

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E CLÍNICA MÉDICAS (2a. cadeira)

DIRETOR: Prof. Dr. Romeu Diniz Lamounier

**NOTAS SÔBRE A CONSERVAÇÃO DE PLASMA E SÔRO DE BOVINOS*
PARA POSTERIOR DOSAGEM DE PROTEÍNA TOTAL, ALBUMINA,
GLOBULINAS E CÁLCULO DA RELAÇÃO ALBUMINA / GLOBULINAS.**

(Notes about cattle plasma and serum preservation for later determination of total protein, albumin, globulins, and proteinic quotient)

Eduardo Harry Birgel
Instrutor

Paulo de Carvalho Pereira
Professor Assistente

Romeu Diniz Lamounier
Professor Catedrático

As dosagens de proteína total, albumina e globulinas são manobras demoradas, principalmente quando se tem que operar com várias amostras. Também os laboratórios aptos a procederem estas dosagens, em veterinária, estão localizados longe dos centros pecuários. Os dois fatos acima mencionados, nos levaram a pensar em várias maneiras de conservar o plasma ou soro, como também determinar uma interrupção entre as fases do processo de dosagem.

M A T E R I A L E T É C N I C A

COLHEITA DO MATERIAL. **Plasma:** : O sangue foi colhido por puntura da jugular, realizada com agulhas 40 X 15, e recebidos em tubos contendo um anti coagulante - o líquido de Heller e Paul, recomendado por KRACIE (1) - cuja água foi evaporada em estufa. O plasma foi separado por centrifugação.

Sôro: Colhíamos, por puntura

* *Apresentado e aprovado no VIII Congresso Brasileiro de Veterinária (1962).*

da jugular, com agulhas 40 X 15, 15 ml de sangue que eram recolhidos em tubos de ensaio de 180 X 15. Estes tubos eram mantidos com a inclinação de cerca de 30° até a coagulação do sangue. Visamos, assim, aumentar a superfície de dessoramento, fato que facilita a sinérese, que nos bovinos é tardia. Uma vez ocorrida a retração do coágulo, o soro era retirado por aspiração.

DETERMINAÇÃO DA PROTEÍNA TOTAL, ALBUMINA, GLOBULINA E CÁLCULO DA RELAÇÃO ALBUMINA/GLOBULINAS: Foram estimadas pelo método de GORNALL, BARDAWIL e DAVID ⁽²⁾. As leituras das dosagens foram feitas em Colorímetro Fotoelétrico Klett-Summerson modelo 800-3, série 15-108, nº 3788-A, com filtro verde.

DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE DO MÉTODO. Foi determinada a sensibilidade do método fazendo-se a dosagem de 10 tomadas de uma mesma amostra de plasma obtido em condições ideais e de ótimo aspecto. Usamos, nestas dosagens, material aferido de idêntica fabricação e as mesmas soluções.

Os resultados obtidos e suas principais características estatísticas, encontram-se na TABELA I.

PROCESSOS DE CONSERVAÇÃO TENTADOS E CONSTITUIÇÃO DAS RESPECTIVAS AMOSTRAS.

EXPERIMENTO A As amostras eram constituídas de soro de bovinos de diferentes idades, machos e fêmeas, submetidos ao mesmo regime, porém alguns apresentando verminose que influa em seu estado geral.

TRATAMENTO I Constitui a dosagem inicial, feita 36 horas após a colheita do material, demora essa devida ao transporte, espera para a sinérese e retirada do soro.

