

A concentração de hemoglobina bovina é viável em sangue armazenado por até 14 dias

Bovine hemoglobin concentration is assayable in blood stored for up to 14 days

Wisley Iemanjá Malaquias dos Santos, Angela Patricia Medeiros Veiga* e André Lucio Fontana Goetten

Recebido em 01/08/2016 / Aceito em 14/09/2016

RESUMO

A hemoglobina é uma proteína presente nos eritrócitos, que realiza o transporte dos gases respiratórios. Exames laboratoriais mensuram esta proteína, sendo uma importante variável para a avaliação de saúde em animais domésticos. O protocolo do teste da determinação da concentração de hemoglobina pelo método ciano-metemoglobina descreve que sua mensuração pode ser realizada em um prazo de até sete dias, porém a rotina laboratorial mostra redução nos valores antes do período proposto. O objetivo deste trabalho foi avaliar qual o real prazo máximo para mensurar as concentrações de hemoglobina em bovinos sem que haja alterações em seus valores. Foram utilizados 19 bovinos sadios, machos e fêmeas, os quais foram submetidos a colheita de sangue venoso por meio de punção da jugular externa. As amostras foram analisadas por meio de colorimetria manual. As análises foram feitas a cada 24 horas no intervalo de 14 dias. Durante este intervalo as amostras foram mantidas sob refrigeração. A variação da concentração de hemoglobina foi de 8,546 a 22,456 g/dL. Em comparação aos valores basais, não houve significativas alterações na concentração de hemoglobina durante o intervalo de tempo investigado, indicando que sua mensuração pode ser realizada em até 14 dias pós colheita.

PALAVRAS-CHAVE: hematologia, método de dosagem, índice hematimétrico.

ABSTRACT

Hemoglobin is a protein present in erythrocytes, used in the transport of respiratory gases. This protein can be measured through laboratory tests, thus it is an important tool in health assessment of domestic

animals. The hemoglobin test protocol by cyano-met hemoglobin method describes that its measurement can be made during a period of up to seven days, but the laboratorial routine shows a reduction in the values before this period. The objective of this study was to determine what the actual maximum period to measure hemoglobin levels in cattle is without changes. Nineteen healthy bovine animals were used, males and females, who underwent venous blood collection via jugular puncture. Samples were analyzed by manual colorimetric. Analyses were made every 24 hours during a fourteen days-interval. During this interval the samples were kept under refrigeration. Hemoglobin levels varied from 8.546 to 22.456 g/dL. Compared to baseline, there were no significant changes in hemoglobin concentration during the investigated period of time, indicating that its measurement can be performed after 14 days of storage.

KEYWORDS: hematology, methodology, hematimetric index.

A hemoglobina é uma proteína presente nos eritrócitos, que constitui aproximadamente 35% de seu peso. É composta por quatro grupos heme com uma molécula de globina, em que cada grupo heme contém um átomo de ferro (REECE 2008).

O sangue carrega os nutrientes para o corpo e recolhe as substâncias secretadas pelas células, conduzindo-as, posteriormente, para fora do organismo. A hemoglobina é o pigmento responsável por transportar o oxigênio, levando-o dos pulmões aos demais tecidos (NUNES et al. 2002). Para ser transportado, o oxigênio liga-se frouxamente ao átomo de ferro, de modo que essa combinação é com grande facilidade reversível (GUYTON & HALL 2011). A função eritrocitária de conduzir o

oxigênio depende da concentração de ferro presente no organismo. A deficiência de ferro pode ser uma das causas da anemia. A diminuição da oferta de ferro à medula óssea, promove a diminuição da síntese e da concentração de hemoglobina nos precursores eritrocitários, causando prejuízos funcionais ao organismo, tanto mais graves quanto maior for essa redução (ANTUNES 2010).

A quantidade de hemoglobina presente em uma amostra demonstra a capacidade sanguínea em transportar oxigênio para os tecidos e órgãos, assim como transportar o dióxido de carbono para os pulmões, onde é eliminado. Valores baixos de hemoglobina indicam possíveis falhas no funcionamento de glóbulos vermelhos do sangue e podem, desta forma, ser indicativo de doença. Caso a mensuração da concentração da hemoglobina esteja em baixos níveis, constata-se anemia (WILSON 2008).

