

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTABILIDADE DE CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS FRENTE
A DIFERENTES TEMPERATURAS E PERÍODOS DE
ESTOCAGEM, EM AMOSTRAS DE SORO DE CÃES HÍGIDOS**

Paula Nunes Rosato

Orientador: Prof. Dr. Aureo Evangelista Santana

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária).

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Fevereiro de 2007

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Paula Nunes Rosato - nascida em São Paulo, aos doze dias do mês de novembro de 1981, concluiu o curso colegial no Escola Estadual de Segundo Grau “Professor Primo Ferreira”, na cidade de Santos – SP, em dezembro de 1998; ingressou no curso de Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Câmpus de Jaboticabal da Universidade Estadual Paulista – UNESP, em fevereiro de 2000; obteve bolsa de iniciação científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, junto ao Departamento de Morfologia, em fevereiro de 2002; obteve bolsa de iniciação científica da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesp, junto ao Departamento de Clínica e Cirurgia, em agosto de 2003 ; concluiu, em janeiro de 2005, o curso superior em Medicina Veterinária; ingressou, em março de 2005, no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, em nível de Mestrado, Área de concentração em Clínica Médica Veterinária, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, com bolsa de Mestrado do Programa Capes; foi aprovada para o programa de doutoramento da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, iniciando suas atividades em março de 2007.

"Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar... As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito."

Francisco Candido Xavier

Agradeço e Dedico

*“Aos mesu pais Roseli e Ulisses que sempre estiveram ao meu lado
confiando e apoiando as minhas decisões, sendo sempre um exemplo de
perseverança e postura diante das dificuldades que junto enfretamos e
ultrapassamos”*

Agradeço

Ao meu irmão Laerte, que torce e acredita em mim, sendo um amigo para todos os momentos da minha vida

A minha avó Oraide pelo exemplo de vida, postura e moral. Vó, te amo Muito.

Aos meus familiares Renata, Flavia, Penha, Ronaldo e Gilda, valeu sempre a torcida

Aos amigos Vitor, Andréia, Suzane e Alexandre que acompanharam de perto a luta...valeu a força e a confiança

Ao Orientador Aureo Evangelista Santana por ter confiado em meu trabalho e disponibilizado sua atenção para contribuir com o meu crescimento intelectual e moral

Aos membros que compõem a banca examinadora que contribuíram de forma relevante à conclusão deste trabalho

A Faculdade de Ciências Agrária e Veterinárias da FCAV-UNESP Jaboticabal que me acolheu desde a fase da graduação

Ao Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, ao Laboratório de Patologia Clínica, e ao laboratório de Nutrição, bem como aos seus respectivos funcionários, por disponibilizarem espaço para realização deste projeto

Ao Professor Aulus pela confiança e disponibilização dos os animais utilizados no experimento.

Aos funcionários Eugênio, Mateus e Aluísio que estiveram sempre ao meu lado principalmente durante a fase experimental

A Pós-Graduação da FCAV- UNESP Jaboticabal por propiciar a realização deste mestrado

Ao amigo e colega profissional Marcio Bruneto. Obrigada Marcio pela força nas longas manhãs de terça-feira, será impossível esquecer a sujeira, os latido e acima de tudo as boas risadas

As amigas Flávia, Patrícia e Malu também pós-graduandas do Laboratório de Patologia Clínica que me acolheram e me ajudaram

A amiga Márcia, que posso definir como a melhor vizinha do mundo. Má, você sempre estará perto de mim

A amiga, irmã, e mãe Fernanda pelo apoio técnico, profissional, intelectual, moral e espiritual desde os anos da iniciação científica. Deus sabe o porque você entrou na minha vida e eu agradeço todos os dias por poder compartilhar momentos decisivos com você!

Enfim, ao amigo e companheiro Hector pelo amor incondicional, pela paciência nos momentos não tão agradáveis e principalmente naqueles em que estive ausente, pela confiança, carinho e amor que você me deu em mais esta etapa. Você sabe a importância que tem na minha vida, Te amo muito!!!

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Análise bioquímica do soro.....	2
2.1.1 Sódio.....	2
2.1.2 Potássio.....	3
2.1.3 Cálcio total.....	4
2.1.4 Fósforo.....	5
2.1.5 Proteína total e albumina.....	6
2.1.6 Creatinina.....	7
2.1.7 Uréia.....	8
2.1.8 Colesterol.....	9
2.1.9 Triglicérides.....	10
2.1.10 Fosfatase alcalina.....	10
2.1.11 Alanina aminotransferase.....	11
2.1.12 Aspartato aminotransferase.....	12
2.1.13 Gama glutamiltransferase.....	13
2.1.14 Creatina quinase.....	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
3.1 Animais.....	15
3.2 Colheita do sangue e obtenção do soro.....	15
3.3 Grupos Experimentais.....	16
3.4 Análises Laboratoriais.....	16
3.5 Análise Estatística.....	17
4. RESULTADOS.....	18
4.1 Sódio.....	19
4.2 Potássio.....	20
4.3 Cálcio total.....	21
4.4 Fósforo.....	22
4.5 Proteína total.....	23
4.6 Albumina.....	24
4.7 Creatinina.....	25

4.8 Uréia.....	26
4.9 Colesterol.....	27
4.10 Triglicérides.....	28
4.11 Fosfatase alcalina.....	29
4.12 Alanina aminotransferase.....	30
4.13 Aspartato aminotransferase.....	31
4.14 Gama glutamiltransferase.....	32
4.15 Creatina quinase.....	33
5. DISCUSSÃO.....	34
5.1 Sódio.....	34
5.2 Potássio.....	34
5.3 Cálcio total.....	35
5.4 Fósforo.....	35
5.5 Proteína total.....	36
5.6 Albumina.....	36
5.7 Creatinina.....	36
5.8 Uréia.....	37
5.9 Colesterol.....	37
5.10 Triglicérides.....	38
5.11 Fosfatase alcalina.....	38
5.12 Alanina aminotransferase.....	38
5.13 Aspartato aminotransferase.....	39
5.14 Gama glutamiltransferase.....	39
5.15 Creatina quinase.....	40
6. CONCLUSÕES.....	41
7. REFERÊNCIAS.....	43
8. APÊNDICE.....	49

LISTA DE APÊNDICE

Página

Apêndice 1. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de sódio dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	50
Apêndice 2. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de potássio dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	50
Apêndice 3. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de cálcio total dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	51
Apêndice 4. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de fósforo dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	51
Apêndice 5. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de proteínas totais dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	52
Apêndice 6. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de albumina dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	52
Apêndice 7. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de creatinina dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	53

Apêndice 8. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de uréia dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	53
Apêndice 9. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica de colesterol dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	54
Apêndice 10. Valores médios e respectivos desvios-padrão da concentração sérica triglicérides dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	54
Apêndice 11. Valores médios e respectivos desvios-padrão da atividade sérica de fosfatase alcalina dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	55
Apêndice 12. Valores médios e respectivos desvios-padrão da atividade sérica de alanina aminotransferase dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	55
Apêndice 13. Valores médios e respectivos desvios-padrão da atividade sérica de aspartato aminotransferase dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	56
Apêndice 14. Valores médios e respectivos desvios-padrão da atividade sérica de gama glutamiltransferase dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	56
Apêndice 15. Valores médios e respectivos desvios-padrão da atividade sérica de creatina quinase dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	57

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de sódio dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	19
Figura 2. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de potássio dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	20
Figura 3. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de cálcio total dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	21
Figura 4. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de fósforo dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	22
Figura 5. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de proteínas totais dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	23
Figura 6. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de albumina dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	24
Figura 7. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de creatinina dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	25

Figura 8. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de uréia dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	26
Figura 9. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de colesterol dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	27
Figura 10. Variações dos valores médios obtidos para a concentração sérica de triglicérides dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	28
Figura 11. Variações dos valores médios obtidos para a atividade sérica de fosfatase alcalina dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	29
Figura 12. Variações dos valores médios obtidos para a atividade sérica de alanina aminotransferase dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	30
Figura 13. Variações dos valores médios obtidos para a atividade sérica de aspartato aminotransferase dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	31
Figura 14. Variações dos valores médios obtidos para a atividade sérica de gama glutamilttransferase dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	32
Figura 15. Variações dos valores médios obtidos para a atividade sérica de creatina quinase dos cães do grupo G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.....	33

RESUMO

Os exames laboratoriais são reconhecidos como importantes meios de auxílio diagnóstico na prática médico-veterinária, especialmente no esclarecimento de diversas enfermidades que acometem animais de companhia, particularmente cães. Dentre tais exames, destacam-se os bioquímico-séricos, não só pela sua utilidade clínica, como também pela praticidade de realização e por estarem incorporados à rotina dos laboratórios de análises clínicas veterinárias. Diante da importância e da grande demanda por provas bioquímico-séricas, na rotina da clínica de pequenos animais, além da falta de estudos em relação à viabilidade dos constituintes séricos, quando se faz imperiosa a necessidade de estoque do soro sanguíneo sob diferentes condições, planejou-se o presente projeto de pesquisa com o escopo de se verificar a estabilidade de alguns metabolitos séricos frente a diferentes temperaturas e períodos de estoque. Para tanto, foram analisadas amostras de soro sanguíneo de 10 cães saudáveis, as quais foram submetidas à análise de sódio, potássio, cálcio total, fósforo, colesterol, triglicérides, proteína total, albumina, creatinina, uréia e a atividade das enzimas aspartato aminotransferase, alanino aminotransferase, fosfatase alcalina, gama-glutamilttransferase e creatina quinase, estocadas em diferentes temperaturas (25°C, 4°C, -4°C, -20°C e -70°C) e analisadas em diferentes períodos (logo após a colheita, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 7 dias, 15 dias, 30 dias, 60 dias e 90 dias após a colheita). Dentre os resultados obtidos, foi possível observar, principalmente, que a temperatura de congelamento de -20°C propiciou uma maior estabilidade dos parâmetros estudados sendo quinze destes, estáveis durante todo o protocolo experimental.

Palavras-chave: Bioquímicos, estocagem, soro, cães.

ABSTRACT

The laboratory tests are known as important diagnostic tools in veterinary medicine, regarding the diagnosis of many diseases, specially in dogs. Among all these tests, the biochemical ones can be brought out, not only for their clinical importance, but also for their easy performance and because they are inserted as ordinary tests in the veterinary laboratories. Due to the lack of information as for the viability of blood components in dogs, and the need of blood storage under different conditions, the aim of this study was to check out the stability of some blood components under different temperatures and storage periods. Therefore, the blood samples of 10 healthy dogs were evaluated regarding sodium, potassium, calcium, phosphorus, cholesterol, tryglicerides, total protein, albumine, creatinine, urea and enzyme activities of asparatate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, gama glutamyl transferase and creatine quinase stored under different temperature (25°C, 4°C, -4°C, -20°C e -70°C) and assessed in different intervals (just after collection, 12 hours, 24 hours, 36 hours, 7 days, 15 days, 30 days, 60 days and 90 days after collection). Among all the results, it was inferred that the freezing temperature (-20°C) provided the best stability of the evaluated parameters, and 15 out of them showed to be stable during the whole protocol.

Key-words: Biochemistry, storage, serum, dogs.

1.INTRODUÇÃO

A correta interpretação das análises bioquímico-sélicas depende de uma série de fatores críticos, sendo a estabilidade dos parâmetros analisados de extrema importância (FONTAINE et al., 1987; SZENCI et al., 1991; THORENSEN, 1995). A concentração sélica de muitos constituintes sanguíneos pode mudar com maior ou menor rapidez durante o armazenamento, particularmente se as amostras são mantidas à temperatura ambiente ou temperaturas elevadas. É prática comum a estocagem de amostras biológicas, especialmente do soro sanguíneo, para a realização posterior de exames bioquímico-sélicos, ou ainda para a obtenção de dados clínico-laboratoriais complementares. Em tais situações, corre-se o risco de obtenção de resultados não confiáveis ou até a perda de amostras em decorrência de conservação inadequada, como asseverado por Doreto (1996). O mesmo risco ocorre com amostras colhidas na rotina da clínica de pequenos animais, visto que os intervalos entre a colheita do material, a chegada do mesmo ao laboratório e o momento da análise podem interferir nos resultados obtidos dependendo da maneira como a amostra foi manipulada. Mesmo considerando a importância do envase e conservação adequados de amostras biológicas, a investigação bibliográfica, que fundamentou a proposta de trabalho em tela, revelou poucos trabalhos relacionados à viabilidade de constituintes bioquímicos, em soro sangüíneo armazenado de cães.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANÁLISE BIOQUÍMICA DO SORO SANGUÍNEO

2.1.1 Sódio

O sódio é um eletrólito encontrado predominantemente no líquido extracelular (LEC), e sua concentração normal no soro varia de 140 a 155 mEq/L (MEYER, 1995; CARLSON, 1997). O sódio plasmático é filtrado pelo glomérulo e reabsorvido em grande parte pelos túbulos renais proximais e distais principalmente por meio da ação da aldosterona nos túbulos distais, a qual promove a retenção do sódio e a excreção do potássio. Segundo Aitken (1976), raramente a depleção de sódio sérico é resultado da deficiência do mesmo na dieta, mas mais comumente resultando da excessiva perda de fluidos, como é o caso dos distúrbios gastrointestinais, com ocorrência de vômito e diarreia (FISHER, 1976, LAKRITZ, 1992). Outros autores ainda ressaltam que situações tais como doença intersticial renal, queimaduras extensas e a terapia com diuréticos, também podem culminar em grandes perdas deste íon (ROSE, 1984; MEYER, 1995; CARLSON, 1997). Em contrapartida, a hipernatremia pode ocorrer juntamente com insuficiência cardíaca congestiva e doenças hepáticas crônicas as quais levam à falência na

manutenção efetiva do volume circulante e retenção compensatória de sódio pelos rins (CARLSON, 1997). Sendo assim, a verificação da concentração de sódio sérico torna-se importante, nas enfermidades acima citadas, para que haja um controle da homeostase do referido mineral no organismo do paciente (MEYER, 1995).

