

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLINICA MEDICAS (2.<sup>a</sup> CADEIRA)  
Diretor: Prof. Dr. Paulo de Carvalho Pereira

## FATÓRES QUE INFLUEM NA DETERMINAÇÃO DOS VALÓRES PROTÉICOS DO SÔRO E PLASMA

(FACTORS INFLUENCING THE DETERMINATION OF THE PROTEIC  
VALUES OF BLOOD SERUM AND PLASMA)

LEONARDO MIRANDA DE ARAUJO \*  
Prof. Assistente

EDUARDO HARRY BIRGEL \*\*  
Prof. Assistente Doutor

PAULO DE CARVALHO PEREIRA \*\*\*  
Prof. Titular

CARLOS EDUARDO REICHMANN \*  
Instrutor

JOSÉ LUIZ D'ANGELINO \*\*\*\*  
Médico Veterinário

Vários são os processos de determinação das proteínas e suas frações como também, dos lipídeos totais do sôro e plasma sangüíneo; assim sendo, podemos supor que os resultados obtidos não sejam semelhantes. Esta disparidade pode resultar da conservação ou da qualidade da amostra (plasma ou sôro). Em se tratando, especificamente do plasma, as variações observadas podem depender do anticoagulante empregado. Afora isto, temos variações devidas aos métodos ou técnicas empregadas nos doseamentos.

Em vista disto julgamos ser chegado o momento de se estabelecerem normas que padronizem o material e os métodos usados nas análises bioquímicas dos constituintes orgânicos, devendo determinar fatores que permitam a comparabilidade dos resultados obtidos pelos diferentes métodos.

HOWE (1921) padroniza o fracionamento protéico sangüíneo substituindo, definitivamente o uso de sulfato de amônia pelo sulfato de sódio, tendo seus resultados confirmados por REINEK" e col. (1939).

- 
- \* Assistente de Patologia e Clínica Médicas de Ruminantes da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.
  - \*\* Prof. Assistente Doutor de Patologia e Clínica Médicas de Ruminantes da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.
  - \*\*\* Prof. Titular de Patologia e Clínica Médicas de Ruminantes da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.
  - \*\*\*\* Docente Voluntário.

TAYLOR e KEYS (1943) fazendo um estudo comparativo do fracionamento protéico do sêro por meios eletroforéticos e pelo sulfato de sódio, verificaram que o sobrenadante apresenta 5,2% mais de nitrogênio do que a indicada pela análise eletroforética. PETERMANN e col. (1947) confirmam estes resultados, observando que o teor de albumina nas dosagens feitas pelo método de HOWE é maior do que aquele obtido pela eletroforese, pois, pelo fracionamento salino, a fração albumina pode incluir as frações alfa 1 e alfa 2 globulinas.

MAJOR (1947) observa não haver equivalências no fracionamento salino e eletroforético, a não ser quando se faz a precipitação das globulinas com solução de sulfato de sódio a 26,8 g%.

GORNALL e col. (1949) adaptam a reação do biureto para estimar as frações protéicas do sêro separadas pelo método de HOWE modificado por KINGSLEY (1942) no qual as globulinas são precipitadas por uma solução de sulfato de sódio a 22,6 g% ou pelo sulfito de sódio a 21,0 g%. PONS MUZZO (1951), aconselha uma modificação do método de GORNALL e col. (1949) aumentando a concentração de sulfito de sódio para 26,9 g%, pois JAGER e col. (1950) e POPPER e col. (1950) encontraram valores de albumina semelhantes aos obtidos pela eletroforese.

Os efeitos de conservação do sêro sanguíneo para posteriores dosagens de proteínas, foram estudados por GORNALL e col. (1949), KOPP e ENGLERT (1961), WEHMEYER (1954) e BIRGEL e cols. (1963-64), não tendo sido salientados óbices a esta conservação durante 7 dias em geladeira.

A interferência de outros fatores na dosagem de proteínas nos líquidos orgânicos tem sido pouco estudada. GORNALL e col. (1949) salientam que o íon amônio é fator de distúrbio na reação do biureto, não aconselhando por isso o uso de oxalato de amônio como anticoagulante.

GORNALL e col. (1949) fazendo a separação das globulinas precipitadas da fração líquida contendo a albumina pelo uso de éter sulfúrico, dizem introduzir no resultado um erro de 3% devido a diluição da albumina. Visando eliminar esta causa de erro BACILA e col. (1962) recomendam a separação das frações protéicas através filtração com papel de filtro Whatmann 42.