T A B E L A 1

Determinação da sensibilidade do Método de Gornal Bardawile e David, para dosagem de proteína total, albumina e globulinas. Cálculo da relação albumina - globulinas.

| amostras | Proteína | | Albumina | Globulinas | Rel. A / G |
|-----------------|----------|-----|----------|------------|------------|
| | total em | g % | em g% | em g% | |
| 1 | 8,6 | | 2,5 | 6,1 | 0,41 |
| 2 | 8,7 | | 2,4 | 6,3 | 0,38 |
| 3 | 8,7 | | 2,5 | 6,2 | 0,40 |
| 4 | 8,6 | | 2,6 | 6,0 | 0,43 |
| 5 | 8,5 | | 2,4 | 6,1 | 0,39 |
| 6 | 8,6 | | 2,5 | 6,1 | 0,41 |
| 7 | 8,6 | | 2,5 | 6,1 | 0,41 |
| 8 | 8,5 | | 2,5 | 6,0 | 0,41 |
| 9 | 8,6 | | 2,7 | 5,9 | 0,46 |
| 10 | 8,6 | | 2,7 | 5,9 | 0,46 |
| total | 86,0 | | 25,3 | 60,7 | 4,16 |
| \hat{m} | 8,6 | | 2,53 | 6,07 | 0,42 |
| s (\hat{m}) | 0,02 | | 0,02 | 0,04 | 0,01 |
| s | 0,07 | | 0,05 | 0,12 | 0,03 |
| C.V. | 0,81 % | | 1,97 % | 1,97 % | 7,14 % |

\hat{m} = média

s (\hat{m}) = desvio padrão da média

s = desvio padrão

C.V. = Coeficiente de Variação de Pearson (3)

TRATAMENTO II

a - PARA PROTEÍNA TOTAL. Transferiram-se, para um tubo colorimétrico 2 ml da mistura soro-sulfito de sódio a 21 ‰, nos quais, 24 horas após, completou-se a dosagem pela adição do Reativo de Biureto. Neste intervalo de 24 horas o material foi conservado em geladeira.

b - PARA ALBUMINA. Transferiram-se 2 ml da fração que continha a albumina, separada das globulinas pelo éter, para um tubo colorimétrico, completando-se a dosagem 24 horas depois, pela adição do Reativo de Biureto. Nestas 24 horas o material foi conservado em geladeira.

As globulinas foram obtidas pela diferença entre a proteína total e a albumina e a relação albumina / globulinas, também denominada quociente proteínico (4), por divisão, tanto para o Tratamento I, como para o Tratamento II.

Os resultados obtidos, com as principais características estatísticas e análise da variância, encontram-se nas seguintes tabelas: Proteína Total - TABELA II. Albumina - TABELA III. Globulinas - TABELA IV. Relação Albumina/Globulinas - TABELAS I, II, III, IV e V.

TABELA II

Experimento A - parte referente a Proteína Total, dosagem cujo resultado é dado em grama por 100 ml de sêro.

| amostras | tratamento I | tratamento II |
|-----------------|--------------|-----------------|
| 1 | 7,5 | 7,3 |
| 2 | 4,4 | 4,3 |
| 3 | 4,7 | 4,8 |
| 4 | 7,7 | 7,7 |
| 5 | 6,6 | 6,6 |
| 6 | 5,6 | 5,6 |
| 7 | 6,0 | 5,5 |
| 8 | 6,0 | 5,5 |
| 9 | 6,4 | 6,1 |
| 10 | 4,3 | 4,3 |
| 11 | 3,9 | 3,7 |
| 12 | 6,8 | 6,5 |
| 13 | 6,0 | 6,0 |
| 14 | 4,5 | 4,5 |
| total | 80,4 | 78,4 |
| \hat{m} | 5,74 | 5,60 - M = 5,67 |
| s (\hat{m}) | 0,04 | 0,04 |
| s | 0,14 | |
| C.V. | 2,49 % | |

F crítico a 5 % - 4,67
a 1 % - 9,07

| Causas de variação | Análise da Variância | | | |
|--------------------|----------------------|-------|------|-------|
| | Q L | S Q | Q M | F |
| Tratamentos | 1 | 0,15 | 0,15 | 7,5 * |
| Blocos | 13 | 37,47 | 2,88 | - |
| Resíduo | 13 | 0,24 | 0,02 | - |
| Total | 27 | 37,86 | - | - |

TABELA III

Experimento A - Parte referente a Albumina, dosagem cujo resultado é dado em gramas por 100 ml de sôro.