Em soro humano, Wilson (1972) não observou alterações na concentração de sódio em amostras mantidas a 37°C, 25°C e 10°C por 42 dias. Em outro estudo, Ono et al. (1981) relataram que a concentração deste eletrólito se manteve estável por apenas seis horas quando a temperatura de estocagem era de 23°C a 30°C e oito horas sob 4°C. Trabalhando com o armazenamento a 20°C, Thorensen (1992) encontrou alterações significativas nas concentrações de sódio de amostras plasmáticas caninas após um dia de armazenamento e no soro em dois dias de estocagem. Já, sob congelamento a -20°C e -70°C, Thorensen (1995) verificou, em amostras de soro de cão, a estabilidade deste mesmo eletrólito por 240 dias de armazenamento.

2.1.2 Potássio

O potássio é um íon localizado na sua grande maioria no líquido intracelular (LIC) devido à ação das bombas de sódio/potássio existentes na membrana das células (TANEM, 1984; CARLSON, 1997). Alterações na concentração de potássio alteram o potencial de membrana das células e, em geral, a hipocalemia aumenta este potencial e a hipercalemia o diminui causando hiperexcitabilidade (CARLSON, 1997). A homeostase deste íon envolve o balanço interno e externo, que compreendem a distribuição do potássio entre o LIC e o LEC, sendo este o resultado entre ingestão e perdas (ROSE, 1984; BROBST, 1986). Os valores normais da concentração sérica de potássio estão entre 4,2 e 5,7 mEq/L (MEYER, 1995).

O potássio assume um papel importante na manutenção da excitabilidade neuromuscular cardíaca e assim sendo, a manutenção da concentração deste íon dentro dos valores de normalidade torna-se de extrema importância, como explica Carlson (1997). A hipocalemia pode ocorrer durante o curso de diversas enfermidades que culminam na perda excessiva deste íon,

como nos distúrbios gastrointestinais com de vômito e diarreia, na insuficiência renal crônica e também após a utilização de medicamentos como a insulina e alguns diuréticos (MEYER, 1995). A hipercalemia, por sua vez, ocorre em pacientes que apresentam doenças que levam à diminuição da excreção urinária de potássio, exemplificada pelos processos obstrutivos do trato urinário e o hipoadrenocorticism (FETTMAN, 2001).

Ono et al. (1981) e Goodman (1984), em amostras séricas humanas refrigeradas a 4°C, relataram instabilidade na concentração do potássio a partir de seis horas de estocagem e após oito horas de armazenamento, e observaram que esta alteração revelou-se clinicamente significativa. Porém, Wilson (1972) não constatou alteração significativa em amostras mantidas a 37°C, 23°C a 27°C, 4°C e -10°C por 42 dias. Thorensen (1992) encontrou alterações em amostras de sangue total canino armazenadas por 20°C a partir de um dia, fato que ocorreu provavelmente pelo extravasamento de potássio contido nos leucócitos e eritrócitos, já que as amostras de soro e plasma não sofreram alterações na concentração de potássio durante o período experimental. Thorensen (1995) submeteu amostras de soro e plasma de cão ao armazenamento a -20°C e -70°C por 90 e 240 dias e não observou a instabilidade na concentração de potássio.

2.1.3 Cálcio total

O cálcio é um mineral que possui um papel central na manutenção da homeostase dos vertebrados. Dentre suas diversas funções estão a contração muscular, coagulação sanguínea, cofator enzimático, excitabilidade neural, secreção hormonal, adesão celular, além de participar da estrutura do esqueleto (CAPEN, 1993). O cálcio está presente no organismo sob três formas, ou seja, ionizada, complexada a ânions e ligada à proteínas. O cálcio complexado é dependente do pH e o iônico é a forma biologicamente ativa e disponível no organismo. Em cães, a concentração de cálcio sérico total está compreendida entre 9,4 e 12mg/dL (ROSOL; CAPEN, 1997).

Algumas enfermidades podem levar a hipercalemia como é o caso do hiperparatireoidismo primário e secundário renal, hipervitaminose D, que resulta

na absorção intestinal excessiva deste mineral e as lesões osteolíticas que culminam com a reabsorção de cálcio ósseo (ROSOL & CAPEN, 1997). Por outro lado, a hipocalcemia pode ocorrer em decorrência do hipoparatiroidismo, hipovitaminose D, eclâmpsia e mal-absorção intestinal (GRECO, 2001).

Wilson (1972) relata que, em amostras séricas humanas a -10°C , -4°C e 27°C , foi possível verificar a estabilidade da concentração sérica de cálcio total por 28, 12 e 2 dias, respectivamente. Outros autores, ao submeterem amostras de soro de cão a -70°C , -20°C por 240 dias e 20°C por 3 dias, observaram instabilidade deste parâmetro em todo o período experimental (THORENSEN, 1992; THORENSEN, 1995).

2.1.4 Fósforo

O fósforo é o maior ânion intracelular, que participa de vários processos metabólicos, apresentando-se no organismo de duas formas, orgânico e inorgânico (DENIS, 1996). Como no caso de outros minerais, é a fração de fósforo inorgânico que é mensurado rotineiramente, como relatado por Kaneko (1997). Em animais monogástricos e saudáveis os rins são os maiores reguladores do fósforo sérico, sendo que a sua concentração também é influenciada pela idade, sendo que animais em crescimento têm uma concentração sérica mais elevada desse elemento (YANAGAWA, 1992). Em cães adultos, os valores normais do fósforo sérico vão de 2,6 a 6,2 mg/dL (ROSOL; CAPEN, 1997).

A hiperfosfatemia é uma condição que ocorre no decurso de algumas enfermidades como é o caso de doenças renais, sendo que nestas últimas, resulta da redução da filtração glomerular precedida pela azotemia, hipervitaminose D e hipoparatiroidismo. No caso da hipofosfatemia, podem estar relacionados o hiperparatiroidismo primário, hipovitaminose D, malabsorção intestinal, inanição e, ainda, a administração de insulina, como ressaltado por Meyer (1995) e Rosol; Capen (1997).

Ono et al.(1981) verificaram, em amostras de soro humano estocadas a 23°C e 4°C, estabilidade das concentrações de fósforo até 24 e 48 horas de armazenamento, respectivamente. Em temperaturas superiores a 22°C Rehak (1988), também em soro humano, verificou um aumento de 14% no valor obtido inicialmente para cada grau centígrado de temperatura acima de 22°C. Thorensen (1992), trabalhando com amostras séricas caninas, não observou alterações significativas do fósforo até três dias de armazenamento a 20°C, contudo Thorensen (1995), ao submeter amostras de soro de cão ao congelamento a -20°C e -70°C, verificou estabilidade do fósforo sérico após 90 dias de estocagem.

2.1.5 Proteína Total e Albumina

De acordo com Kaneko (1997), o principal sítio de síntese de proteínas plasmáticas é o fígado seguido pelo sistema imunológico. Suas funções são inúmeras, tais como a manutenção da pressão oncótica, catálise de reações bioquímicas, manutenção do equilíbrio ácido-básico, coagulação sanguínea, nutrição e defesa do organismo. A proteína sérica total compreende as α , β e γ -globulinas e a albumina. A albumina, por sua vez, é produzida exclusivamente pelo fígado e é a proteína sérica mais abundante, constituindo cerca de 35 a 50% da proteína sérica total nos animais domésticos (KANEKO, 1997).

A hiperproteinemia pode ser resultado da desidratação e, nesta situação, todas as frações encontram-se proporcionalmente aumentadas, incluindo a albumina. As gamopatias também podem causar hiperproteinemia como relatam Meyer (1995) e Kaneko (1997). A hipoproteinemia, por sua vez, está associada à queda da produção, cujas causas podem ser malabsorção intestinal, insuficiência pancreática exócrina, parasitismo e doença hepática crônica com diminuição da produção de albumina, ou ainda, o aumento das perdas protéicas, as quais podem ocorrer na doença renal com proteinúria crônica, lesão cutânea exudativa, hemorragia externa e enteropatia com perda de proteínas (LASSEN, 2001a). Os valores normais de proteína total e

albumina em cães adultos estão situados entre 5,4 a 7,7g /dL e 2,5 a 3,7 g/dL, respectivamente (MEYER, 1995).

Wilson (1972) submeteu amostras de soro humano a conservação sob -10°C , 4°C , 23°C e 37°C e observou que as concentrações de proteína total e albumina se mantiveram estáveis por 26 e 42 dias, respectivamente. Ono et al. (1981) mantiveram amostras séricas humanas a 4°C e 23°C e relataram que os resultados se mantiveram estáveis por seis e oito horas, respectivamente. Thorensen (1992) observou estabilidade da proteína total e albumina por três dias, sob a temperatura de 20°C , e Thorensen (1995) no período de 240 dias às temperaturas de armazenamento de -20°C e -70°C .

2.1.6 Creatinina

A creatinina é formada no organismo a partir da metabolização da creatina em um processo não enzimático e irreversível que ocorre na musculatura esquelética. Este metabólito é excretado pela filtração glomerular e qualquer anormalidade que diminua a velocidade do fluxo urinário resultará na elevação da concentração sérica do referido metabólito (COLES, 1984). Desta forma, a elevada concentração sérica de creatinina pode ser resultado de alterações pré-renais, renais ou pós-renais, exemplificadas por Meyer (1995), tais como a desidratação, doença cardiovascular e choque (pré-renais); doença renal causando lesão de mais de dois-terços dos néfrons (renais); obstrução do trato urinário e ruptura do mesmo (pós- renais).

O valor normal da concentração sérica de creatinina nos cães sadios está compreendido entre 0,5 e 1,5 mg/dL (FINCO, 1997).

Wilson (1972) relatou estabilidade da creatinina em amostras séricas humanas mantidas a -10°C , 23°C e 37°C por 42 dias. Thoresen (1992), trabalhando com amostras séricas e plasmáticas de cães, observou a estabilidade da creatinina quando as amostras foram estocadas a 20°C por 3 dias, assim como Thoresen (1995), analisando amostras séricas e plasmáticas da mesma espécie mantidas sob congelamento a -20°C e -70°C , verificou a estabilidade da creatinina por 240 dias de armazenamento. Em camelos, Ahsam et al. (1995) verificaram que a concentração de creatinina sérica

permaneceu sem alteração significativa por seis e sete dias nas amostras conservadas às temperaturas de 25°C e 5°C, respectivamente. De outra parte, Doreto (1996) submeteu amostras de soro bovino ao armazenamento a -20°C, 5°C e 25°C e verificou que a concentração sérica de creatinina manteve-se estável por 90 dias, quando mantidas sob refrigeração ou congelamento, e por 30 dias em temperatura ambiente. Por outro lado, Fernandes (2001) manteve amostras de soro e plasma de cães sob diferentes temperaturas de armazenamento e observou que a estabilidade da concentração de creatinina não foi observada à temperatura ambiente, no entanto, se manteve estável por 24 horas, sob refrigeração.

2.1.7 Uréia

A uréia é sintetizada no fígado e seu ciclo incorpora duas moléculas de amônia, cuja principal fonte provém do catabolismo protéico (FINCO, 1997). Segundo Meyer (1995), a uréia atravessa o filtro glomerular e cerca de 25 a 40 % da uréia filtrada são reabsorvidos durante a passagem pelos túbulos renais.

A concentração de uréia sérica é alterada com o aumento no consumo de proteína dietética, colapso catabólico ou hemorragias no interior do trato gastrointestinal. Além destas situações, a elevação de uréia sérica pode estar associada às mesmas causas da elevação da concentração de creatinina sérica citadas anteriormente (FETTMAN; REBAR, 2001). A concentração de uréia do soro de um cão normal está compreendida entre 21 e 59 mg/dL e, assim como a creatinina, trata-se de parâmetro utilizado principalmente para a avaliação da função renal. A dosagem deve ser realizada sempre quando houver suspeita de redução da função renal e a avaliação seqüencial utilizada para monitorar a eficácia do tratamento e progressão da doença (COLES, 1984; MEYER, 1995; FINCO, 1997).

Winter (1986) armazenou amostras de soro bovino e observou que sob as temperaturas de 4°C e 20°C, a concentração sérica de uréia manteve-se estável por 72 horas e a -25°C por um ano. Lindner (1991) verificou, em soro de eqüinos, a instabilidade da uréia em amostras séricas armazenadas sob temperatura ambiente ou refrigeração. Thorensen (1992) avaliou, em cães, as

concentrações sérica e plasmática de uréia submetendo as amostras de soro e plasma à temperatura de 20°C por três dias de armazenamento e observou que as concentrações de uréia não sofreram alterações significativas. Já Doreto (1996) relatou a estabilidade da uréia por cinco dias em amostras de soro bovino mantidas a 25°C, e por 90 dias, a 5°C e -20°C. Fernandes (2001), estudando a estabilidade deste mesmo parâmetro em soro e plasma de cão, relatou que a 25°C, no plasma, a uréia se manteve estável por duas horas e, no soro, por 24 horas. A 4°C, no plasma, não houve alteração significativa até 24 horas de estocagem e no soro, até 30 dias. À -20°C a uréia plasmática permaneceu estável dentro das primeiras 72 horas e a sérica durante os 30 dias subseqüentes à amostragem do material.