Tendo em vista a deficiência do conhecimento dos inúmeros fatores que interferem nas dosagens bioquímicas de constituintes do sangue de ruminantes, estudam-se no presente trabalho, a influência da qualidade das amostras sanguíneas (sêro ou plasma) como também a interferência dos anticoagulantes nas determinações de proteínas e lipídeos totais: é feito um estudo das variações que ocorrem quando a separação das globulinas precipitadas se faz

pela adição de éter sulfúrico ou pela filtração em papel Whatmann 42; além disto, compara-se o resultado obtido para a fração albumina no sôro de caprinos, pelo método de GORNALL e col. (1949) com os obtidos através eletroforese.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi realizado com amostras sangüíneas dos principais ruminantes domésticos criados no Brasil (bovinos, ovinos e caprinos).

Visando verificar a influência dos anticoagulantes sôbre algumas dosagens realizadas no plasma sangüíneo colheu-se o sangue por punctura da jugular, sendo o mesmo recebido em frascos contendo os seguintes anticoagulantes: etileno diamina tetracética di-sódico (EDTA) (1 mg do sal para 1 ml de sangue); oxalato de sódio (1,5 mg do sal a 1,5% para 1 ml de sangue). Este anticoagulante, em outro grupo de amostras, foi utilizado na mesma proporção, após evaporar-se a água de dissolução; oxalato de potássio (2 mg do sal por ml de sangue); citrato de sódio (7,6 mg do sal para 1 ml de sangue); mistura de Heller e Paul, como recomenda KRACKE (1934), na proporção de 2,4 mg de oxalato de amônio e 1,6 mg de oxalato de potássio para 1 ml de sangue.

Para obtenção do sôro, o sangue era colhido utilizando-se a técnica usual, e a separação feita após a ocorrência de retração de coágulo.

Nas amostras obtidas fez-se a determinação de seus teôres de proteína total, albumina, globulinas e cálculo da relação albumina/globulinas através o método de GORNALL, já utilizado por BIRGEL (1967). A dosagem de gama globulina foi realizada pelo método de FRATTINI, já utilizado por BIRGEL (1967). Os lipídeos totais foram determinados através o método de KUNKEL e col., já utilizado por ARAUJO (1967).

Para evidenciar-se a influência da concentração da solução precipitante das globulinas no fracionamento salino das proteínas, fez-se a precipitação desta fração protéica usando-se soluções de sulfato de sódio a 21, 24 e 27 g% e sulfato de sódio a 22,6 g%.

Procurando verificar a influência do método de separação das globulinas fez-se esta separação ou pela edição de 3ml de éter sulfúrico e centrifugação ou através filtração em papel de filtro Whatmann 42. Fazendo-se a determinação da albumina no primeiro terço filtrado e na porção final dêste filtrado, observou-se o poder de retenção protéica do papel de filtro. Considerou-se para cálculo de proporcionalidade, o resultado obtido na fração final do filtrado como 100%.

A comparação dos resultados obtidos por eletroforese do soro sangüíneo de caprinos, feita em papel de filtro Whatmann nº 1, em aparelho Elphor, utilizando-se tampão de veronal acetato de pH 8,6 e fôrça iônica 0,08, seguindo, em linhas gerais, o método de GRASSMAN e HANNING (1954), serviu de base para comparar os resultados da albumina e gamaglobulina, obtidos nas mesmas amostras, respectivamente pelo método de GORNALL e col. e FRATTINI, como recomenda BIRGEL (1967).

#### RESULTADOS

Nas diferentes tabelas apresentadas, comparam-se os teóres lipoprotéicos obtidos através fracionamento salino ou eletroforético no soro e em plasma sangüíneo de ruminantes.

#### DISCUSSÃO

A influência do uso de anticoagulantes nas amostras sangüíneas destinadas a dosagem das proteínas plasmáticas foi salientada por GORNALL e cols. (1949). Pelo delineamento proposto a esta pesquisa, reafirma-se a observação dos citados autores, verificando que o teor de proteínas do soro se identifica àquêle do plasma obtido de amostras contendo oxalato de sódio (sêco) e EDTA.

O maior valor obtido no plasma se deve evidentemente ao seu conteúdo em fibrinogênio. A taxa de proteína total foi menor nas amostras colhidas com anticoagulantes líquidos, apesar da correção de volume e diluição estabelecida. A diferença observada nas amostras em que se usou o anticoagulante de HELLER e PAUL, se deve provàvelmente ao ion amônio, como já salientou GORNALL e col. (1949), que interfere na reação de biureto.

Os teóres de albumina no plasma, qualquer que seja o anticoagulante empregado, são menores do que os observados no respectivo soro; a única explicação que se tem para êste fato se liga a alterações da precipitação das frações protéicas pelas soluções salinas empregadas.

A fração globulina, por ser obtida no método de GORNALL e col. (1949) por método indireto, não serve para considerações mais profundas, e as variações dos resultados obtidos se relaciona ao que já salientamos para proteína total e albumina.