| amostra | tratamento I | tratamento II |
|-----------------|--------------|-----------------|
| 1 | 2,0 | 2,0 |
| 2 | 1,5 | 1,6 |
| 3 | 1,3 | 1,3 |
| 4 | 2,8 | 2,3 |
| 5 | 3,4 | 1,9 |
| 6 | 1,7 | 1,6 |
| 7 | 2,3 | 2,4 |
| 8 | 2,1 | 2,1 |
| 9 | 3,3 | 3,4 |
| 10 | 1,2 | 1,2 |
| 11 | 1,2 | 1,6 |
| 12 | 1,8 | 2,0 |
| 13 | 1,8 | 2,4 |
| 14 | 1,8 | 1,5 |
| total | 28,8 | 27,3 |
| \hat{m} | 2,01 | 1,95 - M = 1,98 |
| s (\hat{m}) | 0,1 | 0,1 |
| s | 0,35 | |
| C.V. | 17,47 % | |
| F crítico | a 5 % - 4,67 | |
| | a 1 % - 9,07 | |

Análise da Variância

| Causas de Variação | G L | S Q | Q M | F |
|--------------------|-----|-------|------|---------|
| Tratamentos | 1 | 0,05 | 0,05 | 0,29 NS |
| Blocos | 13 | 21,28 | 1,64 | - |
| Resíduo | 13 | 2,16 | 0,17 | - |
| Total | 27 | 23,49 | - | - |

T A B E L A I V

Experimento A - Parte referente as Globulinas, dosagem cujo resultado é dado em grammas por 100 ml de soro

| amostra | tratamento I | tratamento II |
|--------------|--------------|-----------------|
| 1 | 5,5 | 5,3 |
| 2 | 2,9 | 2,7 |
| 3 | 3,4 | 3,5 |
| 4 | 4,9 | 5,4 |
| 5 | 3,2 | 4,7 |
| 6 | 3,9 | 4,0 |
| 7 | 3,7 | 3,1 |
| 8 | 3,9 | 3,4 |
| 9 | 3,1 | 2,7 |
| 10 | 3,1 | 3,1 |
| 11 | 2,7 | 2,1 |
| 12 | 5,0 | 4,5 |
| 13 | 4,2 | 3,6 |
| 14 | 2,7 | 3,0 |
| total | 52,2 | 51,1 |
| \hat{m} | 3,73 | 3,65 - M = 3,68 |
| $s(\hat{m})$ | 0,1 | 0,1 |
| s | 0,41 | |
| C.V. | 11,20 % | |
| F crítico | a 5 % - 4,67 | |
| | a 1 % - 9,07 | |

Análise da Variância

| Causas de variação | Q L | S Q | Q M | F |
|--------------------|-----|-------|------|---------|
| Tratamentos | 1 | 0,05 | 0,05 | 0,29 NS |
| Blocos | 13 | 21,28 | 1,64 | - |
| Resíduo | 13 | 2,16 | 0,17 | - |
| Total | 27 | 23,49 | - | - |

T A B E L A V

Experimento A - Parte referente ao Cálculo da Relação Albumina Globulinas.

| amostra | tratamento I | tratamento II |
|-----------------|--------------|-----------------|
| 1 | 0,36 | 0,38 |
| 2 | 0,52 | 0,59 |
| 3 | 0,38 | 0,37 |
| 4 | 0,57 | 0,42 |
| 5 | 1,06 | 0,20 |
| 6 | 0,43 | 0,40 |
| 7 | 0,62 | 0,77 |
| 8 | 0,54 | 0,62 |
| 9 | 1,06 | 1,25 |
| 10 | 0,39 | 0,39 |
| 11 | 0,44 | 0,76 |
| 12 | 0,36 | 0,44 |
| 13 | 0,43 | 0,66 |
| 14 | 0,66 | 0,20 |
| total | 7,82 | 7,45 |
| \hat{m} | 0,56 | 0,53 - M = 0,54 |
| s (\hat{m}) | 0,21 | 0,21 |
| s | 0,21 | |
| C.V. | 38,89 % | |
| F crítico | a 5 % - 4,67 | |
| | a 1 % - 9,07 | |