2.1.8 Colesterol

Segundo Bruss, (1997), o colesterol no organismo é o precursor de hormônios esteróides, vitamina D, ácidos biliares e participa da constituição da membrana celular e micelas da bile. Trata-se de um metabólito obtido junto à dieta que contenha constituintes de origem animal ou pode, ainda, ser sintetizado pelo fígado. Após ser produzido nos hepatócitos, pode ser secretado para o plasma como parte das lipoproteínas, lançado aos canalículos biliares ou ainda esterificado ou degradado a ácido biliar. Os valores normais da concentração de colesterol sérico relatados por Meyer (1995), estão entre 125 a 270 mg/dL.

A hipercolesterolemia pode ocorrer no decurso de algumas enfermidades, é o caso da obstrução biliar extra-hepática, hipotireoidismo e *Diabetes mellitus*. A hipocolesterolemia, por sua vez, poderá estar presente na insuficiência pancreática exócrina, enteropatia com perda protéica, má digestão e mal-absorção intestinal (MEYER, 1995; BRUSS, 1997).

Wilson (1972) estudou amostras de soro humano armazenadas à -10°C e a 4°C e verificou estabilidade na concentração sérica de colesterol por 42 dias. Thorensen (1992) estocou amostras de soro de cão a 20°C por três dias e observou que o colesterol manteve-se estável. Entretanto, Thorensen (1995) manteve amostras séricas caninas sob congelamento a -20°C e -70°C e, em

tais condições, a concentração sérica de colesterol apresentou alteração significativa após 240 dias de armazenamento.

2.1.9 Triglicérides

O triglicérides é o maior lipídeo do tecido adiposo, constituindo forma relevante de estocagem da gordura do organismo. A síntese desta molécula ocorre no intestino delgado durante o processo de digestão e absorção da dieta e também no fígado, tecido adiposo e glândula mamária (LASSEN; FETTMAN, 2001). No tecido adiposo, a síntese desta molécula é estimulada pela presença de insulina e inibida sob a ação do glucagon (BRUSS, 1997).

A elevação da concentração sérica de triglicérides pode ocorrer em algumas enfermidades como é o caso de doenças hepáticas, diabetes mellitus e o hipotireoidismo e a diminuição, por sua vez encontra-se relacionada principalmente às síndromes de má-digestão e má-absorção de animais com insuficiência pancreática acinar ou ainda às doenças intestinais inflamatórias. Os valores de normalidade do triglicérides sérico em cães é de 20 a 112 mg/dL (BRUSS, 1997).

Segundo Ono et al. (1981), a concentração de triglicérides se manteve estável por 48 horas quando amostras de soro humano foram estocadas a 4°C, 24°C e 30°C. Thorensen (1992), por sua vez, armazenou amostras de soro de cães a 20°C e relatou que este mesmo parâmetro manteve-se estável por três dias. Thorensen (1995), submeteu amostras de soro de cães ao congelamento a -20°C e -70°C e observou que nestas temperaturas a concentração de triglicérides não sofreu alteração por 240 dias de estocagem.

2.1.10 Fosfatase Alcalina

A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima encontrada em diversos tecidos como intestino, rins, fígado, útero e ossos. No fígado, a FA está localizada primariamente na membrana dos canalículos biliares do fígado (TENTANT, 1997). A elevação da atividade sérica da FA ocorre em animais em

crescimento, no decurso de doenças ósseas ou enfermidades hepatobiliares (MEYER, 1995). Segundo Kaneko (1997), a elevação marcante da atividade sérica da FA ocorre em animais com processos de colangite, cirrose biliar ou obstrução extra-hepática dos dutos biliares, sendo que, nestes processos colestáticos, a magnitude da elevação da atividade sérica de FA não auxilia na diferenciação da colestase intra e extra-hepática. Os valores normais de FA sérica estão compreendidos entre 20 e 150 U/L.

Juul (1967) armazenou amostras de soro humano à -20°C , 4°C e 22°C e constatou que, por uma semana, a atividade sérica da FA manteve-se estável. Blincoe (1985) submeteu amostras séricas bovinas à estocagem sob 4°C e 20°C e observou que a atividade da FA manteve-se sem alterações significativas por três e seis dias, respectivamente. Jones (1985), por sua vez, ao estocar o mesmo tipo de material, sob as mesmas temperaturas, observou sete dias de estabilidade. Tentant, (1997), descreveu que a atividade sérica da FA é estável no soro armazenado a 25°C e 4°C por 2 a 3 dias e a -25°C por 1 mês de estocagem.

2.1.11 Alanina aminotransferase

Center (1996) indica que a atividade significativa da alanina aminotransferase (ALT) está confinada principalmente ao citoplasma dos hepatócitos e, em cães e gatos, a elevação da atividade sérica desta enzima é indicativa de injúria hepatocelular. De acordo com Tentant (1997), a maior finalidade da mensuração da atividade sérica da ALT é detectar injúria aos hepatócitos e monitorar a progressão da hepatite aguda. Em estágios finais de doença hepática crônica, os valores de ALT podem estar normais ou somente pouco aumentados (LASSEN, 2001b). Os valores da atividade sérica de ALT em cães hígidos estão compreendidos entre 10 e 88 U/L (MEYER, 1995). Já Crawford et al. (1985) referem de 15 a 50 U/L como um intervalo de normalidade para ALT em cães.

Tollersurd (1969) submeteu amostras de soro de várias espécies a estocagem sob temperatura ambiente, refrigeração e congelamento e verificou,

em suínos, a instabilidade da atividade sérica da ALT em todas as condições de armazenamento, e em ovinos, a atividade desta enzima mostrou-se estável sob todas as condições. Jones (1985), trabalhando com amostras de soro sangüíneo de bovinos, armazenadas a 20°C e 4°C, relatou a estabilidade da ALT por dois e três dias, respectivamente. Thorensen (1992) estocou amostras de soro canino a 20°C e não constatou alterações significativas durante três dias de estoque, enquanto que Thorensen (1995) trabalhou com armazenamento de soro canino a -20°C e -70°C e a atividade da ALT manteve-se estável durante o período de 240 dias.

2.1.12 Aspartato aminotransferase

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima com atividade elevada no fígado e que, ao contrário da ALT, está presente em sua maioria na mitocôndria dos hepatócitos, como cita Meyer (1995). Em todas as espécies domésticas, a atividade da AST é elevada no fígado, e como a atividade da ALT, em injúrias hepáticas agudas e crônicas, sua atividade sérica encontra-se elevada. Cardinet (1997), Tentant (1997) e Lassen (2001b) relatam que, principalmente em cães e gatos, a atividade sérica da AST pode encontrar-se elevada também em doenças da musculatura esquelética e cardíaca, e desta forma, a diferenciação da origem desta elevação pode ser realizada pela mensuração da atividade sérica de outras enzimas musculares, como é o caso da creatina-quinase (CK). Os mesmos autores ainda indicam que o aumento concomitante de ALT e AST está presente em várias doenças hepáticas de pequenos animais e tem valor limitado no diagnóstico diferencial das mesmas. Porém, a ALT e a AST são enzimas úteis para diferenciar processos colestáticos de injúrias hepatocelulares, contudo, ambas as formas podem coexistir em casos de hepatopatias graves. As considerações feitas à atividade enzimática da ALT, quanto aos casos de hepatite crônica, também são válidos à atividade da AST. Os valores normais da atividade sérica de AST, em cães saudáveis, estão compreendidos entre 23 e 66 U/L (TENTANT, 1997).

Blincoe (1985) armazenou amostras de soro bovino a 20°C e verificou a estabilidade da atividade da AST por apenas seis horas. Jones (1985) trabalhando com amostras séricas de bovinos, estocadas a 20°C e 4°C, constatou estabilidade da AST por três dias e a -20°C, instabilidade a partir do primeiro dia de armazenamento. Doreto (1996) relatou a estabilidade da atividade da AST em amostras de soro bovino mantidas a 5°C por cinco dias. Thorensen (1992) e Thorensen (1995) descreveram estabilidade da atividade da AST em amostras de soro de cães saudáveis mantidas em temperatura ambiente por 3 dias e sob congelamento, por 240 dias.

2.1.13 Gama glutamiltransferase

A gama-glutamiltransferase (GGT) é uma enzima associada a numerosos tecidos, exceção feita ao tecido ósseo. Além disso, trata-se de enzima que se comporta como um marcador sérico, principalmente de doenças do sistema hepatobiliar associadas à colestase, como indica Braun (1983). Além disso, Tentant (1997) assevera que, nestas condições, sua elevação reflete um aumento na sua produção e liberação pelo tecido hepatobiliar. Os valores da atividade enzimática da GGT em soro de cães adultos sadios estão compreendidos entre 1,2 e 6,4 U/L.

Jones (1985) submeteu amostras plasmáticas e séricas de bovinos ao armazenamento sob as temperaturas de 20°C, 4°C e -20°C verificando que a atividade da GGT no plasma foi estável por 7, 4 e 28 dias e no soro por 3, 2 e 42 dias, respectivamente. Thorensen (1992) estocou soro canino e o submeteu a 20°C relatando a estabilidade da GGT por 3 dias. Thorensen (1995) congelou amostras de soro canino a -20°C e -70°C, as quais, mantiveram-se estáveis com relação a atividade da GGT por 240 dias. Kaneko (1997) relatou a estabilidade da atividade desta mesma enzima a 25°C, 4°C e -25°C por dois dias, uma semana e um mês, respectivamente.

2.1.14 Creatina Quinase

A enzima creatina quinase (CK) tem atividade catalítica que se localiza nas musculaturas esquelética e cardíaca, além do tecido nervoso, e tem como principal função formar o ATP disponível para a contração muscular (LASSEN, 2001c). Sua atividade sérica é a mais utilizada como parâmetro de diagnóstico de enfermidades musculares de animais domésticos, porém, apesar da especificidade desta enzima, na determinação das doenças musculares, ela não é capaz de informar a origem do processo (CARDINET, 1997). Os valores normais da atividade sérica de CK em cães vão de 20 a 200 U/L (MEYER, 1995).

Jones (1985) analisou a estabilidade da CK em soro e plasma bovino a 20°C, 4°C e -20°C e verificou que, em ambos, a estabilidade da CK se manteve por dois, quatro e 42 dias, respectivamente. Thorensen (1992) relatou a estabilidade da atividade da CK em amostras de soro de cães normais conservadas a 20°C por três dias. Thorensen (1995) analisando amostras séricas caninas estocadas a -20°C e -70°C observou estabilidade da CK por 240 dias de armazenamento. Doreto (1996) avaliou amostras de soro bovino a 25°C e -20°C e constatou estabilidade da atividade da CK durante cinco dias.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Para o desenvolvimento do protocolo experimental foram utilizados 10 cães hípidos, adultos, da raça beagle, machos ou fêmeas, obtidos junto ao canil de Nutrição Clínica da FCAV – UNESP- Câmpus de Jaboticabal, e alojados em canis onde receberam água e alimentação *ad libitum*. O bom estado de saúde foi verificado com base nos resultados do exame clínico detalhado, exames hematológicos, bioquímicos-séricos, coproparasitológicos e urinálise de rotina.

3.2 Colheita do sangue e obtenção do soro

Após anti-sepsia local, as amostras de sangue total foram colhidas, por venipunção jugular, com auxílio de agulhas (25 x 8) e seringas de 10 mL, sem anticoagulante. A seguir, o sangue foi transferido para quatro tubos a vácuo de 3mL com retrator de coágulo (Vacutainer BD®) e submetido à centrifugação por cinco minutos, a 2500 rpm, para retração do coágulo. Ato contínuo, o soro sanguíneo obtido foi distribuído em oito alíquotas, as quais foram acondicionadas em frascos estéreis e submetidas a diferentes condições de temperatura e tempo de armazenamento, como explicitado a seguir.

3.3 Grupos Experimentais

Os 10 cães foram utilizados nos cinco grupos experimentais, G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5(-70°C), por meio de colheitas de sangue semanais até o desenvolvimento de todo o protocolo experimental. Assim sendo, para cada colheita, as amostras obtidas de soro foram distribuídas em 9 alíquotas para avaliação em 9 períodos, M1 (logo após a colheita), M2 (12 horas após a colheita), M3 (24 horas após a colheita), M4 (36 horas após a colheita), M5 (sete dias após a colheita), M6 (15 dias após a colheita), M7 (30 dias após a colheita), M8 (60 dias após a colheita) e M9 (90 dias após a colheita) referentes a diferentes períodos de conservação de um mesmo grupo experimental.

Foram mensurados as concentrações séricas de sódio, potássio, cálcio total, fósforo, colesterol, triglicérides, proteína total, albumina, creatinina, uréia e as atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase e creatina quinase, para cada grupo experimental nos diferentes momentos.

3.4 Análises Laboratoriais

As determinações dos níveis séricos de fósforo, cálcio total, colesterol, triglicérides, proteína total, albumina, creatinina, uréia e a atividade das enzimas aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase e creatina quinase foram conduzidas com auxílio de conjuntos de reagentes específicos para cada parâmetro (Labtest), sendo as leituras realizadas em aparelho analisador bioquímico (LABQUEST).

As determinações das concentrações séricas de sódio e potássio foram realizadas com o auxílio de conjunto de reagentes Iselab (Drake) e leituras em seletor de íons Iselab (Drake).

3.5 Análise Estatística

A análise estatística foi conduzida dentro de um delineamento inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas para análise de variância, e a comparação das médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (GOMES, 1987).

4. RESULTADOS

As amostras séricas dos grupos G1(25°C) e G2 (4°C) apresentaram contaminação por fungo após uma semana e um mês de estocagem, respectivamente, inviabilizando desta forma a análise das alíquotas de soro mantidas nestas temperaturas após os períodos supracitados.