Os resultados obtidos nas dosagens de lipídeos totais e gama globulina, no plasma sangüíneo de ruminantes foram maiores do que aquêles observados no soro. O fato, para lipídeos totais, já foi salientado por BIRGEL e col. (1964) porém não evidenciado ainda para a fração gama globulina. A diferença observada de for-

TABELA I — Influência dos anticoagulantes sobre os teores de proteína total (em g por 100 ml) do plasma de ruminantes (Valor obtido no soro foi considerado 100%).

Espécie Animal	P L A S M A *							
	Soro	Edta	Oxalato de sódio líquido	Oxalato de sódio seco	Oxalato de potássio líquido	Líquido de Heller e Paul	Citrato de sódio	
Bovina	Média	7,46	7,63	7,36	7,53	7,43	7,1 — 7,9	7,16
	Variação	6,9 — 8,1	7,2 — 8,0	7,0 — 7,7	7,1 — 8,1	7,1 — 7,7	7,63	6,6 — 7,9
	%	100	102,3	98,6	100,9	99,6	102,3	95,9
Caprina	Média	5,86	6,06	5,76	6,06	5,70	6,16	5,40
	Variação	4,6 — 7,2	4,7 — 7,3	4,0 — 6,7	4,9 — 7,0	4,7 — 7,3	4,6 — 7,3	2,9 — 7,3
	%	100	103,4	98,2	103,4	97,2	105,1	92,1
Ovina	Média	6,6	6,46	5,73	6,36	6,43	6,8	5,73
	Variação	6,0 — 7,0	6,3 — 6,7	5,4 — 6,3	6,2 — 6,6	6,1 — 6,8	6,2 — 7,6	5,2 — 6,0
	%	100	97,8	86,8	96,4	97,5	103,0	86,8
Média	Média	6,64	6,72	6,28	6,65	6,50	6,86	6,09
	Variação	4,6 — 8,1	4,7 — 8,0	4,0 — 7,7	4,9 — 8,1	4,7 — 7,7	4,6 — 7,9	2,9 — 7,9
	%	100	101,2	94,5	100,1	97,9	103,3	91,7

\* Quando se usou anticoagulante em solução, a taxa protéica encontrada foi corrigida proporcionalmente.

TABELA II — Influência dos anticoagulantes sobre os teóres de albumina (em g por 100 ml) do plasma de ruminantes (Valor obtido no soro foi considerado 100%).

Espécie Animal	P L A S M A *							
	Soro	Edta	Oxalato de sódio líquido	Oxalato de sódio sêco	Oxalato de Potássio líquido	Líquido de Heller e Paul	Citrato de sódio	
Bovina	Média	2,53	2,33	2,3	2,3	2,27	2,7	1,87
	Variação	1,8 — 3,0	1,6 — 2,9	1,4 — 3,1	1,8 — 2,8	1,5 — 3,0	1,7 — 2,9	1,6 — 2,6
	%	100	92,9	90,1	90,9	89,7	106,7	72,1
Caprina	Média	3,03	2,66	3,23	2,76	3,2	2,77	2,8
	Variação	2,1 — 4,0	1,3 — 3,8	2,8 — 3,9	1,6 — 4,0	2,8 — 3,8	1,6 — 4,0	1,6 — 3,8
	%	100	87,8	106,5	91,1	105,2	91,4	90,2
Ovina	Média	3,6	2,93	2,66	2,96	2,87	3,07	2,53
	Variação	3,3 — 4,0	2,5 — 3,2	2,2 — 3,0	2,5 — 3,4	2,3 — 3,2	2,5 — 3,5	1,9 — 3,2
	%	100	81,4	73,9	82,2	79,7	85,2	70,2
Média geral	Média	3,05	2,64	2,73	2,68	2,78	2,84	2,40
	Variação	1,8 — 4,0	1,3 — 3,8	1,4 — 3,9	1,6 — 4,0	1,5 — 3,8	1,6 — 4,0	1,6 — 3,8
	%	100	86,5	89,4	87,9	91,1	93,1	78,6

\* Quando se usou anticoagulante em solução, a taxa protéica encontrada foi corrigida proporcionalmente.

TABELA III — Influência dos anticoagulantes sobre os teóres de globulinas (em g 100 ml) do plasma de ruminantes (Valor obtido no soro foi considerado 100%).

