 0,05$ ) nos resultados dos parâmetros AST e albumina. A albumina apresentou instabilidade nos resultados a partir de 15 dias de análise, permanecendo instá-

Tabela 1. Valores médios das dosagens de uréia, creatinina, creatinaquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), glicose, lactato, proteínas totais (PT) e albumina mantidos à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), de refrigeração (4°C) e congelamento (-20°C), nos tempos de 24 e 48 horas, 7, 15, 30, 60 e 90 dias.

Parâmetros	T0	T24	T48	4°/24	4°/48	4°/7	4°/15	4°/30	-20°/24	-20°/48	-20°/7	-20°/15	-20°/30	-20°/60	-20°/90
Ureia (mg/dL)	16 <sup>a</sup>	17,9 <sup>a</sup>	31,5 <sup>b</sup>	18,2 <sup>a</sup>	20,3 <sup>a</sup>	18,2 <sup>a</sup>	21,3 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	15,2 <sup>a</sup>	16,1 <sup>a</sup>	18,8 <sup>a</sup>	20,3 <sup>a</sup>	18,3 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	16,7 <sup>a</sup>
Creatinina (mg/dL)	1,2 <sup>a</sup>	1,74 <sup>a</sup>	0,8 <sup>b</sup>	1,3 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>	1,2 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>	1,2 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>				
CK (U/L)	304,5 <sup>a</sup>	359 <sup>a</sup>	244,9 <sup>a</sup>	402 <sup>a</sup>	358 <sup>a</sup>	330,7 <sup>a</sup>	271,6 <sup>a</sup>	261,9 <sup>a</sup>	336 <sup>a</sup>	311,3 <sup>a</sup>	316 <sup>a</sup>	281,2 <sup>a</sup>	252 <sup>a</sup>	285 <sup>a</sup>	223,1 <sup>a</sup>
FAL (U/L)	250,8 <sup>a</sup>	242,6 <sup>a</sup>	194,5 <sup>a</sup>	247,6 <sup>a</sup>	184,4 <sup>a</sup>	245,1 <sup>a</sup>	244,1 <sup>a</sup>	305,5 <sup>a</sup>	261,7 <sup>a</sup>	261,7 <sup>a</sup>	261,7 <sup>a</sup>	259,3 <sup>a</sup>	275,6 <sup>a</sup>	188,7 <sup>a</sup>	260,4 <sup>a</sup>
AST (U/L)	289,8 <sup>a</sup>	269,6 <sup>a</sup>	314,6 <sup>a</sup>	300,8 <sup>a</sup>	314,8 <sup>a</sup>	306 <sup>a</sup>	323,3 <sup>a</sup>	302,8 <sup>a</sup>	354,5 <sup>a</sup>	309,5 <sup>a</sup>	321,1 <sup>a</sup>	308,1 <sup>a</sup>	290,7 <sup>a</sup>	304,3 <sup>a</sup>	211,6 <sup>b</sup>
Glicose (mg/dL)	84,8 <sup>a</sup>	85,5 <sup>a</sup>	75,7 <sup>a</sup>	92,4 <sup>a</sup>	73,8 <sup>a</sup>	83,1 <sup>a</sup>	80,7 <sup>a</sup>	83,1 <sup>a</sup>	94,1 <sup>a</sup>	71,5 <sup>a</sup>	80,9 <sup>a</sup>	80,3 <sup>a</sup>	79,7 <sup>a</sup>	83,4 <sup>a</sup>	83,3 <sup>a</sup>
Lactato (mmol/l)	13,3 <sup>a</sup>	13,7 <sup>a</sup>	10,7 <sup>a</sup>	12,3 <sup>a</sup>	9,3 <sup>a</sup>	9,1 <sup>a</sup>	8,8 <sup>a</sup>	8,3 <sup>a</sup>	14,1 <sup>a</sup>	9,8 <sup>a</sup>	8,9 <sup>a</sup>	8,4 <sup>a</sup>	8,8 <sup>a</sup>	7,2 <sup>a</sup>	7,5 <sup>a</sup>
PPT (g/dL)	7,3 <sup>a</sup>	6,2 <sup>a</sup>	7,1 <sup>a</sup>	7,1 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	7,8 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	7,3 <sup>a</sup>	7,2 <sup>a</sup>	6,8 <sup>a</sup>	7,7 <sup>a</sup>	7,1 <sup>a</sup>	7,1 <sup>a</sup>	7,9 <sup>a</sup>	6,9 <sup>a</sup>
Albumina (g/dL)	2,8 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	1,5 <sup>b</sup>	2,6 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	2,3 <sup>a</sup>	1,8 <sup>b</sup>	2,1 <sup>b</sup>	3,0 <sup>a</sup>	3,3 <sup>a</sup>	2,5 <sup>a</sup>	1,6 <sup>b</sup>	1,8 <sup>b</sup>	1,8 <sup>b</sup>	2,7 <sup>b</sup>