Os valores médios obtidos para os diferentes parâmetros bioquímicos-séricos (concentração sérica de sódio, potássio, cálcio total, fósforo, creatinina, uréia, colesterol e a atividade sérica de fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, gama glutamiltransferase e creatina quinase) de todas as parcelas experimentais, estão expressos nos Apêndices de números 1 a 14 e Figuras 1 a 14.

4.1 Sódio

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de sódio, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 1.

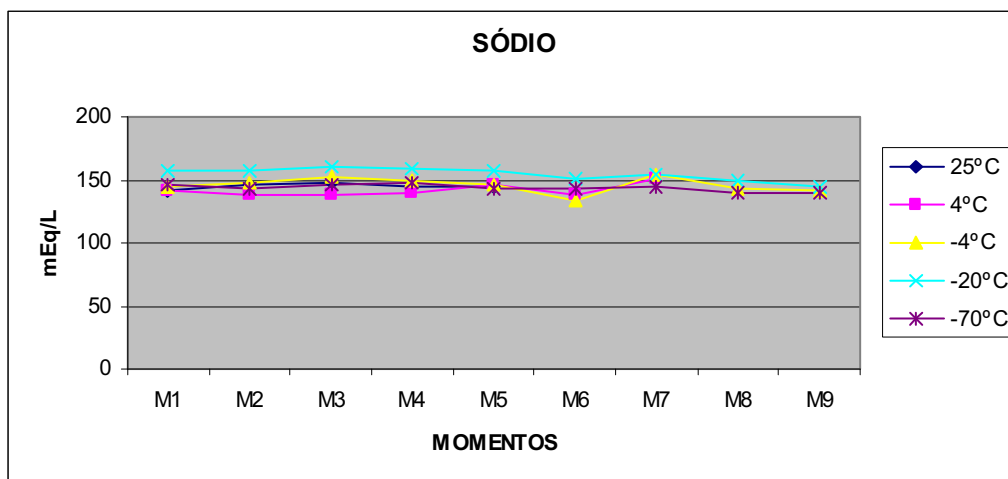


Figura 1 – Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de sódio de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

A concentração sérica de sódio se manteve estável por oito horas e 36 horas nas amostras de soro armazenadas a 25°C e 4°C, respectivamente. Nas amostras de soro mantidas sob congelamento a -4°C, -20°C e -70°C a estabilidade deste parâmetro foi observada por sete dias, 60 e 30 dias, respectivamente.

4.2 Potássio

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de potássio, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 2.

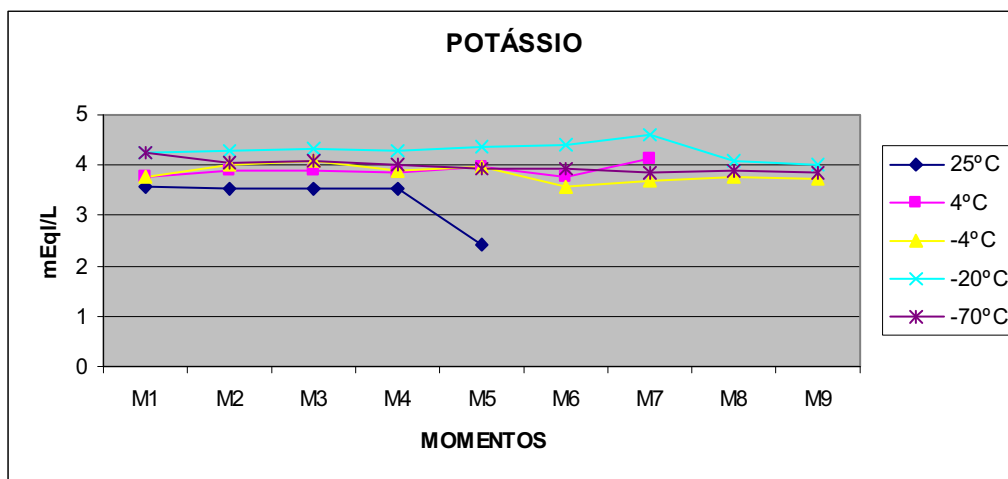


Figura 2 – Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de potássio de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

A concentração sérica de potássio se manteve estável até 36 horas de estocagem da amostras de soro mantidas a 25°C e sob refrigeração, os valores se mantiveram estáveis até um mês de armazenamento. As alíquotas de soro mantidas sob congelamento a -4°C e -20°C não apresentaram alterações estatisticamente significativa na concentração de potássio durante os 90 dias de armazenamento, contudo, sob a temperatura de -70°C, este mesmo parâmetro manteve-se estável por 60 dias.

4.3 Cálcio total

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de cálcio total, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 3.

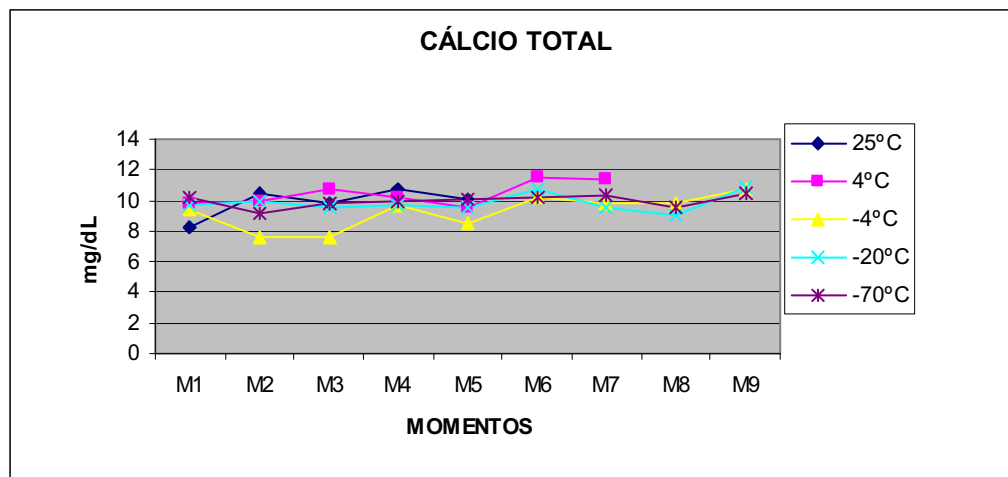


Figura 3 – Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de cálcio total de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

Os dados obtidos para a concentração sérica de cálcio revelaram que as amostras armazenadas a 25°C apresentaram alteração estatisticamente significativa na concentração de cálcio sérico logo após oito horas de armazenamento e as alíquotas mantidas sob refrigeração a 4°C demonstraram a estabilidade deste parâmetro durante sete dias de estocagem. Contudo, quando estocadas sob congelamento a -4°C, -20°C e -70°C, não foram observadas alterações significativas durante todo protocolo experimental.

4.4 Fósforo

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de fósforo, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 4.

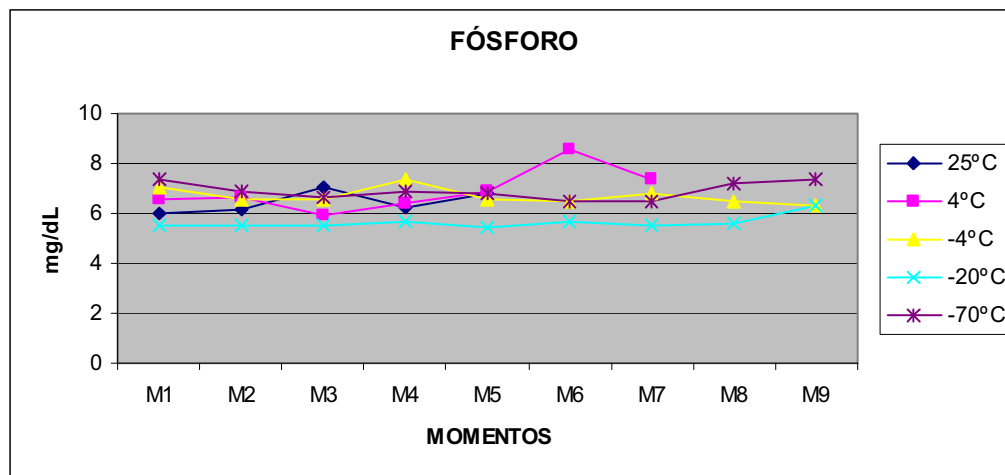


Figura 4 – Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de fósforo de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

A concentração de fósforo sérico se manteve estável por sete dias nas amostras mantidas a 25°C, por um mês naquelas estocadas sob refrigeração a 4°C e por 90 dias nas alíquotas de soro armazenadas em todas as temperaturas de congelamento.

4.5 Proteínas totais

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de proteínas totais, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 5.

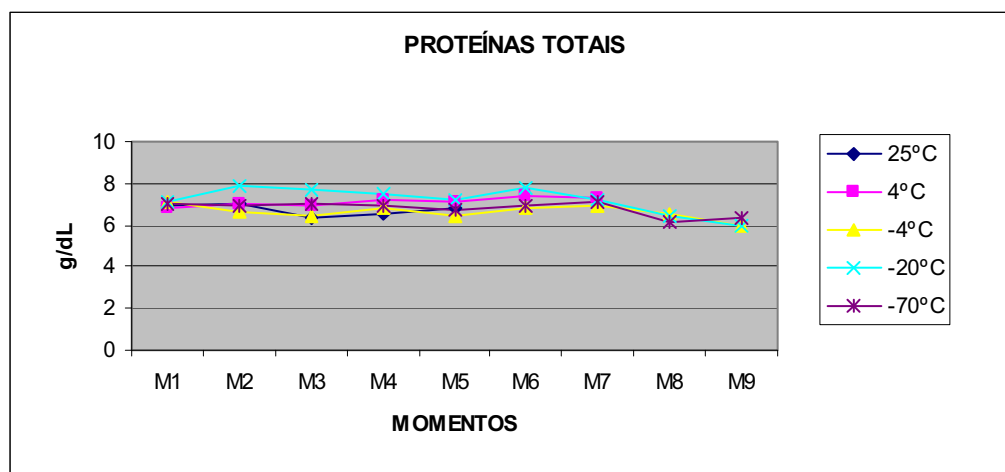


Figura 5 – Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de proteína total de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

A concentração sérica de proteína se manteve estável por sete dias e trinta dias quando as amostras de soro foram estocadas a 25°C e 4°C, respectivamente. Já, sob congelamento, este mesmo parâmetro se manteve estável durante 60 dias nas amostras mantidas a -4°C, 90 dias sob a temperatura de -20°C e 30 dias, quando a temperatura de estocagem foi de -70°C.

4.6 Albumina

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de albumina, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 6.

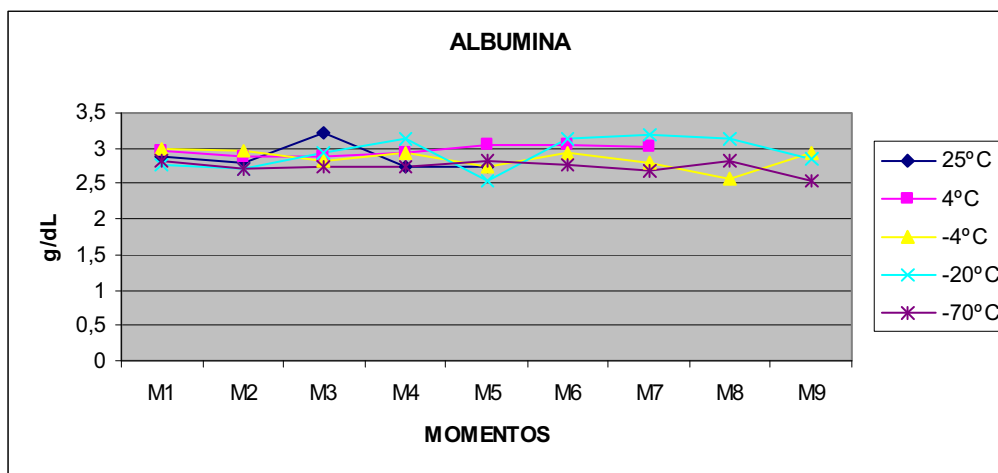


Figura 6 – Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de albumina de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

A concentração de albumina sérica se manteve estável por sete dias nas amostras mantidas a 25°C, por 30 dias naquelas estocadas sob refrigeração a 4°C e 90 dias nas alíquotas de soro mantidas em todas as temperaturas de congelamento.

4.7 Creatinina

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de creatinina, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 7.

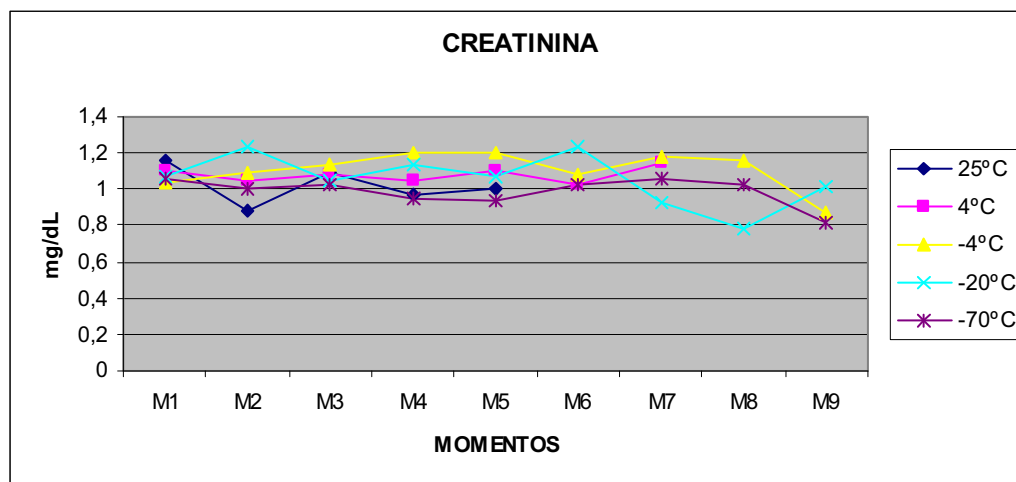


Figura 7 – Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de creatinina de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

A concentração sérica de creatinina manteve-se instável nas amostras mantidas a 25°C, sofrendo alteração estatisticamente significativa logo após oito horas de armazenamento. Contudo, a concentração deste metabólito se manteve estável por 30 dias quando as amostras foram estocadas sob refrigeração a 4°C e congelamento a -20°C. Já, quando a temperatura de estocagem foi de -4°C e -70°C foi verificada estabilidade por 90 dias e 60 dias, respectivamente.