Espécie Animal	P L A S M A *							
	Soro	Edta	Oxalato de sódio líquido	Oxalato de sódio seco	Oxalato de Potássio líquido	Líquido de Heller e Paul	Citrato de sódio	
Bovina	Média	4,9	5,3	5,1	5,2	5,2	5,3	4,9
	Variação	4,4 — 5,3	4,8 — 5,6	4,3 — 5,6	4,6 — 5,8	4,7 — 5,2	5,0 — 5,4	4,0 — 5,5
	%	100	108,1	104,0	106,1	106,1	106,1	100
Caprina	Média	2,8	3,4	2,5	3,3	2,5	3,4	2,6
	Variação	1,8 — 4,2	2,4 — 4,4	1,2 — 3,7	2,3 — 4,3	1,3 — 4,3	2,6 — 4,6	1,3 — 4,3
	%	100	121,4	89,3	117,8	89,3	121,4	92,8
Ovina	Média	3,0	3,5	3,1	3,4	3,6	3,7	3,2
	Variação	2,5 — 3,7	3,1 — 4,2	2,6 — 3,3	2,9 — 4,1	3,0 — 4,1	3,0 — 4,1	2,7 — 4,1
	%	100	116,6	103,3	113,3	120,0	123,3	106,6
Média geral	Média	3,6	4,1	3,6	3,9	3,8	3,8	3,6
	Variação	1,8 — 5,3	2,4 — 5,6	1,2 — 5,6	2,3 — 5,8	1,3 — 5,2	2,6 — 5,4	1,3 — 5,5
	%	100	113,9	100,0	108,3	105,5	105,5	100,0

\* Quando se usou anticoagulante em solução, a taxa protéica encontrada foi corrigida proporcionalmente.

TABELA IV — Influência dos anticoagulantes sobre os teores de lipídeos (em mg%) do plasma de ruminantes (Valor obtido no soro foi considerado 100%).

Espécie Animal	Soro	P L A S M A *						
		Edta	Oxalato de sódio líquido	Oxalato de sódio seco	Oxalato de Potássio líquido	Líquido de Heller e Paul	Citrato de sódio	
Bovina	Variação	413	829	846	834	798	851	610
	Média	377 — 476	791 — 856	806 — 894	789 — 857	791 — 879	805 — 895	388 — 786
	%	100	200,7	204,8	201,9	190,7	206,0	147,6
Caprina	Média	406	705	702	678	642	637	554
	Variação	357 — 447	641 — 745	659 — 737	612 — 714	569 — 735	480 — 738	488 — 600
	%	100	170,3	172,9	166,8	158,1	157,1	136,4
Ovina	Média	337	653	614	541	584	588	498
	Variação	308 — 380	644 — 661	602 — 622	476 — 573	579 — 595	538 — 637	468 — 522
	%	100	193,7	182,1	160,5	173,2	174,4	148,0
Média geral	Média	385	729	727	684	675	692	554
	Variação	308 — 476	641 — 856	602 — 894	476 — 857	579 — 879	480 — 895	388 — 786
	%	100	189,3	188,8	177,7	175,3	179,7	143,8

\* Quando se usou anticoagulante em solução, a taxa protéica encontrada foi corrigida proporcionalmente.

TABELA V — Influência dos anticoagulantes sobre os teores de gama globulina (em g por 100 ml) do plasma de ruminantes (Valor obtido no soro foi considerado 100%).

Espécie Animal	P L A S M A *							
	geral	Edta	Oxalato de sódio líquido	Oxalato de sódio seco	Oxalato de Potássio líquido	Líquido de Heller e Paul	Citrato de sódio	
Bovina		2,00	1,57	2,17	1,97	2,37	2,07	2,23
	Variação	1,8 — 2,1	1,8 — 2,0	2,1 — 2,3	1,8 — 2,1	1,9 — 2,2	1,9 — 2,2	2,0 — 2,5
	%	100	78,5	108,5	98,5	118,5	103,5	111,5
Caprina	Média	1,83	1,83	2,03	1,9	1,83	2,2	1,9
	Variação	1,7 — 1,9	1,7 — 1,9	2,0 — 2,1	1,9 — 1,9	1,8 — 1,9	1,9 — 2,7	1,8 — 2,1
	%	100	100	110,9	103,9	100	120,3	103,8
Ovina	Média	1,66	1,53	1,63	1,7	1,77	1,77	1,67
	Variação	1,6 — 1,8	1,5 — 1,6	1,4 — 1,8	1,6 — 1,8	1,6 — 1,9	1,6 — 1,9	1,4 — 1,8
	%	100	92,1	98,1	102,4	106,6	106,6	100,6
Média Média	Média	1,83	1,65	1,98	1,86	1,99	2,01	1,93
	Variação	1,6 — 2,1	1,5 — 2,0	1,4 — 2,3	1,6 — 2,1	1,6 — 2,2	1,6 — 2,7	1,4 — 2,5
	%	100	90,1	108,1	101,6	108,7	109,8	105,4

\* Quando se usou anticoagulante em solução, a taxa protéica encontrada foi corrigida proporcionalmente.

TABELA VI — Influência das diferentes concentrações de sulfito de sódio e sulfato de sódio a 22,6% sobre os teores de albumina (em g por 100 ml) do soro de ruminantes.