Médias seguidas pelas mesmas letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Dunnett ( $p > 0,05$ ).

vel até o final do experimento. Quanto à atividade da AST, as avaliações séricas foram estatisticamente diferentes do tempo zero (T0) somente na avaliação de 90 dias. Os demais parâmetros (ureia, creatinina, CK, FAL, glicose, lactato e PT) mantiveram-se com resultados estáveis sob congelamento por 90 dias.

## DISCUSSÃO

Existe atualmente uma lacuna sobre o tempo e temperatura de armazenamento mais apropriado para análise de diversos parâmetros bioquímicos. Informações sobre a estabilidade de analitos durante o armazenamento do soro ou plasma são geralmente incompletas e contraditórias (Marjani 2006), especialmente em equinos. Ademais, erros na fase pré-analítica podem comprometer resultados laboratoriais, devendo ser minimizados sempre que possível. No presente estudo foi investigado, em nove parâmetros bioquímicos, o efeito do armazenamento à temperatura ambiente (16,6 a 29,6°C), sob refrigeração (4°C) e congelamento (-20°C), nos tempos de 24 e 48 horas, sete, 15, 30, 60 e 90 dias. Os resultados demonstraram que dentre os parâmetros avaliados ureia, creatinina, albumina e AST sofreram influência do tempo e temperatura de armazenamento.

A ureia apresentou alteração significativa apenas na avaliação de 48 horas à temperatura ambiente (T48), ou seja, as amostras séricas podem ser analisadas até 24 horas à temperatura ambiente ou por 30 e 90 dias quando mantidas às temperaturas de 4°C e -20°C, respectivamente. Resultados semelhantes foram reportados por Fernandes et al. (2001) avaliando a estabilidade da ureia no soro e plasma de cães. Ademais, Marjani (2006) e Pahwa (2015) em humanos também verificaram estabilidade por sete e 30 dias às temperaturas de refrigeração e congelamento, respectivamente. De modo semelhante, Oliveira et al. (2011) avaliando o efeito do congelamento e do tempo de armazenamento no soro de cordeiros, também não verificaram alterações nos níveis de ureia, quando mantidos a -20°C por 28 dias. Em bovinos, Doretto (1996) relatou estabilidade do soro mantido entre -5 e -20°C por até 90 dias, o que também foi observado em nosso estudo com equinos. No entanto, Comis (2006) verificou estabilidade nos valores da ureia sérica por 48 horas à temperatura ambiente, fato não observado no presente estudo. Acredita-se que esses valores estáveis sejam devido ao baixo peso molecular e alta permeabilidade da ureia através das membranas celulares, sendo afetada com as al-

terações de temperatura (Gustafsson & Palmquist 1993, Moore & Varga 1996, Butler 1998).

Quanto à creatinina, os resultados também demonstraram estabilidade à temperatura de refrigeração por 30 dias e de congelamento por 90 dias, havendo alteração em seus níveis apenas na análise de 48 horas à temperatura ambiente (T48). Resultados semelhantes foram reportados por Comis (2006) em equinos da raça Mangalarga Marchador, que atribuiu essa estabilidade à conformação e baixo peso molecular da creatinina. Fernandes et al. (2001) em cães, também observou estabilidade da creatinina em amostras séricas mantidas à temperatura ambiente ou refrigerada por até 24 horas. No entanto, diferente do observado no presente estudo, Doretto (1996) em bovinos e Ahsan et al. (1995) em camelos, relataram maior estabilidade da creatinina à temperatura ambiente, 30 e 6 dias à 25°C, respectivamente.