4.8 Uréia

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de uréia, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 8.

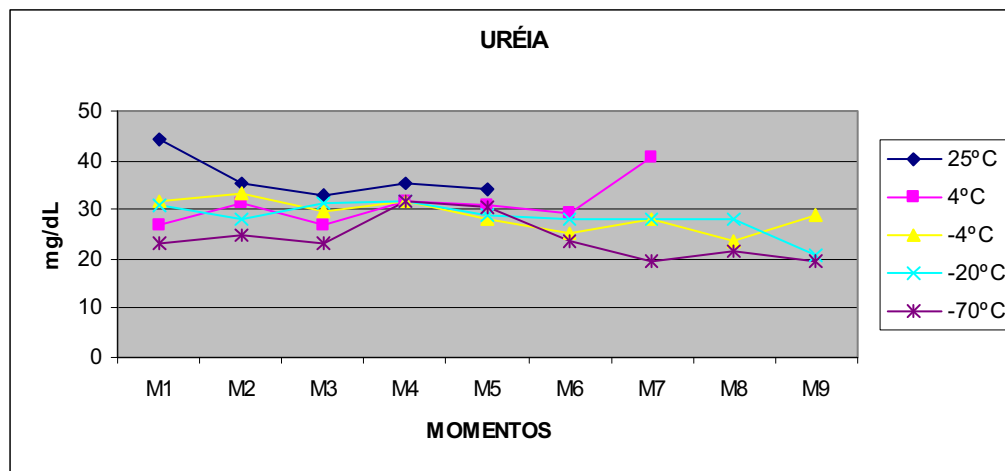


Figura 8– Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de uréia de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

Os dados obtidos para a concentração sérica de uréia evidenciaram a instabilidade deste parâmetro em amostras mantidas a 25°C, apresentando alteração estatisticamente significativa logo após oito horas de armazenamento. Nas amostras estocadas a 4°C, houve estabilidade deste parâmetro até 15 dias de estocagem e por 90 dias nas amostras mantidas sob congelamento a -4°C, -20°C e -70°C .

4.9 Colesterol

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de colesterol, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 9.

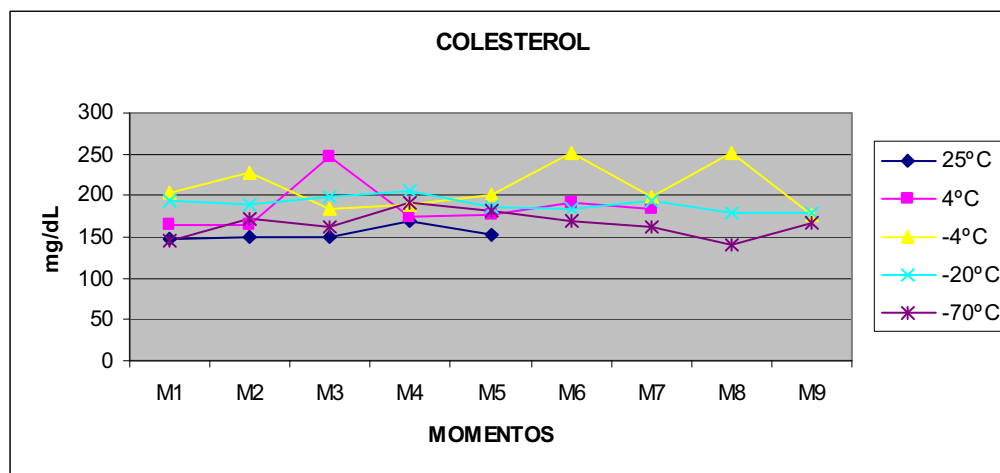


Figura 9 – Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de colesterol de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

Os valores obtidos para a concentração sérica de colesterol mostraram a estabilidade deste parâmetro por uma semana nas amostras mantidas a 25°C e apenas oito horas nas alíquotas de soro armazenadas a 4°C. Contudo, quando estocadas sob congelamento a -4°C, -20°C e -70°C, não foi evidenciada alteração estatisticamente significativa durante todo o protocolo experimental.

4.10 Triglicérides

Os valores médios obtidos para concentrações séricas de triglicérides, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 10.

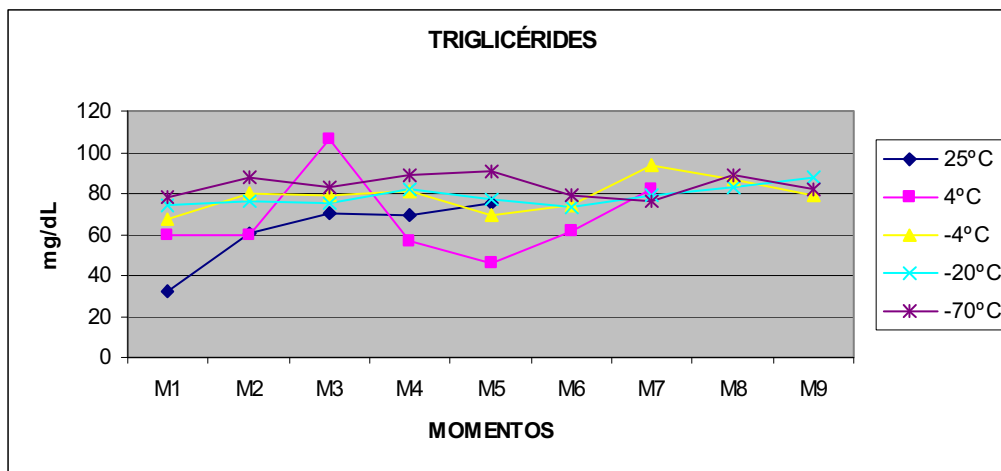


Figura 10 – Variações dos valores médios obtidos para as concentrações séricas de triglicérides de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

Os valores obtidos para a concentração sérica de triglicérides evidenciaram a instabilidade deste parâmetro quando a temperatura de armazenamento foi de 25°C, havendo alteração estatisticamente significativa logo após oito horas de armazenamento. Sob refrigeração, por sua vez, a concentração sérica de triglicérides manteve-se estável por 30 dias e sob congelamento a -4°C, -20°C e -70°C, não foi evidenciada alteração estatisticamente significativa durante os 90 dias de estocagem.

4.11 Fosfatase Alcalina

Os valores médios obtidos para atividades séricas da fosfatase alcalina, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 11.

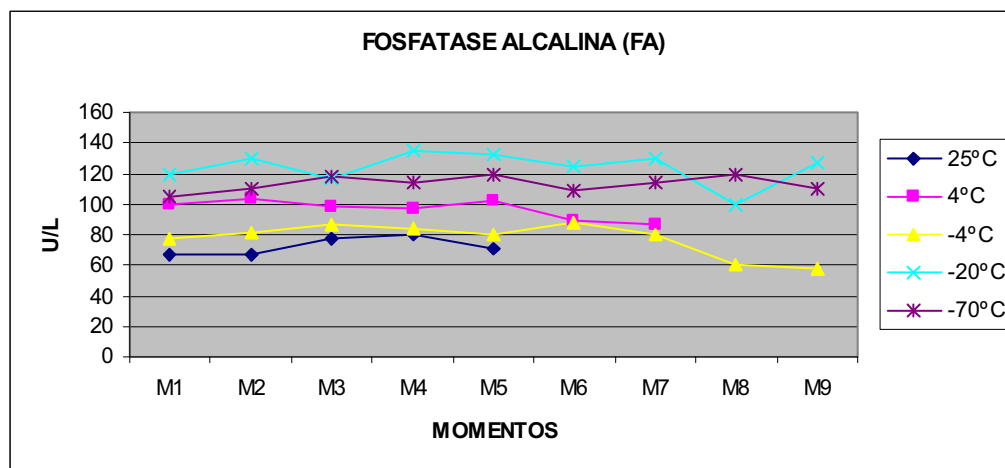


Figura 11 – Variações dos valores médios obtidos para as atividades séricas da fosfatase alcalina de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

A atividade sérica de FA se manteve estável por sete e 30 dias estocadas a 25°C e 4°C, respectivamente. Nas temperaturas de congelamento, por sua vez, a atividade sérica de fosfatase alcalina se manteve estável por até noventa dias de armazenamento.

4.12 Alanina aminotransferase

Os valores médios obtidos para atividades séricas da alanina aminotransferase, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 12.

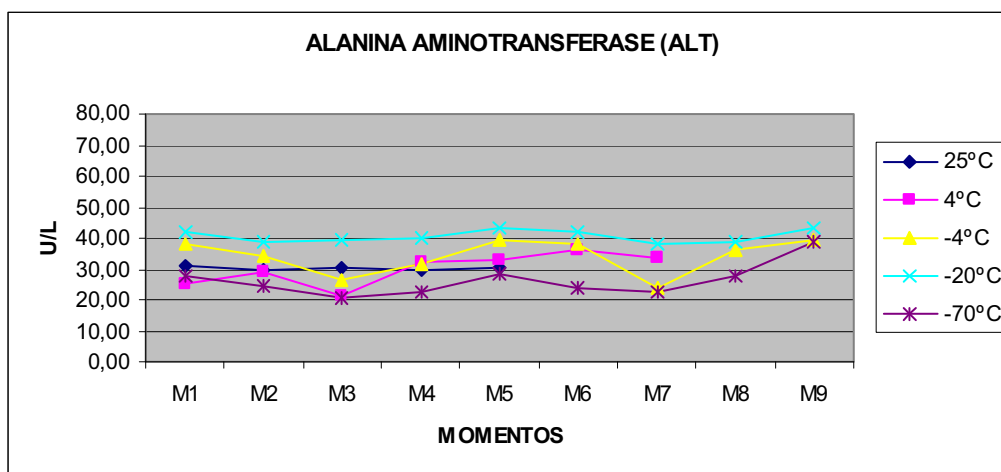


Figura 12 – Variações dos valores médios obtidos para as atividades séricas da alanina aminotransferase de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

A atividade sérica de ALT não sofreu alteração estatisticamente significativa até sete e 30 dias estocagem a 25°C e 4°C, respectivamente, e por 90 dias em todas as temperaturas de congelamento.

4.13 Asparatato aminotransferase

Os valores médios obtidos para atividades séricas da aspartato aminotransferase, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 13.

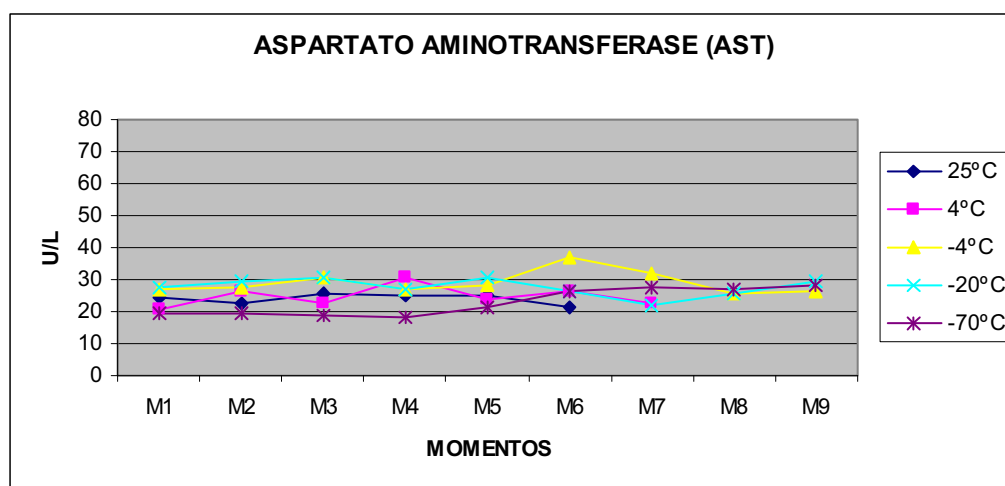


Figura 13 – Variações dos valores médios obtidos para as atividades séricas da aspartato aminotranferase de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

Os valores obtidos para a atividade sérica de AST evidenciaram a estabilidade deste parâmetro por sete dias nas amostras de soro mantidas a 25°C, 30 dias a 4°C, noventa dias a -4°C, -20°C e apenas 15 dias a -70°C.

4.14 Gama glutamiltransferase

Os valores médios obtidos para atividades séricas da gama glutamil transferase, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 14.