Análise da Variância

| Causas de Variação | G L | S Q | Q M | F |
|--------------------|-----|-------|-------|---------|
| Tratamentos | 1 | 0,003 | 0,003 | 0,06 NS |
| Blocos | 13 | 1,09 | 0,084 | - |
| Resíduo | 13 | 0,597 | 0,046 | - |
| Total | 27 | 1,69 | - | - |

EXPERIMENTO B As amostras eram constituídas de soro de bovinos de diferentes idades, machos e fêmeas, submetidos ao mesmo regime e em bom estado de nutrição e saúde.

TRATAMENTO I Constitui a dosagem inicial, que foi feita aproximadamente 36 horas após a colheita do material, demora essa devida ao transporte, espera para a sinérese e retirada do soro.

TRATAMENTO II Após a dosagem inicial, os tubos colorimétricos foram guardados em geladeira à temperatura de cerca de 5° C, sendo as leituras repetidas 15 horas depois da inicial.

TRATAMENTO III Nova leitura 46 horas após a dosagem inicial, sendo os tubos mantidos em geladeira.

Os resultados obtidos, com as principais características estatísticas e análise da variância encontram-se nas seguintes tabelas: Proteína total - TABELA VI. Albumina - TABELA VII. Globulinas - TABELA VIII. Relação albumina / Globulinas - tabela IX.

T A B E L A V I

Experimento B - Parte referente à dosagem de Proteína Total,
resultados em gramas por 100 ml de sôro.

| amostra | tratamento I | tratamento II | tratamento III |
|-----------------|--------------|---------------|-----------------|
| 1 | 6,5 | 6,6 | 6,6 |
| 2 | 7,5 | 7,6 | 7,6 |
| 3 | 7,4 | 7,5 | 7,5 |
| 4 | 7,4 | 7,4 | 7,4 |
| 5 | 7,9 | 7,9 | 7,9 |
| 6 | 7,4 | 7,4 | 7,4 |
| 7 | 8,1 | 8,1 | 8,1 |
| 8 | 7,1 | 7,1 | 7,1 |
| 9 | 7,4 | 7,5 | 7,4 |
| 10 | 7,4 | 7,5 | 7,6 |
| 11 | 7,7 | 7,8 | 7,8 |
| 12 | 7,0 | 7,1 | 7,3 |
| 13 | 8,3 | 8,3 | 8,3 |
| 14 | 7,3 | 7,4 | 7,4 |
| 15 | 8,2 | 8,1 | 8,2 |
| total | 112,6 | 113,3 | 113,6 |
| \hat{m} | 7,50 | 7,55 | 7,57 - M = 7,52 |
| s (\hat{m}) | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| s | 0,05 | | |
| C.V. | 0,73 % | | |
| F crítico | a 5 % - 3,34 | | |
| | a 1 % - 5,45 | | |

Análise da Variância

| Causas de variação | G L | S Q | Q M | F |
|--------------------|-----|------|-------|-----|
| Tratamentos | 2 | 0,03 | 0,015 | 5 * |
| Blocos | 14 | 8,58 | 0,612 | - |
| Resíduo | 28 | 0,08 | 0,003 | - |
| Total | 44 | 8,69 | - | - |

TABELA VII

Experimento B - Parte referente à dosagem de albumina, resultados em gramas por 100 ml de soro.