Espécie Animal		Sulfito de Sódio 27%			Sulfito de Sódio 24%			Sulfito de Sódio 21%			Sulfato de Sódio 22,6%		
		1º Filtrado	2º Filtrado	Éter Sulfúrico	1º Filtrado	2º Filtrado	Éter Sulfúrico	1º Filtrado	2º Filtrado	Éter Sulfúrico		2º Filtrado	Éter Sulfúrico
Bovina	Média	2,0	2,2	2,1	2,3	2,6	2,4	2,3	2,4	2,2	2,5	2,7	2,5
	Variacão	1,3-2,7	1,8-2,8	1,5-2,8	1,8-2,8	2,2-3,1	1,7-3,0	2,0-2,8	2,1-2,8	2,0-2,6	1,9-3,0	2,4-3,0	2,1-3,0
	%	90,9	100	95,4	88,4	100	92,3	95,8	100	91,6	92,5	100	92,5
Caprina	Média	2,5	2,6	2,4	3,1	3,0	3,0	3,5	3,2	3,0	3,9	3,8	3,8
	Variacão	2,3-2,6	2,3-3,2	2,3-3,2	2,5-3,5	2,8-3,5	2,8-3,2	3,0-4,0	2,8-3,6	2,9-3,0	3,5-4,5	3,5-4,0	3,3-4,4
	%	96,1	100	92,3	103,3	100	100	109,3	100	93,7	102,6	100	100
Ovina	Média	2,9	2,9	2,9	3,5	3,5	3,5	3,6	3,5	3,5	3,9	3,9	3,6
	Variacão	2,5-3,3	2,8-3,0	2,8-3,0	2,8-3,8	3,3-3,8	3,0-3,8	2,9-4,0	2,8-3,8	2,8-3,8	3,3-4,3	3,3-4,3	3,3-3,8
	%	100	100	100	100	100	100	102,2	100	100	100	100	92,3
Média geral	Média	2,5	2,6	2,5	3,0	3,0	3,0	3,1	3,0	2,9	3,4	3,5	3,3
	Variacão	1,3-3,3	1,8-3,2	1,5-3,0	1,8-3,8	2,2-3,8	1,7-3,8	2,0-4,0	2,1-3,8	2,0-3,8	1,9-4,5	2,4-4,3	2,1-4,4
	%	95,6	100	95,9	97,2	100	97,4	102,4	100	95,1	98,4	100	94,9

TABELA VII — Influência das diferentes concentrações de sulfito de sódio e do sulfato de sódio a 22,6% sobre os teóres de globulinas (em g por 100 ml) do soro de ruminantes.

Espécie Animal		Sulfito de Sódio 27%			Sulfito de Sódio 24%			Sulfito de Sódio 21%			Sulfato de Sódio 22,6%		
		1º Filtrado	2º Filtrado	Éter Sulfúrico	1º Filtrado	2º Filtrado	Éter Sulfúrico	1º Filtrado	2º Filtrado	Éter Sulfúrico	1º Filtrado	2º Filtrado	Éter Sulfúrico
Bovina	Média	5,7	5,5	5,5	5,4	5,0	5,2	4,7	4,6	4,8	4,6	4,2	4,5
	Variação	5,2-6,3	5,1-5,8	5,1-6,1	4,8-5,9	4,5-5,5	4,6-6,0	4,2-5,0	4,2-5,0	4,4-5,0	3,6-5,2	3,4-4,9	3,6-5,0
	%	106,3	100	100	108,0	100	104,0	102,1	100	104,3	109,5	100	107,1
Caprina	Média	3,3	3,1	3,3	3,1	3,2	3,3	2,6	2,7	3,1	2,7	2,9	2,8
	Variação	3,0-3,9	2,1-3,9	3,0-3,9	2,8-3,8	2,5-4,3	2,5-4,2	2,2-3,2	2,5-3,1	2,4-3,7	2,4-3,3	2,5-3,3	2,5-3,5
	%	106,4	100	106,4	96,8	100	103,1	96,2	100	114,8	93,1	100	96,5
Ovina	Média	3,0	3,0	3,0	2,6	2,5	2,5	2,5	2,6	2,6	1,9	1,9	1,8
	Variação	2,8-3,1	2,8-3,1	2,8-3,1	2,3-3,0	1,8-3,0	2,3-3,0	2,3-2,6	2,5-2,6	2,5-2,6	1,8-2,0	1,5-2,3	2,0-2,5
	%	100	100	100	104	100	100	96,1	100	100	100	100	94,7
Média geral	Média	4,0	3,9	3,9	3,7	3,6	3,7	3,3	3,3	3,5	3,1	3,0	3,0
	Variação	3,0-5,7	3,0-5,5	3,0-5,5	2,6-5,4	2,5-5,0	2,5-5,2	2,5-4,7	2,6-4,6	2,6-4,8	1,9-4,6	1,9-4,2	1,9-4,2
	%	104,2	100	103,1	102,9	100	102,4	98,1	100	106,4	100,9	100	99,4

TABELA VIII — Teóres de albumina e gama globulina (em g por 100 ml) obtidas por electroforese, comparando-se os valores obtidos com os métodos de Gornall e Frattini, em 30 amostras.