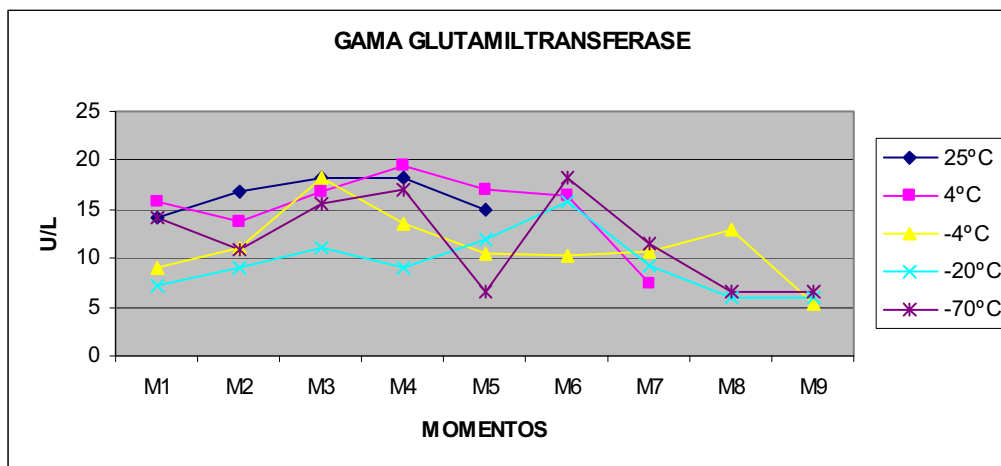


Figura 14 – Variações dos valores médios obtidos para as atividades séricas da gama glutamiltransferase de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

A atividade sérica de GGT apresentou-se estável por oito horas nas amostras de soro armazenadas a -4°C, um dia quando mantidas a -70°C e sete dias nas alíquotas estocadas a 25°C. Sob refrigeração a 4°C e congelamento a -20°C a estabilidade da atividade de GGT foi observada até 15 e 30 dias de estocagem, respectivamente.

4.15 Creatina quinase

Os valores médios obtidos para atividades séricas da creatina-quinase, nos diferentes momentos, para os grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) acham-se explicitados no apêndice e figura de número 15.

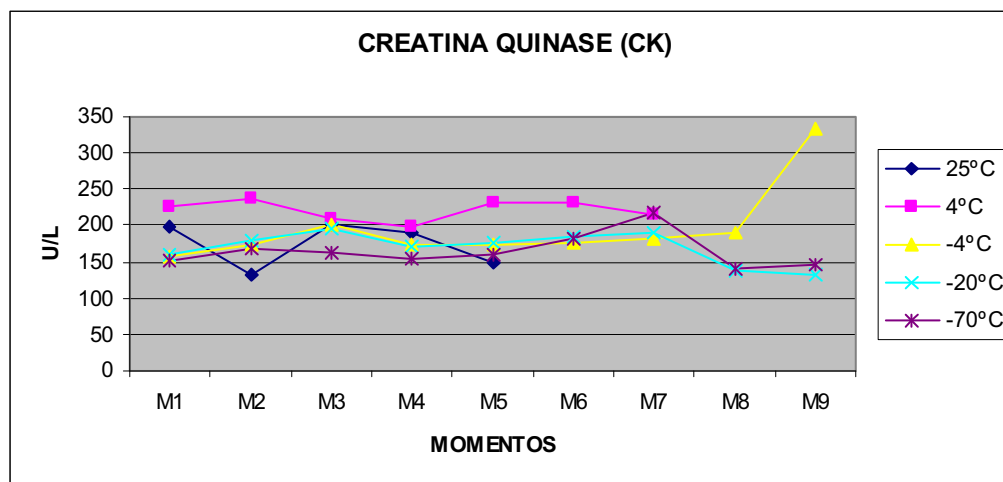


Figura 15 – Variações dos valores médios obtidos para as atividades séricas da creatina-quinase de cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

Os dados obtidos para a atividade sérica de CK revelaram a estabilidade deste parâmetro por sete dias e 30 dias de armazenamento nas amostras de soro mantidas a 25°C e 4°C, respectivamente. Em relação às temperaturas de congelamento, os valores obtidos demonstraram que a atividade da CK se manteve estável 60 dias a -4°C e 90 dias sob -20°C e -70°C .

5. DISCUSSÃO

5.1 Sódio

A partir dos dados apresentados no apêndice e figura 1, é possível notar que a concentração sérica de sódio manteve-se estável por apenas oito horas quando as amostras de soro foram mantidas a 25°C, 36 horas sob refrigeração a 4°C, uma semana a -4°C, a 30 dias a -70°C e 90 dias a -20°C. Estes dados descordam com os estudos de Ono et. al (1981), que relatam a estabilidade da concentração sérica de sódio por seis horas e oito horas em amostras de soro humano mantidas em temperatura ambiente e a 4°C, respectivamente. Já, em relação as temperaturas de congelamento, o presente estudo concorda em partes com os achados de Thorensen et. al. (1995) que relatou a estabilidade por 240 dias da concentração de sódio em amostras de soro de cão mantidas a -20°C e -70°C.

5.2 Potássio

Segundo os dados apresentados no apêndice e figura 2, a concentração sérica de potássio nas amostras mantidas a 25°C manteve-se estável por 36 horas, discordando dos achados de Ono et. al. (1981) que relatam instabilidade deste mesmo parâmetro em apenas um dia de armazenamento, em amostras de soro humano. Quanto aos resultados obtidos nas amostras mantidas sob refrigeração e congelamento, constatou-se estabilidade da concentração de potássio por 30 dias a 4°C, 60 dias a -70°C e 90 dias a -4°C e -20°C,

corroborando, em partes, com achados de Wilson, et. al. (1972) que verificaram estabilidade das concentração de potássio em soro humano por 42 dias em amostras mantidas sob congelamento e Thorensen et. al., que relatam estabilidade por 240 dias em amostras de soro de cão mantidas a -20°C e -70°C .

5.3 Cálcio total

Quanto à concentração de cálcio total, foi verificada instabilidade deste parâmetro logo após oito horas de armazenamento a 25°C , discordando dos achados de Wilson et. al. (1972), Ono et. al. (1981) e Thorensen et. al. (1992) que descreveram a estabilidade deste parâmetro estocado a 25°C por dez dias, dois dias e três dias, respectivamente. Em relação aos dados referentes as amostras mantidas sob refrigeração e congelamento, observou-se que a concentração sérica de cálcio manteve-se estável por sete dias e 90 dias, respectivamente, discordante com os achados de Thorensen et. al. (1995) que relataram instabilidade deste parâmetro quando armazenado a baixas temperaturas.

5.4 Fósforo

De acordo com os dados apresentados no apêndice e figura 4 foi possível observar a estabilidade deste parâmetro por sete dias, 30 dias e 90 dias nas amostras mantidas em temperatura ambiente, refrigeração e congelamento, respectivamente. Estes achados discordam de Ono et. al. (1981) que relataram estabilidade por apenas um dia e dois dias na concentração de fósforo de amostras de soro humano mantidas a 25°C e 4°C , respectivamente e também de Wilson et. al. (1972) e Thorensen (1995) os quais relataram estabilidade deste parâmetro por período inferior a 30 dias quando as amostras foram mantidas sob congelamento.

5.5 Proteína Total

Segundo os dados apresentados no apêndice e figura 5, observou-se que no armazenamento a 25° C e 4° C a concentração de proteína sérica total manteve-se estável por sete e 30 dias, respectivamente, corroborando com os achados de Doreto (1996) que relatou a estabilidade da concentração de proteína total em amostras de soro bovino estocado a 25° C por cinco dias e a 5° C por 30 dias. Já, em relação às temperaturas de congelamento, o presente estudo constatou a estabilidade deste mesmo parâmetro por 30 dias a – 70° C, 60 dias a – 4° C e 90 dias a – 20° C, acordando em partes com os achados de Thorensen (1995) que relataram a estabilidade da concentração de proteína total em amostras de soro de cão mantidas sob congelamento por 240 dias, mas contrapondo os dados apresentados por Doreto (1996) que observou a estabilidade da concentração de proteína total em soro de bovinos mantidos a – 20° C por apenas 15 dias.

5.6 Albumina

Nos dados apresentados no apêndice e figura 6 é possível observar que a concentração sérica de albumina manteve-se estável por sete dias e sob refrigeração por 30 dias, concordando em partes com os achados de Wilson et. al. (1972) que relatam a estabilidade da concentração de albumina em amostras de soro humano mantidas a 37° C, 25° C e 4° C por 42 dias. Já nas temperaturas de congelamento a estabilidade da concentração de albumina se manteve por 90 dias, assim como nos achados de Thorensen et. al. (1995) que relataram a estabilidade da concentração sérica de albumina em cães por até 240 dias em amostras mantidas a – 20° C e – 70° C.

5.7 Creatinina

Segundo os dados apresentados no apêndice e figura 7, a concentração sérica de creatinina demonstrou grande estabilidade frente ao armazenamento a 25° C, discordando com os achados de Thorensen et al. (1992) que descreveram a estabilidade deste parâmetro por três dias em temperatura

ambiente. Contudo, em temperaturas inferiores, este parâmetro demonstrou maior estabilidade não apresentando alteração estatisticamente significativa por 30 dias nas amostras mantidas a 4° C e -20°C, por 60 dias a -70°C, e 90 dias a -4°C, acordando em partes com os achados de Doreto (1996) que relatou a estabilidade da concentração de creatinina em amostras de soro bovino mantidas sob refrigeração e congelamento por 90 dias.

5.8 Uréia

Os dados obtidos para a concentração sérica de uréia, demonstrados no apêndice e figura 8 evidenciam alteração estatisticamente significativa logo nas primeiras oito horas de estocagem a 25° C, discordando dos achados de Thorensen et. al. (1992) que relatam estabilidade da concentração de uréia em amostras de soro e plasma de cão mantidas a 25° C por três dias. Sob refrigeração e congelamento, no presente estudo, a concentração de uréia manteve-se estável por 15 e 90 dias respectivamente, corroborando em partes com os achados de Doreto (1996) que asseverou a estabilidade da concentração de uréia em amostras de soro bovino mantidos a 5° C e – 20° C por 90 dias.

5.9 Colesterol

Segundo os dados apresentados no apêndice e figura 9 é possível verificar que nas amostras estocadas a 25° C e 4° C a estabilidade da concentração de colesterol manteve-se estável por sete dias e oito horas, respectivamente. Estes dados contrapõem os achados de Wilson et. al. (1972) os quais relataram que este mesmo parâmetro, em amostras de soro de humanos mantidos a 25° C, apresentou alteração significativa logo nas primeiras horas de armazenamento e a 4° C, manteve-se estável por 42 dias. Quanto às temperaturas de congelamento, não foi possível observar alteração estatisticamente significativa durante os 90 dias de armazenamento, discordando dos dados apresentados por Thorensen et. al. (1995) os quais relatam instabilidade deste parâmetro em amostras de cães mantidas a – 20° C e – 70° C.

5.10 Triglicérides

De acordo com os dados apresentados no apêndice e figura 10, observa-se a instabilidade da concentração sérica de triglicérides frente a estocagem a 25°C. Estes achados discordam de Thorensen et. al. (1992) que relatam estabilidade deste parâmetro por três dias em amostras de soro conservadas em temperatura ambiente. Sob refrigeração e congelamento, por sua vez, a concentração de triglicérides manteve-se estável por 30 e 90 dias respectivamente, corroborando em partes com os achados de Thorensen et. al. (1995) que constatou estabilidade da concentração de triglicérides frente ao congelamento a -20°C e -70°C por 240 dias.

5.11 Fosfatase alcalina

Segundo os dados apresentados no apêndice e figura 11 é possível observar que a atividade sérica de FA não sofreu alteração significativa por 7 dias e 30 dias quando armazenadas a 25°C e 4°C, respectivamente. Da mesma forma Doreto (1996) relata a estabilidade deste parâmetro em soro bovino estocado a 25°C por cinco dias e a 5°C por 30 dias. Contudo, Blincoe et. al. (1985) constatou queda significativa da atividade desta enzima em soro humano armazenado a 25°C e 4°C. Já, sob congelamento, foi possível observar a estabilidade da atividade de FA por 90 dias, corroborando com os dados de Thorensen et. al. (1995) que relatam a estabilidade da atividade desta enzima em cães por 240 dias a -20°C e -70°C.

5.12 Alanina aminotransferase

De acordo com os dados apresentados no apêndice e figura 12 observa-se a estabilidade da atividade da ALT por sete dias a 25°C e 30 dias a 4°C. Estes dados concordam parcialmente com Doreto (1996) que constatou estabilidade deste mesmo parâmetro por cinco e 90 dias em amostras de soro bovino armazenadas a 25°C e 5°C, respectivamente. Frente ao congelamento, a atividade sérica de ALT manteve-se estável por 90 dias, discordando de

Jones (1985) que relatou estabilidade da ALT em amostras de soro e plasma bovinos por apenas 42 dias acondicionadas a -20°C.

5.13 Aspartato aminotransferase

Segundo os dados apresentados no apêndice e figura 13 observa-se a estabilidade da atividade sérica de AST por sete dias e 30 dias em amostras de soro estocadas a 25°C e 4°C, respectivamente. Estes achados discordam dos dados apresentados por Jones (1985) que relatou a estabilidade da atividade de AST em soro bovino mantido a 20°C e 4°C por apenas quatro dias. Já, sob congelamento, observou-se a estabilidade da atividade de AST por 90 dias a -4°C e -20°C e por apenas 15 dias a -70°C, corroborando em partes com os achados relatados por Thorensen et al. (1995) que afirmam a estabilidade deste mesmo parâmetro em amostras de soro de cão mantidas sob congelamento por um período de 90 dias.

5.14 Gama glutamiltransferase

De acordo com os dados descritos no apêndice e tabela 14 a atividade sérica de GGT apresentou-se estável por sete dias quando mantida a 25°C, já sob refrigeração, este período de estabilidade prolongou-se por 15 dias. Estes dados contrapõem os achados de Doreto (1996) que verificaram a alteração logo nos primeiros dias de estocagem de soro bovino a 25°C e 5°C. Frente ao congelamento a -4°C, -20°C e -70°C verificou-se a estabilidade deste mesmo parâmetro por 8 horas, 15 dias e um dia, respectivamente. Estes achados discordam de Thorensen et al. (1995) que relatam a estabilidade da atividade sérica e plasmática de GGT por 240 dias quando mantidas sob congelamento a -20°C e -70°C.