| amostra | tratamento I | tratamento II | tratamento III |
|-----------------|--------------|---------------|-----------------|
| 1 | 1,4 | 1,3 | 1,4 |
| 2 | 2,1 | 2,0 | 2,1 |
| 3 | 2,6 | 2,5 | 2,4 |
| 4 | 2,2 | 2,5 | 2,2 |
| 5 | 2,1 | 2,0 | 2,1 |
| 6 | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| 7 | 1,9 | 1,8 | 1,8 |
| 8 | 2,1 | 2,1 | 2,1 |
| 9 | 2,2 | 2,1 | 2,1 |
| 10 | 1,9 | 1,9 | 2,3 |
| 11 | 1,9 | 1,9 | 2,0 |
| 12 | 2,1 | 2,0 | 2,1 |
| 13 | 2,0 | 1,9 | 2,0 |
| 14 | 2,3 | 2,2 | 2,2 |
| 15 | 2,1 | 2,1 | 2,2 |
| total | 30,9 | 30,3 | 31,0 |
| \hat{m} | 2,07 | 2,02 | 2,07 - M = 2,05 |
| s (\hat{m}) | 0,03 | 0,03 | 0,03 |
| s | 0,1 | | |
| C.V. | 4,88 % | | |
| F crítico | a 5 % - 3,34 | | |
| | a 1 % - 5,45 | | |

Análise da variância

| Causas de Variação | G L | S Q | Q M | F |
|--------------------|-----|------|------|------|
| Tratamentos | 2 | 0,02 | 0,01 | 1 NS |
| Blocos | 14 | 2,56 | 0,18 | - |
| Resíduo | 28 | 0,23 | 0,01 | - |
| Total | 44 | 2,81 | - | - |

TABELA VIII

Experimento B - Parte referente à dosagem das Globulinas,
 resultado em gramas por 100 ml de sôro.

| amostra | tratamento I | tratamento II | tratamento III |
|-----------------|--------------|---------------|-----------------|
| 1 | 5,1 | 5,3 | 5,2 |
| 2 | 5,4 | 5,6 | 5,5 |
| 3 | 4,8 | 5,0 | 5,1 |
| 4 | 5,2 | 4,9 | 5,2 |
| 5 | 5,8 | 5,9 | 5,8 |
| 6 | 5,4 | 5,4 | 5,4 |
| 7 | 6,2 | 6,3 | 6,3 |
| 8 | 5,0 | 5,0 | 5,0 |
| 9 | 5,2 | 5,4 | 5,4 |
| 10 | 5,5 | 5,6 | 5,3 |
| 11 | 5,8 | 5,9 | 5,8 |
| 12 | 4,9 | 5,1 | 5,2 |
| 13 | 6,3 | 6,4 | 6,3 |
| 14 | 5,0 | 5,2 | 5,2 |
| 15 | 6,1 | 6,0 | 6,0 |
| total | 81,7 | 83,0 | 82,7 |
| \hat{m} | 5,45 | 5,53 | 5,51 - M = 5,50 |
| s (\hat{m}) | 0,03 | 0,03 | 0,03 |
| s | 0,1 | | |
| C.V. | 1,82 % | | |

F crítico a 5 % - 3,34
 a 1 % - 5,45

Análise da Variância

| Causas de Variação | G L | S Q | Q M | F |
|--------------------|-----|------|------|------|
| Tratamentos | 2 | 0,06 | 0,03 | 3 NS |
| Blocos | 14 | 8,80 | 0,63 | - |
| Resíduo | 28 | 0,87 | 0,01 | - |
| Total | 44 | 9,13 | - | - |

TABELA IX

Experimento B - Parte referente ao cálculo da Relação Albumina - Globulina.

| amostra | tratamento I | tratamento II | tratamento III |
|-----------------|--------------|---------------|-----------------|
| 1 | 0,29 | 0,24 | 0,24 |
| 2 | 0,39 | 0,36 | 0,38 |
| 3 | 0,54 | 0,50 | 0,47 |
| 4 | 0,42 | 0,52 | 0,46 |
| 5 | 0,36 | 0,34 | 0,35 |
| 6 | 0,37 | 0,37 | 0,37 |
| 7 | 0,31 | 0,28 | 0,28 |
| 8 | 0,42 | 0,42 | 0,42 |
| 9 | 0,42 | 0,39 | 0,39 |
| 10 | 0,34 | 0,34 | 0,43 |
| 11 | 0,32 | 0,32 | 0,34 |
| 12 | 0,43 | 0,39 | 0,40 |
| 13 | 0,32 | 0,30 | 0,32 |
| 14 | 0,46 | 0,42 | 0,42 |
| 15 | 0,34 | 0,35 | 0,37 |
| total | 5,73 | 5,54 | 5,65 |
| \hat{m} | 0,38 | 0,37 | 0,38 - M = 0,38 |
| s (\hat{m}) | 0,007 | 0,007 | 0,007 |
| s | 0,03 | | |
| C.V. | 6,48 % | | |