A creatinaquinase (CK) é considerada uma enzima órgão-específica para avaliação clínica das enfermidades musculares dos animais domésticos. No presente estudo, a atividade da CK permaneceu estável durante todo o período experimental em todas as temperaturas de armazenamento, corroborando com os achados de Comis (2006) em equinos e Aktas et al. (1994) em cães. Ehsani et al. (2008), em estudo avaliando parâmetros bioquímicos no soro de bovinos, verificaram estabilidade da atividade sérica de CK à temperatura ambiente por apenas 12 horas, no entanto, os autores realizaram as análises em amostras cuja separação do soro ocorreu tardiamente, o que possivelmente explica a instabilidade observada.

A atividade sérica da enzima AST apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas na determinação de 90 dias sob temperatura de armazenamento de -20°C (T-20°/90), mantendo-se estáveis nas demais condições experimentais do presente estudo. A estabilidade da AST à temperatura ambiente também foi reportada por Comis (2006) e Framstad et al. (1989) em equinos e suínos, respectivamente. Já sob temperatura de refrigeração, os resultados demonstraram estabilidade por 30 dias, diferente do observado por Comis (2006) que relatou diminuição da atividade sérica de AST com 15 e 30 dias de armazenamento. Quando da temperatura de armazenamento sob congelamento a -20°C, resultados semelhantes foram reportados por Oliveira et al. (2011) no soro de cordeiros em que a AST foi estável por 28 dias. Comis (2006) observou estabilidade por mais tempo, sendo de 180 dias a -20°C, diferente do presente estudo onde foi verifi-

cada uma redução na atividade sérica de AST aos 90 dias. González e Silva (2003) relataram que a temperatura de armazenamento pode causar instabilidade deste analito por comprometer a atividade da enzima, já que a mesma possui meia vida em torno de 18 horas à temperatura ambiente.

A enzima FAL apresentou-se estável durante todo o período experimental, corroborando com os achados de Doretto (1996) em bovinos. Por outro lado, Comis (2006) reportou instabilidade da FAL à temperatura ambiente após 48 horas e sob congelamento aos 90 dias em equinos da raça Mangalarga Marchador. Essas divergências possivelmente estão associadas a diferenças na metodologia de análise empregada nos estudos.

Quanto à determinação da glicemia, verificou-se que a glicose manteve-se estável à temperatura ambiente e sob temperatura de refrigeração e congelamento em todos os tempos de avaliação. Resultados semelhantes foram reportados por Comis (2006) em equinos, Morris et al. (2002) em ovinos e Spinelli et al. (2012) em ratos Wistar. No entanto, Marjani (2006) e Pahma et al. (2015) em humanos, verificaram redução significativa na concentração de glicose à temperatura ambiente e sob congelamento após 48 horas e 24 horas, respectivamente, o que pode estar associado a uma sensibilidade da glicose à temperatura maior na espécie humana ou mesmo diferenças na metodologia de análise.

A dosagem do lactato plasmático em equinos é de grande importância, particularmente para avaliar o desempenho atlético destes animais. No presente estudo, não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) nos diferentes tempos e temperaturas de armazenamento. Quando à temperatura ambiente, Comis (2006) observou estabilidade do lactato por 24 horas em amostras de equinos, havendo, entretanto, diminuição após 48 horas de armazenamento, possivelmente ocasionada por alteração na molécula do lactato, decorrente do processo de conservação. Christopher e O'Neill (2000) ao avaliarem o lactato de gatos em plasma armazenado durante oito horas à temperatura ambiente, também não observaram alterações significativas. As amostras mantidas sob refrigeração (4°C) e congeladas (-20°C) apresentaram-se estáveis por 30 dias e 90 dias, respectivamente, corroborando com resultados de Comis (2006). Hendrix (2005) ressalta que amostras plasmáticas obtidas com o anticoagulante fluoreto-oxalato são estáveis por aproximadamente 30 dias a 4°C.