5.15 Creatina quinase

De acordo com os dados apresentados no apêndice e figura 15 observa-se a estabilidade da atividade sérica de CK em amostras de soro mantidas a 25°C e 4°C por sete dias e 30 dias, respectivamente. Estes achados discordam dos dados apresentados por Jones (1985) e Doreto (1996) que asseveram a estabilidade da atividade sérica de CK por cerca de cinco dias em amostras de soro bovino mantidos em temperatura ambiente e refrigeração. Quanto às temperaturas de congelamento, não se constatou alteração estatisticamente significativa durante os noventa dias de armazenamento, corroborando com os achados de Thorensen et al. (1995) que constatou estabilidade deste mesmo parâmetro por 240 dias em amostras de soro de cão submetidas ao congelamento.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem as seguintes conclusões:

1. Em amostras de soro estocadas a 25° C a atividade sérica de CK, FA, GGT, ALT e AST mantiveram-se estáveis por sete dias.
2. Em amostras de soro estocadas a 25° C as concentrações de triglicérides, cálcio total, creatinina e uréia mostraram-se instáveis logo após oito horas de estocagem, e a concentração de sódio e potássio foram estáveis por oito horas e 36s horas, respectivamente. A concentração sérica de proteína total, albumina, colesterol e fósforo mantiveram-se estáveis por sete dias.
3. Sob refrigeração a atividade sérica de GGT manteve-se estável por 15 dias e as atividades de CK, FA, ALT e AST por 30 dias.
4. Sob refrigeração a concentração sérica de colesterol, sódio, cálcio total e uréia foram estáveis por oito horas, 36 horas, sete dias e 15 dias, respectivamente. A concentração sérica de proteína total, albumina, triglicérides, fósforo, potássio e creatinina mantiveram-se estáveis por trinta dias.
5. Sob congelamento a – 4° C a atividade de GGT manteve-se estável por oito horas e a de CK por 60 dias. A atividade sérica de FA, ALT e AST foram estáveis por 90 dias.
6. Sob congelamento a – 4° C a concentração sérica de sódio e proteína total mantiveram-se estáveis por sete dias e 60 dias, respectivamente. A concentração de albumina triglicérides, colesterol, fósforo, cálcio total, potássio, creatinina e uréia foram estáveis por 90 dias.

7. Sob congelamento a -20°C a atividade sérica de GGT manteve-se estável por 30 dias e as atividades de CK, FA, ALT e AST mantiveram-se estáveis por 90 dias.
8. Sob congelamento a -20°C a concentração de creatinina e sódio mantiveram-se estáveis por 30 e 60 dias, respectivamente. A concentração de proteína total, albumina, triglicérides, colesterol, fósforo, cálcio, potássio e uréia mantiveram-se estáveis por 90 dias.
9. Sob congelamento a -70°C a atividade sérica de GGT e AST mantiveram-se estáveis por 24 horas e 15 dias, respectivamente. A atividade de CK, FA e ALT foram estáveis por 90 dias.
10. Sob congelamento a -70°C a concentração de proteína total e sódio foram estáveis por 30 dias e a concentração de creatinina e potássio por 60 dias. A concentração de albumina, triglicérides, colesterol, fósforo, cálcio total e uréia mantiveram-se estáveis por 90 dias.
11. O congelamento a -20°C revelou-se a condição mais adequada para a estocagem de amostras de soro sanguíneo de cão, pois nesta temperatura houve estabilidade de doze dos quinze parâmetros avaliados durante todo o protocolo experimental.

7. REFERÊNCIAS

AHSAN, S.; AFZAL, M.; AKHTAR, S. Effect of Storage on Some constituents of Camel Serum. **Australian Veterinary Journal**, v.72, p.212-5, 1995.

AITKEN, F.C., In: "Technical Communications Sodium and Potassium in Nutrition of Mammals", **Commonwealth Bureau of Nutrition**, n. 26, England, 1976.

BLINCOE, C.; MARBLE, D.W.; Storage stability of some bovine plasma enzymes. **American Journal of Veterinary Research**, v.46, n.6 p. 1242-1243, 1985.

BRAUN, J.P.; BERNARD, P.; BURGAT, V.; RICO, A.G.; Gamaglutamiltransferase in Domestic Animals. **Veterinary Research Community**, v.6, p.77-90, 1983.

BROBST, D. The Anion gap as a prognostic indicator in horses with abdominal pain. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.181, p.63-65, 1986.

BRUSS, M. L. Lipids and ketones, In: KANECO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5ed.San Diego:Academic Press,1997, p. 83- 116.

CAPEN, C.C.; ROSOL, T.J. In: "Disease Mechanisms in Small Animal Surgery" **Hormonal Control of Mineral Metabolism**. Lea & Febiger, Filadélfia, Pensilvania, p. 841-857, 1993.

CARDINET, G. H. Skeletal muscle function. In: KANECO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5ed.San Diego:Academic Press, 1997, p. 407- 440.

CARLSON, G. P. Fluid, electrolyte and acid- base balance. In: KANECO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5ed.San Diego:Academic Press, 1997, p. 485- 516.

CENTER, S.A. Diagnostic Value of Serum γ -Glutamyltransferase and Alkaline Phosphatase Activities in Hepatobiliary Disease in the Cat. **Journal of American Veterinary Medical Association** v.188, n.5, p.507-21, 1996.

COLES, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**. 3ed, São Paulo, 1984.

CRAWFORD, M.A.; SCHALL, W.D.; JENSEN, R.K.; TASKER, J.B.; Chronic Active Hepatitis in Doberman Pinschers. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.187, n.12, p.1342-50, 1985.

DENNIS, V.W. Phosphate Metabolism: Contribution of Different Celular Compartments. **Kidney Int.**, v.49, p.938-42, 1996.

DORETTO, J.S. Influência do tempo e da temperatura de estocagem sobre a estabilidade de alguns constituintes do soro sanguíneo de bovinos. 1996. **Dissertação** (Mestrado em Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FETTMAN, M. J. Fluid electrolyte metabolism. In: THRALL, M. A., **Veterinary hematology and clinical chemistry**, Philadelphia: Lippincot, 2001, p. 329-354.

FETTMAN, M. J., REBAR, A. Laboratory evaluation of renal function. In: THRALL, M. A., **Veterinary hematology and clinical chemistry**, Philadelphia: Lippincot, 2001, 301- 328.

FERNANDES, S.T.; TEIXEIRA, M.N.; SANTOS, E.S. Influencia 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**, v.53, n.6, p.648-51, 2001.

FINCO, D. R. Kidney function. In: KANECO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5ed.San Diego:Academic Press, 1997, p. 441- 484.

FISHER, E. W.; MARTINEZ A. A. Aspects of Body Fluid of Neonatal Calf Diarrhea. **Research Veterinary Science**, v. 20, p.302-305, 1976.

FONTAINE, M.; HAMELIN, N.; COUTURE, Y. Effect of Time, Storage Conditions and Mailing on the Stability of Blood Values of Cows. **Medicine Veterinary of Quebec**, v.17, n.2, p.71-7, 1987.

GOODMAN, J.R.; VINCENT, J.; ROSEN, I. Serum Potassium Changes in Blood Clots. **American Journal of Clinical Pathology**, v.24, p.111, 1984.

GRECO, D. S. Laboratory evaluation of the thyroid, parathyroid, adrenal and pituitary glands. In: THRALL, M. A., **Veterinary hematology and clinical chemistry**, Philadelphia: Lippincot, 2001, p. 445- 462.

JONES, D.G. Stability and Storage Characteristics of Enzymes in Cattle Blood. **Research in Veterinary Science** v.38, p.301-306, 1985.

JULL, P. Stability of Plasma Enzymes During Storage. **Clinical Chemistry**, v.13, n.5, p.416-422, 1967.

KANEKO, J. J. Serum proteins and dysproteinemias. In: KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5ed.San Diego:Academic Press, 1997, p. 117- 138.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5ed.San Diego:Academic Press, 1997. 932p.

LAKRITZ, J.; MADIGAN, J.; CARLSON, G.P. Hipovolemia and Hyponatremia and Signs of Neurological Disease Associated with Diarrhea in a foal. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 200, p. 1114-6, 1992.

LASSEN, E. D. Laboratory evaluation of plasma serum proteins. In: THRALL, M. A., **Veterinary hematology and clinical chemistry**, Philadelphia: Lippincott, 2001, p. 401- 416a.

LASSEN, E. D. Laboratory evaluation of the liver. In: THRALL, M. A., **Veterinary hematology and clinical chemistry**, Philadelphia: Lippincott, 2001, p. 355 -376b.

LASSEN, E. D. Laboratory detection of muscle injury. In: THRALL, M. A., **Veterinary hematology and clinical chemistry**, Philadelphia: Lippincott, 2001, p. 417- 420c.

LASSEN, E. D.; FETTMAN, M. J. Laboratory evaluation of lipids. In: THRALL, M. A., **Veterinary hematology and clinical chemistry**, Philadelphia: Lippincott, 2001, p. 421- 430.

LINDNER, A., Einfluss von Lagerungsdaue, Temperatur und Probenausgangsmaterial auf Klinisch- Chemische Bluteigenschaften. **Journal of Veterinary Medical Association**, v.38, p.433-40, 1991.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Medicina de Laboratório Veterinário Interpretação e diagnóstico**. São Paulo, ed. Roca, 308p., 1995.

ONO, T.; KITAGUCHI, K.; TAKEHARA, M.; SHIIBA, M.; HAYAMI, K. Serum Constituents Analyses: Effect of Duration and Temperature of Storage Clotted Blood. **Clinical Chemistry** v.27, n.1, p.35-8, 1981.

PIMENTEL, G. F. **Curso de estatística experimental**. 2ed. São Paulo: Livraria Nobel, S.^a, 1987. p.467.

REHAK, N. N.; CHIANG, B.T. Storage of Whole Blood: Effect of Temperature on The Measured Concentration of Analytes in Serum. **Clinical Chemistry**, v.34, n.10, p.2111-2114, 1988.

ROSE, B. D. In “**Clinical Physiology of Acid- Base and Electrolyte Disorders**”, HILL, M.G., 2ed, Nova York, 1984.

ROSOL, T. J.; CAPEN, C. C. Calcium- regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: KANECO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5ed.San Diego:Academic Press, 1997, p. 619- 702.

SZENCI, O.; BRYDI, E.; BAJCSY, C. A. E. Effect of Storage on Measurment of Ionized Calcium and Acid-base Variables in Equine, Bovine, Ovine and Canine Venous Blood. **Journal of Americas Medical Association**, v.199, n.9, p. 1167-9, 1991.

TANNEN, R. L. **Fluids and Electrolytes**. Saunders, Filadélfia, Pensilvania, p.150-228, 1984.

TENTANT, B. C. Hepatic function. In: KANECO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5ed.San Diego:Academic Press, 1997, p. 327- 352.

THORENSEN, S. I.; HAVRE, G. N.; MORBERG, H.; MOWINCKEL, P.; Effects of Storage Time Chemistry Results from Canine Whole Blood, Heparinized

Whole Blood, Serum and Heparinized Plasma. **Veterinary Clinical Pathology**, Norway, v.21, n.3, p.88-94, 1992.

THORENSEN, S. I.; TVERDAL, A.; HAVRE, G.; MORBERG, H.; Effects of Storage and Freezing Temperature on Clinical Chemical Parameters from Canine Serum and Heparinized Plasma. **Veterinary Clinical Pathology**, Norway, v.24, n.4, p. 129-33, 1995.

TOLLERSRUD, S. Stability of Some Serum Enzymes in Sheep, Cattle and Swine During Storage at Different Temperature. **Veterinarian Scandinavian**, Vanlose, v.10, p.359-71, 1969.

YANAGAWA, N.; LEE, D. B. N. Renal Handling of Calcium and Phosphorus. In **"Disorders of Bone and Mineral Metabolism"**. Raven Press, Nova York, p.3-40, 1992.

WILSON, S. S.; GUILLAN, R. A.; HOCKER, E. V. Studies of the Stability of 18 Chemical Constituents of Human Serum. **Clinical Chemistry**, v.18, n.12, p.1498-1503, 1972.

WITTER, F.; BOHNWALD, H.; KLAASEN, R. Efecto del Tiempo, Temperature, de Conservacion y del Anticoagulante (EDTA/NaF) en muestras para perfiles metabolicos. **Archives of Medical Veterinary**, v.18, p.43-51, 1986.