F crítico a 5 % - 3,34
a 1 % - 5,45

Análise da Variância

| Causas de variação | GL | S Q | Q M | F |
|--------------------|----|--------|--------|---------|
| Tratamentos | 2 | 0,0012 | 0,0006 | 0,86 NS |
| Blocos | 14 | 0,1651 | 0,0117 | - |
| Resíduo | 28 | 0,0196 | 0,0007 | - |
| Total | 44 | 0,1859 | - | - |

EXPERIMENTO C As amostras eram constituídas de soro e plasma de dois bovinos do sexo feminino, de aproximadamente 4 anos idade, em bom estado de nutrição e saúde.

Neste experimento, separamos o nosso material, em dois blocos: um, constituído pelo material (soro e plasma) refrigerado a uma temperatura entre 4 e 7 graus centígrados, e outro constituído pelo material mantido em condições de temperatura ambiente entre 21 e 27 graus centígrados.

Os dois blocos foram submetidos aos seguintes tratamentos para conservação:

a - COM ANTISSEPTICO. Material contendo 0,5 % de ácido fênico (C6 H5 OH), por ser, segundo BIER⁽⁵⁾, usado para a preservação de soros, vacinas e outros produtos biológicos.

b - COM ANTIBIÓTICO. A amostra contendo uma gota de solução de Sulfato de Kanamicina (solução de 1 grama de sulfato de Kanamicina em 50 ml de água destilada e fervida). O sulfato de Kanamicina vem substituindo com vantagens a penicilina na conservação de culturas de tecidos (6).

c - AMOSTRA SEM ANTISSEPTICO Os resultados encontram-se na TABELA X. Deixamos de apresentar análise estatística, pois o experimento não se presta às análises mais simples.

TABELA X

| (Resultados do experimento C em gramas por 100 ml) | | | | | | | | | | | | | | |
|--|------|-----|----------------|-------|-------|----------|-----|-----|------------|-----|-----|--------------------|------|------|
| Pl. | Ref. | hs. | Proteína Total | | | Albumina | | | Globulinas | | | Relação Alb./Glob. | | |
| | | | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| Pl. | Ref. | 0 | 7,4 | 6,8 | 7,4 | 2,5 | 2,2 | 2,5 | 4,9 | 4,5 | 4,8 | 0,52 | 0,48 | 0,51 |
| Pl. | Ref. | 72 | 7,4 | 6,3 | 7,3 | 2,4 | 2,1 | 2,4 | 4,9 | 4,1 | 4,9 | 0,49 | 0,51 | 0,49 |
| Pl. | Ref. | 168 | 7,6 | 6,9 | 7,5 | 2,6 | 2,3 | 2,7 | 5,0 | 4,6 | 4,8 | 0,52 | 0,50 | 0,56 |
| Pl. | Ref. | 288 | 7,6 | 6,8 | 7,5 | 2,6 | 2,3 | 2,6 | 4,9 | 4,4 | 4,9 | 0,53 | 0,52 | 0,53 |
| Pl. | Amb. | 0 | 7,4 | 6,7 | 7,4 | 2,5 | 2,2 | 2,5 | 4,9 | 4,4 | 4,9 | 0,52 | 0,50 | 0,52 |
| Pl. | Amb. | 72 | 7,3 | 6,6 | 7,7 | 2,5 | 2,3 | 2,7 | 4,8 | 4,2 | 5,0 | 0,52 | 0,54 | 0,54 |
| Pl. | Amb. | 168 | 7,8 | 6,8* | 7,6 | 2,7 | 2,4 | 2,7 | 5,1 | 4,4 | 4,9 | 0,53 | 0,54 | 0,55 |
| Pl. | Amb. | 288 | 7,4 | 6,7** | 7,5 | 2,7 | 2,2 | 2,6 | 4,7 | 4,5 | 4,9 | 0,57 | 0,48 | 0,53 |
| S. | Ref. | 0 | 7,1 | 6,3 | 7,2 | 2,6 | 2,3 | 2,6 | 4,5 | 4,0 | 4,6 | 0,57 | 0,57 | 0,56 |
| S. | Ref. | 72 | 7,0 | 6,1 | 6,8 | 2,7 | 2,3 | 2,5 | 4,3 | 3,8 | 4,3 | 0,62 | 0,60 | 0,58 |
| S. | Ref. | 168 | 7,1* | 6,5 | 7,3 | 2,7 | 2,5 | 2,7 | 4,3 | 4,0 | 4,6 | 0,62 | 0,62 | 0,58 |
| S. | Ref. | 288 | 7,0* | 6,5 | 7,2 | 2,7 | 2,3 | 2,7 | 4,3 | 4,2 | 4,5 | 0,62 | 0,54 | 0,60 |
| S. | Amb. | 0 | 7,1 | 6,3 | 6,9 | 2,6 | 2,2 | 2,5 | 4,5 | 4,1 | 4,4 | 0,57 | 0,53 | 0,56 |
| S. | Amb. | 72 | 6,9 | 6,1 | 7,0 | 2,6 | 2,4 | 2,5 | 4,3 | 3,7 | 4,4 | 0,60 | 0,64 | 0,56 |
| S. | Amb. | 168 | 7,1 | 6,5* | 7,4** | 2,7 | 2,5 | 2,7 | 4,4 | 4,0 | 4,7 | 0,61 | 0,62 | 0,57 |
| S. | Amb. | 288 | 7,2 | 6,4** | 7,0** | 2,6 | 2,3 | 2,6 | 4,5 | 4,1 | 4,4 | 0,57 | 0,56 | 0,59 |