Segundo o protocolo de LATNER & SCHAWARTZ (1983), a determinação colorimétrica de hemoglobina pode ser aferida no prazo de até uma semana, entretanto, relata-se uma variação nestes valores (KANEKO et al. 2008). A hemoglobina pode ser avaliada através de métodos manuais ou automatizados. Manualmente, a hemoglobina é determinada colorimetricamente por meio do método da cianometemoglobina modificado, que está disponível comercialmente, e é considerado um método eficaz e estável (FELDMAN 2014).

O objetivo do presente trabalho foi averiguar o real prazo máximo para mensurar as concentrações de hemoglobina em bovinos sem que haja alterações em seus níveis. Realizando-se testes mais acurados, evitam-se prejuízos financeiros, assim como previnem-se erros de diagnóstico, os quais podem acarretar em tratamentos inapropriados ou desnecessários ao animal.

Foram avaliados, no presente estudo, 19 bovinos adultos hípidos, machos e fêmeas, provenientes de propriedade particular, localizada na cidade de Curitiba, no planalto serrano catarinense. A inclusão dos animais no experimento foi realizada mediante consentimento do proprietário. As amostras de sangue foram colhidas por venopunção em sistema a vácuo em tubos com EDTA contendo sal potássico a 10%. Após a colheita, os tubos foram mantidos sob refrigeração até a chegada ao laboratório. O processamento das amostras ocorreu imediatamente após o retorno da propriedade e a cada 24 horas, por

um período de 14 dias, no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), campus Curitibanos. Durante este tempo, as amostras foram mantidas sob refrigeração.

A hemoglobina foi determinada por meio de colorimetria (Bioclin, Belo Horizonte, MG), com leitura manual em espectrofotômetro a 540 nm. A técnica baseia-se na oxidação do átomo de Ferro (Ferro II) da molécula de hemoglobina pelo ferricianeto de potássio em pH fracamente alcalino, formando a meta-hemoglobina, que é convertida em cianometemoglobina após a reação com o cianeto de potássio. A coloração avermelhada é proporcional à concentração de hemoglobina presente na amostra (LATNER & SCHAWARTZ 1983).

A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk (PETRIE & WATSON 2009). Os dados que não apresentaram distribuição normal sofreram transformação logarítmica. A análise de variância foi realizada com o JMP software (SAS Institute) e a comparação de médias foi realizada pelo teste T-Student (PETRIE & WATSON 2009).

O resultado da análise da concentração de hemoglobina variou de 8,546 a 22,456 g/dL durante o período de 14 dias, sendo que os maiores valores de hemoglobina foram observados no primeiro dia (Figura 1). Durante os 14 dias, a concentração de hemoglobina sofreu leves alterações, tanto pra mais quanto para menos, entretanto essa variação foi pequena e não significativa ($p > 0,05$).

DALANHOL et al. (2010) avaliaram as possíveis alterações no hemograma em até 72 horas, quando foi possível observar que nas primeiras três horas pós coleta houve uma queda em todos as variáveis, entretanto semelhantemente ao nosso estudo, nos demais tempos, houve pouca variação entre as médias, sem diferença estatística. De acordo com os autores supracitados, a concentração de hemoglobina não sofre alteração após vários dias de armazenamento, desde que a amostra não seja infectada, o que se nota pela turvação ou mudança de cor.

BIAGINI et al. (2014) observaram aumento da concentração de hemoglobina livre, assim como do índice de hemólise no 14º dia de estocagem de sangue suíno. O risco de hemólise é algo corriqueiro na prática laboratorial, e nem sempre ocorre devido a eventos patológicos. O armazenamento a baixas temperaturas, mas acima da temperatura de congelamento, pode, da mesma forma, induzir à hemólise (SBPC/ML 2010).