Amostra nº	ALBUMINA g%		GAMA GLOBULINA g%	
	Electroforese	Gornall e cols. Sulfito a 27%	Electroforese	Frattini
1	1,61	1,4	2,78	1,7
2	2,25	2,0	2,25	1,4
3	1,86	1,8	2,72	1,6
4	2,24	1,9	2,61	1,7
5	1,98	2,2	2,09	1,4
6	2,96	3,0	1,69	1,1
7	1,95	1,6	2,78	1,6
8	1,82	1,4	2,41	1,6
9	2,31	2,0	2,38	1,4
10	2,00	1,8	3,32	1,6
11	1,94	1,9	2,72	1,6
12	1,70	1,4	3,90	2,2
13	2,49	2,3	2,18	1,2
14	1,59	1,1	3,81	1,9
15	1,18	1,8	3,78	2,0
16	2,13	1,9	2,82	1,4
17	1,68	1,4	2,27	1,5
18	2,12	2,0	4,83	2,0
19	2,26	2,1	3,87	1,9
20	1,92	1,7	5,54	1,9
21	1,97	1,8	5,06	2,0
22	2,07	2,0	2,99	1,7
23	2,07	1,6	4,40	1,9
24	2,16	1,9	4,48	2,3
25	2,32	2,2	3,02	1,9
26	1,89	1,6	4,61	2,2
27	1,62	1,6	3,41	2,0
28	2,22	1,5	4,63	2,4
29	1,72	1,5	4,90	2,2
30	1,89	1,9	4,66	
Média	1,96	1,81	3,43	1,62
Varição	1,18-2,96	1,1-2,2	1,69-5,54	1,1-2,4
Diferença absoluta	—	0,15	—	1,81
Em %	—	7,65%	—	52,77%

ma mais acentuada para os lipídeos totais talvez se relacione a modificações de turvação determinadas pelos anticoagulantes. Sendo os métodos de KUNKEL e col e FRATTINI, métodos turbidimétricos, qualquer modificação na turvação dos elementos citados pode alterar de forma variável os resultados obtidos.

GORNALL e cols. (1949), quando estabeleceram seu método de fracionamento e doseamento de proteínas sanguíneas, salientaram a importância do método de separação das globulinas para a determinação da albumina e evidenciaram que a separação pelo éter sulfúrico introduz erro de 3% no processo, devido a diluição da albumina.

Pelo planejamento proposto a este experimento pode-se verificar que qualquer que seja a solução salina usada, e independentemente da sua concentração, os resultados obtidos no filtrado inicial, que contém a fração albumina ou na amostra separada pelo éter sulfúrico, são 2 a 5% menores do que o obtido no filtrado final.

O menor teor de albumina obtido na amostra cujas globulinas foram separadas pelo éter sulfúrico, é causada por diluição, como já salientou GORNALL e col. (1949). A menor taxa observada no filtrado inicial, provavelmente se deve a não saturação rápida do papel de filtro Whatmann 42, de modo que parte da albumina é retida pelo mesmo e só a partir de sua saturação, obtida após filtrar aproximadamente 5 ml, deixará de reter esta fração protéica.

TAYLOR e KEYS (1943), PETERMANN e col. (1947), MAJOUR (1947), já evidenciaram discrepâncias observadas entre os resultados obtidos no fracionamento eletroforético e salino das proteínas. Devido a este fato MAJOUR (1947), JAGER e col. (1950) e POPPER e col. (1950), recomendam a precipitação das globulinas com soluções salinas a 26,8 g%. Pelo que evidenciaram os autores citados, podemos deduzir que a comparabilidade dos resultados obtidos no fracionamento protéico, só poderá ser feita se estabelecida definitivamente a influência da concentração dos precipitantes. O sulfito de sódio a 27 g%, determina precipitação intensa das globulinas e os resultados assim obtidos foram 13% menores do que aqueles verificados nas frações precipitadas com estes sal em concentrações mais baixas, a 21 e 24 g%.

Quando se faz a precipitação das globulinas com o sulfato de sódio a 22,6%, a diferença é mais evidente; o resultado da fração de albumina assim obtida é aproximadamente 24% maior do que o verificado quando a precipitação é feita com o sulfito de sódio a 27 g%. Este maior resultado, obtido a partir da precipitação com sulfato de sódio, segundo MAJOUR (1947) se deve a inclusão das frações alfa<sub>1</sub> e alfa<sub>2</sub> globulinas na fração albumina.