Com relação às concentrações de PT, mantiveram-se estáveis ao longo de todo o período experi-

mental, não havendo alterações significativas ( $p > 0,05$ ), independentemente do tempo ou temperatura de armazenamento. Comis (2006) em equinos também observou estabilidade da PT à temperatura ambiente por 48 horas e sob refrigeração (4°C) por 30 dias. No entanto, sob temperatura de congelamento (-20°C) o autor verificou alterações significativas nas concentrações de PT, apesar das médias manterem-se dentro dos valores de referência reportados por Kaneko et al. (1997). Oliveira et al. (2011) em cordeiros também observou instabilidade da PT em amostras congeladas, mas de modo semelhante os valores se mantiveram dentro da normalidade. Thoresen et al. (1995) relataram que quando a coleta, a centrifugação e a manipulação das amostras são realizadas de maneira adequada, as concentrações das proteínas totais não são afetadas pela armazenagem por até 240 dias, a -20°C ou de -70°C, corroborando com os resultados do presente estudo. Ademais, Doretto (1996) em bovinos verificou estabilidade da PT a -20°C por 15 dias.

A albumina foi o parâmetro que mais apresentou alterações, havendo reduções significativas ( $p < 0,05$ ) em suas concentrações quando armazenada sob as diversas temperaturas. À temperatura ambiente foi estável por apenas 24 horas (T24), e quando refrigerada, por sete dias (T4°C/7), corroborando com resultados de Comis (1996) em equinos Mangalarga Marchador. Por sua vez, Doretto (1996) ao avaliar a albumina no soro bovino armazenado à temperatura ambiente (25°C) e sob refrigeração (5°C) encontrou estabilidade por 90 dias. No presente estudo, a albumina apresentou instabilidade nos resultados a partir do 15º dia quando armazenada sob congelamento a -20°C, o que pode ser atribuído à sua desnaturação não proteolítica. Giorgetti et al. (1989) também verificou diminuição significativa nas concentrações de albumina sérica de bovinos aos 30 e 60 dias de armazenagem a -20°C.

Os resultados do presente estudo demonstram que a maioria dos analitos bioquímicos apresentam poucas alterações quando submetidos a diversos tempos e temperatura de armazenamento. Verificou-se que à temperatura ambiente ureia, creatinina, CK, AST, FAL, glicose, lactato, PT e albumina são estáveis por 24 horas. Já à temperatura de refrigeração (4°C) todos os parâmetros avaliados são estáveis por 30 dias, exceto a albumina que deve ser analisada dentro de sete dias. De modo semelhante, quando congeladas a -20°C torna-se viável avaliar as amostras em até 90 dias, com exceção de AST e albumina que apresentaram instabilidade

aos 90 e 15 dias, respectivamente. Esses conhecimentos são fundamentais na rotina clínica e para o planejamento de estudos epidemiológicos, já que muitas vezes não é possível realizar a avaliação bioquímica em um curto espaço de tempo. Por outro lado, permite ao médico veterinário, maior autonomia e adequação à sua realidade no envio das amostras ao laboratório clínico.