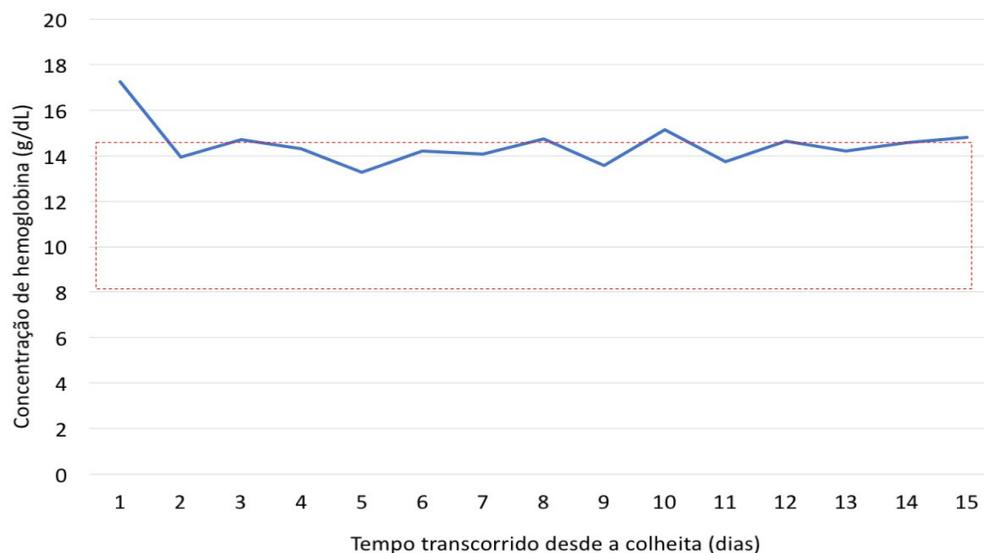


Figura 1 - Valores médios da concentração de hemoglobina em bovinos sadios avaliados durante 14 dias após a colheita de sangue. A área pontilhada corresponde aos valores de referência segundo JAIN (1993).

Figure 1 - Mean values of hemoglobin concentration in healthy cattle evaluated during 14 days after blood collection. The dotted area corresponds to reference range according to JAIN (1993).

Não foi possível verificar hemólise das amostras utilizadas neste trabalho, visto que as mesmas foram armazenadas em um local onde houve pouca variação de temperatura. Além disso, outro fator que difere do trabalho citado anteriormente, é que as hemácias de suínos sofrem lise em uma taxa mais alta que as de bovinos (IHEDIOHA & ONWUBUCHE 2007).

Em concordância com o trabalho realizado por IHEDIOHA & ONWUBUCHE (2007), no qual foi investigado a presença de modificações hematológicas em amostras mantidas em temperatura de 5 °C e 30 °C, não houve alterações na concentração de hemoglobina devido à estocagem, concluindo que o aumento de volume celular e a hemólise durante o estoque não afetam significativamente os valores de hemoglobina.

Em conclusão, não houve alteração na concentração de hemoglobina em sangue bovino estocado por até 14 dias, indicando que pode ser realizada a mensuração até este período em sangue armazenado adequadamente.

REFERÊNCIAS

ANTUNES MS. 2010. Pesquisa clínica e etiológica de anemia em cães. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Rio de Janeiro: UFRRJ. 77p.
 BIAGINI S et al. 2014. In vitro and in vivo validation of stored swine erythrocyte viability to establish an experimental model of homologous red blood cell

transfusion. Revista Brasileira de Terapia Intensiva 26: 287-291.

DALANHOL M et al. 2010. Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia 32: 16-22.

FELDMAN BF. 2004. Laboratory Urinalysis and Hematology for the Small Animal Practitioner. Available at: <http://www.veterinarywire.com>. Acesso em: 10 mar. 2015.

GUYTON AC & HALL JE. 2011. Tratado de Fisiologia Médica. 12.ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 1116p.

IHEDIOHA JI & ONWUBUCHE RC. 2007. Artfactualchanges in PCV, hemoglobin concentration, and cell counts in bovine, caprine, and porcine blood stored at room and refrigerator temperatures. Veterinary Clinical Pathology 36: 60-63.

JAIN NC. 1993. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger. 417p.

KANEKO JJ et al. 2008. Clinical Biochemistry of domestic animals. 6.ed. London: Academic Press. 902p.

LATNER AL & SCHWARTZ MK. (Eds). 1983. Advances in clinical chemistry. vol.23. London: Academic Press. 345p.

NUNES AS et al. 2002. Efeito de Dois Regimes de Suplementação Alimentar e Dois Sistemas de Produção, nos Constituintes Sanguíneos de Cabras Saanen Durante a Lactação. Revista Brasileira de Zootecnia 31: 1245-1250.

PETRIE A & WATSON P. 2009. Estatística em Ciência Animal e Veterinária. 2.ed. São Paulo: Roca. 248p.

REECE WO. 2008. Anatomia Funcional e Fisiologia dos Animais Domésticos. 3.ed. São Paulo: Roca. 480p.

SBPC/ML - Sociedade Brasileira De Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial. 2010. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso. Available at: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320090814145042.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2016.

WILSON DD. 2008. Manual of Laboratory & Diagnostic Tests. USA: McGraw-Hill's. 681p.