Evidentemente, no doseamento das globulinas precipitadas por soluções salinas em diferentes concentrações, os resultados foram

inversos, obtendo-se maiores teôres nas frações precipitadas com soluções mais concentradas.

Uma vez estabelecido que para dosagem da fração albumina do sôro sangüíneo de ruminantes, deve-se precipitar as globulinas com soluções de sulfito de sódio a 27%, comparamos os resultados assim obtidos para a fração albumina pelo fracionamento salino com os verificados pelo fracionamento do sôro sangüíneo de caprinos. Os resultados foram comparáveis, sendo no fracionamento eletroforético 7,65% maiores do que os obtidos através meios químicos. Os resultados são semelhantes aos obtidos por MAJOR (1947), JAGER e col. (1950) e POPPER e col. (1950), em outras espécies.

Os valores obtidos pelo método turbidimétrico de FRATTINI para os teôres de gama globulina do sôro de caprinos, não podem ser comparados àquêles obtidos pela eletroforese, pois êstes são 52,77% maiores do que aquêles obtidos pelo método turbidimétrico.

#### CONCLUSÕES

Os resultados obtidos para as diferentes frações protéicas do sangue de ruminantes e as comparações efetuadas entre a influência do uso de diferentes anticoagulantes nos permitem as seguintes conclusões:

- 1 — O teor de proteínas séricas é idêntico àquêle do plasma obtido de amostras contendo oxalato de sódio (sêco) e o EDTA.
- 2 — A taxa de proteína total foi menor nas amostras colhidas com anticoagulantes líquidos, apesar da correção de volume e da diluição estabelecida.
- 3 — A diferença observada nas amostras em que se usou o anticoagulante de HELLER e PAUL, provàvelmente é devida ao uso do oxalato de amônio, pois como salienta GORNALL e col. (1949) o íon amônio é fator de distúrbio na reação do biureto.
- 4 — Os teôres de albumina plasmática, qualquer que seja o anticoagulante empregado, são menores do que os teôres séricos, talvez isto aconteça devido a alterações da precipitação das frações protéicas pelas soluções salinas empregadas.
- 5 — Os resultados obtidos nas dosagens de lipídeos totais e gama globulina no plasma sangüíneo de ruminantes foram maiores do que aquêles observados no sôro.

- 6 — Qualquer que seja a solução salina usada, e independentemente da sua concentração, os resultados obtidos no filtrado inicial, que contém a fração albumina ou na amostra separada pelo éter sulfúrico, são 2 a 5% menores do que o obtido no filtrado final.
- 7 — O sulfito de sódio a 27 g%, determina precipitação intensa das globulinas e os resultados obtidos foram 13% menores do que aqueles verificados nas frações precipitadas com este sal em concentrações baixas, a 21 e 24 g%.
- 8 — Na precipitação das globulinas pelo sulfato de sódio a 22,6 g% a fração albumina é aproximadamente 24% maior do que aquela obtida quando a precipitação é feita com o sulfito de sódio a 27%; logicamente os resultados para as globulinas serão inversos, sendo maiores os teóres nas frações precipitadas com soluções mais concentradas.
- 9 — O fracionamento eletroforético permite a obtenção de um teor protéico 7,65% maior do que o obtido pelo fracionamento salino.
- 10 — O fracionamento eletroforético apresenta teóres de gama globulina 52,77% maior do que o obtido pelo método turbidimétrico de FRATTINI, sendo portanto preferível para essa dosagem.

#### RESUMO

Os AA estudam a influência de anticoagulantes nas amostras sanguíneas para a dosagem das proteínas plasmáticas e suas frações, usando oxalato de sódio em solução e sêco, oxalato de potássio em solução, líquido de HELLER e PAUL, citrato de sódio e etileno diamina tetracética di-sódico (EDTA).

Estudam a influência dos mesmos anticoagulantes na determinação dos teóres de lipídeos totais e gama globulina.

É focalizada a influência das diferentes concentrações de sulfito de sódio e sulfato de sódio usadas no fracionamento das proteínas, assim como a separação das globulinas nas concentrações de 21%, 24% e 27% e sulfato de sódio a 22,6%.

Comparam os resultados obtidos na dosagem de albumina feita por eletroforese e pelo método de GORNALL e col., assim como a dosagem de gama globulina obtida pela eletroforese e pelo método turbidimétrico de FRATTINI.

Apresentam 8 tabelas com os resultados de suas observações, discutem esses resultados e apresentam suas conclusões.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos Profs. Drs. Sylvio Ferri e Luiz Octávio Me-deiros, da Disciplina de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, pela valiosa colaboração nas dosagens de proteínas e suas frações através o método eletroforético em papel.