## REFERÊNCIAS

- Ahsan S., Afzal M. & Akhtar S. Effect of storage on some constituents of camel serum. *Australian Veterinary Journal*, 72:212-215, 1995.
- Butler W. R. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81:2533-2539, 1998.
- Christopher M. M. & O'Neill S. Effect of specimen collection and storage blood glucose and lactate concentrations in healthy, hyperthyroid and diabetic cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 29:22-28, 2000.
- Comis M. B. Influência do tempo e temperatura sobre a estabilidade do soro e plasma sanguíneos de equinos Mangalarga marchador. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006. (Capturado em: <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/4961?show=full>)
- Cray C., Rodriguez M., Zaias J., Altaian N. H. 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, 2009.
- Doretto J.S. Influência do tempo e da temperatura de estocagem sobre a estabilidade de alguns constituintes do soro sanguíneo de bovinos. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias Veterinárias da UNESP, Jaboticabal, 1996. (Capturado em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/>)
- Ehsani A., Afshari A., Bahadori H., Mohri M. & Seifi H.A. Serum constituent analyses in dairy cows: effects of duration and temperature of the storage of clotted blood. *Veterinary Science*, 85:473-475, 2008.
- Fernandes S. T., Teixeira M.N. & Santos E.S. Influência da temperatura e do tempo de armazenamento nas dosagens bioquímicas de uréia e creatinina em soro ou plasma caninos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 53:648-651, 2001.
- Framstad T., Havre G. N. & Morberg H. Effekt av lagring, separering og heparin p<sup>o</sup>a klinisk-kjemiske analyseresultater av griseblod. *Norsk Veterinaertidsskrift*, 101:237-243, 1989.
- Giorgetti A., Lupi P., Martini A. & Lagorio O. Variability of results of metabolic profile analysis. I. First findings [for cattle and sheep] of the influence of the plasma storage method. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 10:49-51, 1989.
- González F. H. D. & Silva S. C. *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. 1<sup>a</sup> ed. UFRGS, Porto Alegre, 2003. 198p.
- Gustafsson A. H. & Palmquist D. L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. *Journal of Dairy Science*, 76:475-484, 1993.
- Hedrix C. M. *Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários*. 4<sup>a</sup> ed., Roca, São Paulo, 2005. 556p.
- Kaneko J.J., Harvey J. W. & Bruss M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed., Academic Press, 1997. 932p.
- Kouri T., Siloaho M., Pohjavaara S., Koskinen P., Malminiemi O., Pohja-Nylander P. & Puukka R. Pre-analytical factors and measurement uncertainty. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 65:463-75, 2005.
- Marjan A. Effect Of Storage Time And Temperature On Some Serum Analytes. *The Internet Journal of Laboratory Medicine*, 2(2), 2006.
- Morre D.A. & Varga G. BUN and MUN: urea nitrogen testing in dairy cattle. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 18:712-721, 1996.
- Morris J.D., Fernandez J.M., Chapa A.M., Gentry L.R., Thorn K.E. & Weick T.M. Effects of sample handling, processing, storage, and hemolysis on measurements of key energy metabolites in ovine blood. *Small Ruminant Research*, 43:157-166, 2002.
- Oliveira F.S., Falbo M. K., Sandini I.E. & Ishiy L.E. Efeito do congelamento e do tempo de armazenamento do soro sanguíneo de cordeiros na determinação de parâmetros bioquímicos. *Semina: Ciências Agrárias*, 32:717-722, 2011.
- Pahwa M. B., Menaka K., Minakshi, Manish R. & Singh V. Effect of storage time and temperature on serum clinical biochemistry analytes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 9:150-156, 2015.
- Sartor F. I., Jacobson R. G. S., Kohayagawa A., Machado M. A. & Curi P. S. Determinações bioquímicas de fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase, alamina aminotransferase, proteínas totais, albumina e bilirrubina total e direta no soro de equinos da raça quarto de milha. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 37:229-239, 1985.
- Spinelli M. O., Cruz R.J., Godoy C.M.S.C & Motta M.C. Efeito da temperatura e tempo no armazenamento de metabólitos no plasma de ratos Wistar recém desmamados. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, 1:317-321, 2012.
- Stockham S.L. & Scott M.A. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Blackwell Publishing, 2012, p.610.
- Thoresen S. I., Tverdal A., Havre G. & Morberg H. Effects of storage time and freezing temperature on clinical chemical parameters from canine serum and heparinized plasma. *Veterinary Clinical Pathology*, 24:129-133, 1995.
- Tothova C., Nagy O., Seidel H. & Kovac G. The effect of storage temperature and time on the concentrations of bovine serum amyloid A and its mammary associated isoform. *Veterinary Medicine International*, 2012:6, 2012.
- Zhang D. J., Elswick R. K., Miller W. G. & Bailey J. L. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clinical Chemistry*, 44:1325-1333, 1998.