A - amostra sem antisséptico e sem antibiótico B - amostra com antisséptico C - amostra com antibiótico

Legendas . Pl. Ref. = Plasma refrigerado. Pl. Amb. = Plasma no ambiente. S. Ref. = Soro refrigerado

S. Amb. = Soro no ambiente. * grumos. • precipitados nas amostras. † gelificação da porção superior do centrifugado.

EXPERIMENTO D As amostras eram constituídas por plasma de bovino do sexo feminino, com aproximadamente 15 anos de idade, em bom estado de nutrição e em boas condições de saúde. Dêste material separamos 10 amostras que foram mantidas congeladas a -10°C e examinadas ao acaso. Foram feitas 5 dosagens: 0 horas ou inicial, 48 horas, 96 horas, 168 horas e 264 horas após a colheita que constituirão respectivamente os tratamentos I, II, III, IV e V.

Os resultados obtidos, com as principais características estatísticas e análise da variância encontram-se nas seguintes tabelas: Proteína total - TABELA XI. Albumina - TABELA XII. Globulinas - TABELA XIII. Relação Albumina / Globulinas - TABELA XIV.

DISCUSSÃO

SENSIBILIDADE DO MÉTODO À observação dos dados da tabela I notamos que as variações aleatórias e erros do operador são pequenos, pois variam em redor de 1,2%.

EXPERIMENTO A Os tratamentos não diferem significativamente para as dosagens de albumina, globulinas e cálculo da relação albumina / globulinas. Os tratamentos diferem porém significativamente, ao nível de 5% para as dosagens de proteína total.