## SUMMARY

The authors study the influence of anticoagulants in blood samples taken for dosage of plasmatic proteins and their fractions, using sodium oxalate, in dry form and in solution, potassium oxalate in solution, HELLER and PAUL'S liquid, sodium citrate and EDTA.

They study the influence of the same anticoagulants listed above in the determination of the total lipidic content and gamma-globulin.

The influence of different concentrations of sodium sulphite and sodium sulphate used in the fractionization of proteins is emphasized, as well as the separation of globulins by filtration or by sulphuric ether. The authors used sodium sulphite in the concentrations of 21%, 24%, 27% and sodium sulphate at 22,6%.

They compare the results obtained in the dosage of albumin done by electrophoresis and by the method of GORNALL et al., as well as the dosage of gamma-globulin obtained by electrophoresis and by the FRATTINI'S turbidimetric method.

The authors present 8 tables with the results of their observations, discuss these results and present their conclusions.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, L. M. — Contribuição à hematologia dos caprinos (*Capra hircus*), criados no Estado de São Paulo. Determinação dos teores séricos de lipídeos totais em caprinos normais. Influências de fatores raciais, alimentares, etários e sexuais. Tese (M. S.) Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, 1967.
- BACILA, M. e col. — Técnicas atualizadas de bioquímica clínica. Curitiba., Conselho de Pesquisas da Universidade do Paraná, 1962.
- BIRGEL, E. H.; PEREIRA, P. C. & LAMOUNIER, R. D. — Notas sobre a conservação de plasma e soro de bovinos para posterior dosagem de proteína total, albumina, globulinas e cálculo da relação albumina/globulinas. *Rev. Fac. Med. vet.*, S. Paulo, 7:264-287, 1963/64.
- BIRGEL, E. H.; PEREIRA, P. C.; AMARAL, V. & MORAES BARROS, H. — Diferenças observadas entre a taxa de lipídeos totais do plasma e do soro de bovinos. *Arq. Inst. biol.*, S. Paulo, 31:17-20, 1964.

- BIRGEL, E. H. — Contribuição à hematologia de caprinos (*Capra hircus*), criados no Estado de São Paulo. Determinação dos teóres de proteínas séricas e plasmáticas em cabras normais. Influências de fatores raciais, alimentares e etários. Tese (M. S.), Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, 1967.
- GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J. & DAVID, M. M. — Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. biol. Chem.* 117:751-761, 1949.
- GRASSMANN, W. & HANNING, K. — In Cramer, F., editor: Paper chromatography. New York, The Macmillan Company, 1954.
- HOWE, P. E. — The use of Sodium Sulfate as the Globulin Precipitant in the determination of Protein in Blood. *J. biol. Chem.*, 49:93-107, 1921.
- HOWE, P. E. — The determination of protein in blood. A micro method. *J. biol. Chem.*, 49:109-113, 1921.
- JAGER e col. — *J. Lab. Clin. Med.*, 35:76, 1950 — cit. PONS MUZZO, J. — 1951.
- KINGSLEY, G. R. — *J. Lab. Clin. Med.*, 27:840, 1942 — cit. GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J. & DAVID, M. M., 1949.
- KOPP, Chl. & ENGLERT, H. K. — Die Proteinfractionen des Rinder — und Schweineserums in Abhängigkeit von Entnahmezeit und Aufbewahrungstemperatur. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, Berlin, 74(4):61-64, 1961.
- KRACKER, R. — Doenças do sangue e atlas de hematologia. Rio de Janeiro, Editora Guanabara, 1943.
- MAJOOR, C. L. H. — The possibility of detecting individual proteins in blood serum by differentiation of solubility curves in concentrate sodium sulfate solutions. II. Comparison of solubility curves with results of electrophoresis experiments. *J. biol. Chem.* 169:583-594, 1947.
- PETERMANN, M. L.; YOUNG, V. F. & HOGNESS, K. R. — A comparison of the Howe and the electrophoretic methods for the determination of plasma albumin. *J. biol. Chem.* 169:379-387, 1947.
- PONS MUZZO, J. — Las proteínas del suero en los animales domesticos. II. Proteinemia del carnero, caballo y perro. *Rev. Fac. Med. vet.*, Lima, 6:171-183, 1951.
- POPPER e col. — *Am. J. Clin. Path.*, 20:530, 1950 — cit. PONS MUZZO, J. — 1951.
- REINEKE, E. P.; PETERSON, V. E. & TURNER, C. W. — The partition of the serum globulins of the dairy goat. *J. biol. Chem.* 128(1):1-7, 1939.
- TAYLOR, H. L. & KEYS, A. — Fractionation of normal serum proteins by the electrophoretic and sodium sulfate methods. *J. biol. Chem.*, 143:379-381, 1943.
- WEHMEYER, P. — Concentration of Plasma Proteins in the Ox: I. individual differences. *Nord. Vet. Med.*, 6:717-736, 1954.