APÊNDICE

Apêndice 1 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de sódio dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

SÓDIO (mmol/L)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	142,0±1,94A	145,6±2,63AB	147,2±2,97B	144,5±3,21AB	145,1±3,84AB				
2	140,90±2,56A	138,30±2,00A	138,20±1,14A	140,10±1,37A	146,50±2,46B	137,90±8,16A	151,00±4,94B		
3	144,90±3,14BC	147,60±6,75BC	151,60±9,23BC	148,60±12,69BC	146,50±5,48BC	133,00±6,80A	153,90±5,09C	143,30±14,34BC	140,60±7,32B
4	157,80±4,34BC	157,60±3,78BC	159,60±4,53C	158,40±4,67BC	157,10±4,43BC	151,50±6,70AB	154,40±6,10BC	150,00±3,43AB	144,90±9,85A
5	146,50±2,92C	143,10±1,66BC	145,60±2,63C	147,00±0,47C	142,90±3,35ABC	142,90±4,77ABC	144,40±6,04BC	140,20±2,44AB	138,90±4,36A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Apêndice 2 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de potássio dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

POTÁSSIO (mmol/L)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	3,59±0,44B	3,55±0,34AB	3,52±0,40AB	3,52±0,40AB	2,43±0,51A				
2	3,77±0,25A	3,89±0,24A	3,90±0,29A	3,84±0,32A	3,98±0,24A	3,78±0,24A	4,11±0,22A		
3	3,78±0,27AB	3,99±0,23B	4,08±0,32B	3,90±0,32AB	3,97±0,28B	3,56±0,28A	3,68±0,27AB	3,78±0,31AB	3,73±0,21AB
4	4,26±0,30AB	4,30±0,30AB	4,32±0,33AB	4,28±0,38AB	4,37±0,28AB	4,39±0,40AB	4,60±0,45B	4,09±0,24A	3,99±0,34A
5	4,24±0,20B	4,03±0,37AB	4,07±0,43AB	4,00±0,24AB	3,94±0,31AB	3,94±0,15AB	3,86±0,18AB	3,88±0,22AB	3,84±0,16A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Apêndice 3 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de cálcio total dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

CALCIO TOTAL (mg/dL)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	8,18±1,62A	10,53±1,57B	9,85±0,96AB	10,76±1,61B	10,07±1,33AB				
2	9,79±1,31A	9,88±0,70A	10,68±0,87ABC	10,22±0,65AB	9,51±0,55A	11,54±0,83C	11,40±1,19BC		
3	9,45±0,84ABC	7,58±1,31A	7,61±1,39A	9,74±0,72BC	8,44±1,19AB	10,18±1,61BC	9,76±2,26BC	9,77±1,13BC	10,73±1,69C
4	9,66±0,66ABC	9,94±0,70ABC	9,51±0,45A	9,70±0,73ABC	9,54±0,66AB	10,70±0,67BC	9,57±0,51AB	9,09±1,18A	10,80±1,34C
5	10,19±0,74AB	9,10±0,86A	9,85±0,94AB	9,98±0,51AB	10,11±0,74AB	10,26±0,74AB	10,31±0,96B	9,60±0,83A	10,46±1,38B

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p >0,05).

Apêndice 4 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de fósforo dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

FOSFORO (mg/dL)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	6,02±0,87A	6,13±1,11A	7,08±1,72A	6,25±0,67A	6,82±0,65 ^a				
2	6,54±1,36AB	6,66±1,35AB	5,92±1,75A	6,38±1,42A	6,86±1,62AB	8,59±1,88B	7,33±1,65AB		
3	7,01±1,36A	6,59±0,69A	6,58±0,77A	7,36±1,40A	6,59±0,83 ^a	6,50±0,65A	6,81±1,03A	6,51±1,18A	6,33±1,91A
4	5,54±1,72A	5,51±2,14A	5,54±1,15A	5,68±1,33A	5,47±1,40 ^a	5,71±1,43A	5,49±1,49A	5,61±1,72A	6,29±1,65A
5	7,33±1,77A	6,85±1,07A	6,67±1,05A	6,88±1,04A	6,78±1,16 ^a	6,50±1,16A	6,48±1,27A	7,20±1,87A	7,35±1,04A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p >0,05).

Apêndice 5 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de proteína total dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

PROTEÍNAS TOTAIS (g/dL)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	6,93±0,64A	6,99±0,48A	6,38±0,45A	6,58±0,45A	6,85±0,49A				
2	6,85±0,48A	7,06±0,45A	6,91±0,49A	7,22±0,49A	7,15±0,36A	7,39±0,54A	7,35±0,45A		
3	7,12±0,46A	6,67±0,39AC	6,42±0,43AC	6,84±1,15AC	6,43±0,47AC	6,82±0,43AC	6,88±0,62AC	6,57±0,52AC	5,96±1,22BC
4	7,14±0,42ABC	7,88±1,10A	7,69±0,69AB	7,50±0,73AB	7,22±0,65ABC	7,82±1,88A	7,24±0,49ABC	6,49±0,47BC	6,00±0,90C
5	6,98±0,51AB	6,90±0,51ABC	7,00±0,59AB	6,97±0,54ABC	6,74±0,51ABC	6,93±0,61ABC	7,16±0,63A	6,11±0,42C	6,36±0,54BC

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p >0,05).

Apêndice 6 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de albumina dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

ALBUMINA (g/dL)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	2,89±0,24A	2,79±0,23A	3,22±1,24A	2,73±0,28A	2,74±0,25A				
2	2,95±0,30A	2,87±0,34A	2,88±0,36A	2,94±0,26A	3,05±0,35A	3,05±0,34A	3,01±0,25A		
3	2,98±0,27A	2,95±0,25A	2,81±0,26A	2,93±0,41A	2,73±0,25A	2,94±0,45A	2,80±0,32A	2,58±0,26A	2,93±1,11A
4	2,78±0,45AB	2,71±0,32AB	2,94±0,38AB	3,13±0,49AB	2,54±0,56A	3,12±0,44AB	3,19±0,50B	3,13±0,51AB	2,86±0,26AB
5	2,83±0,36A	2,72±0,39A	2,74±0,43A	2,73±0,40A	2,83±0,35A	2,76±0,38A	2,67±0,37A	2,81±0,37A	2,55±0,44A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p >0,05).

Apêndice 7 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de creatinina dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

CREATININA (mg/dL)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	1,16±0,16B	0,88±0,11A	1,09±0,19B	0,97±0,16AB	1,00±0,14AB				
2	1,10±0,16A	1,05±0,10A	1,08±0,14A	1,05±0,15A	1,10±0,10A	1,02±0,22A	1,15±0,10A		
3	1,04±0,17AB	1,09±0,11B	1,14±0,16B	1,20±0,15B	1,20±0,11A	1,08±0,15A	1,18±0,09A	1,16±0,11A	0,87±0,11A
4	1,07±0,16BC	1,24±0,23C	1,05±0,12BC	1,14±0,20BC	1,07±0,17BC	1,24±0,11C	0,93±0,12AB	0,78±0,11A	1,01±0,11B
5	1,06±0,12A	1,00±0,13BA	1,03±0,10A	0,95±0,11A	0,94±0,13A	1,03±0,13A	1,06±0,14A	1,03±0,11A	0,82±0,12B

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p >0,05).

Apêndice 8 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de uréia dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

URÉIA (mg/dL)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	44,11±9,90A	35,47±5,27B	33,02±3,49B	35,17±4,94B	34,13±4,49B				
2	26,70±7,32A	31,45±8,25AB	26,64±8,13A	31,72±11,18AB	31,09±8,63AB	29,38±7,87AB	40,55±13,25B		
3	31,63±4,47AB	33,5±12,05B	29,81±4,81AB	28,34±4,62AB	27,99±3,98AB	25,40±4,70AB	28,06±6,59AB	23,76±4,33A	28,85±4,33AB
4	31,02±8,46A	27,96±11,89A	31,28±8,87A	29,46±10,06A	28,86±9,03A	28,02±9,21A	27,91±7,38A	28,17±8,17A	20,91±4,66A
5	23,16±6,93AB	24,80±7,17AB	23,33±6,91AB	25,06±9,71A	30,66±4,58B	23,52±7,62A	19,35±7,42A	21,43±6,18AB	19,50±7,01A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p >0,05).

Apêndice 9 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de colesterol dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

COLESTEROL (mg/dL)									
GRUPOS	MOMENTOS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	147,08±29,58A	150,54±29,58A	150,24±29,70A	170,29±27,05A	152,79±31,71A				
2	164,73±46,77A	165,03±44,79A	247,90±43,29B	174,91±42,40A	175,64±47,58A	191,56±56,93AB	184,63±55,75AB		
3	203,09±60,69A	228,15±56,60A	183,33±43,79A	189,68±52,12A	200,21±55,32A	252,00±65,05A	199,42±55,96A	251,51±184,55A	176,23±55,68A
4	192,58±33,56A	188,13±51,68A	197,18±43,23A	205,54±35,25A	187,24±49,02A	183,78±45,58A	192,91±49,12A	178,56±54,81A	179,7±51,03A
5	145,20±38,04A	171,59±48,04A	163,07±33,31A	190,34±54,75A	180,59±39,82A	170,48±40,18A	162,11±32,70A	139,90±47,52A	166,45±33,68A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p >0,05).

Apêndice 10 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das concentrações séricas de triglicérides dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

TRIGLICÉRIDES (mg/dL)									
GRUPOS	MOMENTOS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	32,65±16,23A	60,01±17,53B	70,59±20,30B	69,07±22,13B	75,47±22,97B				
2	59,63±37,52AB	59,15±38,56AB	106,50±57,83B	56,97±34,91AB	45,94±37,21A	61,20±23,23AB	81,67±45,24AB		
3	66,99±14,94A	79,99±44,61A	79,41±65,89A	81,09±22,30A	68,91±22,30A	74,11±17,81A	93,61±52,06A	86,99±29,16A	79,04±26,53A
4	74,32±27,54A	75,91±34,93A	74,82±35,94A	81,90±33,71A	77,26±31,31A	73,38±31,46A	78,56±37,55A	83,26±54,51A	87,48±58,87A
5	77,96±30,33A	87,59±30,29A	83,14±30,90A	88,43±30,63A	90,36±25,38A	78,90±31,09A	75,65±28,77A	89,05±32,50A	82,16±17,35A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p >0,05).

Apêndice 11 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das atividades séricas de fosfatase alcalina dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M0), Jaboticabal (SP), 2007.

FOSFATASE ALCALINA (U/L)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	67,12±15,75A	66,97±21,50A	77,95±18,00A	80,43±18,36A	71,31±23,84A				
2	100,26±14,82A	103,66±15,27A	97,85±16,50A	97,02±18,36A	101,99±32,95A	89,56±19,86A	87,07±19,25A		
3	77,12±22,47AB	81,26±21,70AB	87,07±27,71AB	84,58±22,39AB	79,71±19,98AB	87,70±20,26B	80,43±18,77AB	60,59±18,77AB	57,22±17,68A
4	119,11±34,08A	130,18±36,46A	116,09±25,33A	135,13±43,21A	133,03±43,92A	125,20±28,02A	129,31±31,82A	99,50±41,77A	127,75±37,30A
5	105,30±45,59A	110,28±47,24A	118,58±41,00A	113,60±46,09A	118,87±41,96A	109,45±40,95A	114,43±48,63A	119,41±45,75A	110,28±49,45A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05).

Apêndice 12 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das atividades séricas de alanina aminotransferase dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

ALANINA AMINOTRANSFERASE (U/L)									
MOMENTOS									
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	31,26±10,37A	29,55±9,75A	30,39±10,30A	29,55±11,08A	30,39±11,74A				
2	25,33±12,43A	28,71±13,02A	21,50±12,19A	32,56±11,42A	32,93±12,86A	35,88±12,31A	33,35±11,85A		
3	37,99±10,34A	34,19±11,16A	26,17±10,49A	31,66±11,26A	39,26±11,26A	37,99±13,64A	24,18±8,97A	36,30±9,16A	39,19±18,07A
4	42,21±17,46A	38,41±14,68A	39,26±14,76A	40,11±9,15A	43,48±15,29A	42,21±17,35A	37,99±17,46A	38,41±11,51A	43,06±13,61A
5	27,48±10,58AB	24,52±10,32AB	20,68±8,78A	22,79±10,94A	28,28±10,72AB	24,06±6,91A	22,79±10,38A	27,86±9,99AB	38,84±12,23B

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05).

Apêndice 13 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das atividades séricas de aspartato aminotransferase dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (U/L)									
GRUPOS	MOMENTOS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	24,45±4,36A	22,45±3,52A	25,44±5,49A	25,04±5,16A	25,04±5,16A	21,05±3,13A			
2	20,45±7,23A	25,95±12,19A	22,55±8,20A	30,43±5,97A	23,82±4,96A	25,94±8,37A	22,45±4,84A		
3	26,94±10,57A	27,34±7,71A	30,93±11,71A	26,94±10,30A	27,94±10,57A	36,92±11,81A	31,93±6,31A	25,44±7,60A	26,44±8,16A
4	27,44±2,63AB	29,43±4,37B	30,93±4,58B	26,94±3,49AB	30,43±6,42B	25,94±6,57AB	21,95±7,51A	25,44±7,60AB	29,33±3,33B
5	19,46±5,49AB	19,46±5,97AB	18,46±5,79AB	17,96±4,82A	20,95±6,13ABC	26,44±8,81ABC	27,43±4,85C	27,03±7,27BC	27,94±5,36C

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05).

Apêndice 14 – Valores médios e respectivos desvios-padrão das atividades séricas de gama glutamiltransferase dos cães dos grupos G1 (25°C), G2 (4°C), G3 (-4°C), G4 (-20°C) e G5 (-70°C) nos diferentes momentos de conservação das amostras (M1 a M9), Jaboticabal (SP), 2007.

GAMA GLUTAMIL TRANSFERASE (U/L)									
GRUPOS	MOMENTOS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	14,10±3,38A	16,90±3,38A	18,30±2,21A	18,30±2,21A	15,00±5,54A				
2	15,70±5,56B	13,70±7,30AB	16,80±6,14B	19,40±6,33B	17,00±1,45B	16,40±5,48B	7,30±4,11A		
3	9,00±3,16AB	11,0±5,08AB	18,30±2,21C	13,50±4,22B	10,40±6,00AB	10,30±4,27AB	10,60±7,97AB	13,00±5,72B	5,40±1,90A
4	7,20±3,79A	9,00±3,16A	11,00±5,08AB	9,10±5,30A	11,80±7,05AB	15,70±5,56B	9,20±5,49AB	6,00±0,00A	6,00±0,00A
5	14,20±4,52B	10,90±4,01AB	15,60±4,72B	17,00±4,45C	6,60±3,41A	18,30±2,21C	11,40±1,90AB	6,60±1,90A	6,60±3,41A

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0,05).