TABELA XI

Experimento D - Parte referente à dosagem de Proteína Total, resultados em gramas por 100 ml de plasma.

| amostras | tratamento I | tratamento II | tratamento III | tratamento IV | tratamento V |
|----------------------|--------------|---------------|----------------|---------------|-----------------|
| 1 | 8,6 | 8,9 | 9,0 | 8,2 | 8,4 |
| 2 | 8,7 | 8,8 | 9,0 | 8,1 | 8,4 |
| 3 | 8,7 | 8,8 | 8,9 | 8,2 | 8,4 |
| 4 | 8,6 | 8,8 | 8,8 | 8,1 | 8,4 |
| 5 | 8,5 | 8,8 | 8,8 | 8,1 | 8,4 |
| 6 | 8,6 | 8,7 | 8,8 | 8,1 | 8,4 |
| 7 | 8,6 | 8,7 | 8,8 | 8,1 | 8,3 |
| 8 | 8,5 | 8,7 | 8,8 | 8,1 | 8,3 |
| 9 | 8,6 | 8,7 | 8,8 | 9,0 | 8,4 |
| 10 | 8,6 | 8,7 | 9,0 | 7,5 | 8,2 |
| total | 86,0 | 87,6 | 88,7 | 81,5 | 83,6 |
| \bar{x} | 8,60 | 8,76 | 8,87 | 8,15 | 8,36 - M = 8,55 |
| s ($\hat{\sigma}$) | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,06 |

s 0,17
 C.V. 1,98 %
 F crítico a 5% - ap. 2,55
 a 1% - ap. 3,70

Análise da variância

| Causas de Variação | GL | SQ | QM | F |
|--------------------|----|------|------|----------|
| Tratamentos | 4 | 3,45 | 0,86 | 28,67 ** |
| Resíduo | 45 | 1,37 | 0,03 | - |
| Total | 49 | 4,82 | - | - |

TESTE TUKEY - Delta = 0,217

TABELA XIII

Experimento D - Parte referente à dosagem de Albumina, resultados em grammas por 100 ml de plasma.

| amostra | tratamento I | tratamento II | tratamento III | tratamento IV | tratamento V |
|-----------|--------------|---------------|----------------|---------------|--------------|
| 1 | 2,5 | 2,6 | 3,0 | 2,2 | 2,4 |
| 2 | 2,4 | 2,8 | 2,9 | 2,3 | 2,4 |
| 3 | 2,5 | 2,8 | 2,9 | 2,4 | 2,5 |
| 4 | 2,6 | 2,8 | 2,9 | 2,4 | 2,4 |
| 5 | 2,4 | 2,8 | 2,9 | 2,4 | 2,4 |
| 6 | 2,5 | 2,6 | 3,0 | 2,4 | 2,4 |
| 7 | 2,5 | 2,8 | 3,0 | 2,4 | 2,4 |
| 8 | 2,5 | 2,8 | 3,0 | 2,4 | 2,4 |
| 9 | 2,7 | 2,8 | 3,1 | 2,6 | 2,5 |
| 10 | 2,7 | 2,8 | 3,1 | 2,2 | 2,5 |
| total | 25,3 | 27,6 | 29,8 | 23,7 | 24,3 |
| \bar{m} | 2,53 | 2,76 | 2,98 | 2,37 | 2,43 |
| s | 0,09 | | | | M = 2,61 |
| C.V. | 3,45 | | | | |

Análise da Variância

| Causas de variação | GL | SQ | QM | F |
|--------------------|----|------|-------|----------|
| Tratamentos | 4 | 2,56 | 0,64 | 57,50 ** |
| Resíduo | 45 | 0,36 | 0,008 | - |
| Total | 49 | 2,92 | - | - |

F crítico a 5% - ap. 2,55

a 1% - ap. 3,70

TESTE TUKEY - Delta = 0,112

TABELA XIII

Experimento II - Parto referente à dosagem das globulinas, resultados em gramas por 100 ml de plasma:

| amostra | tratamento I | tratamento II | tratamento III | tratamento IV | tratamento V |
|-----------|--------------|---------------|----------------|---------------|--------------|
| 1 | 6,1 | 6,3 | 6,0 | 6,0 | 6,0 |
| 2 | 6,3 | 6,0 | 6,1 | 5,8 | 6,0 |
| 3 | 6,2 | 6,0 | 6,0 | 5,8 | 5,9 |
| 4 | 6,0 | 6,0 | 5,9 | 5,7 | 6,0 |
| 5 | 6,1 | 6,0 | 5,9 | 5,7 | 6,0 |
| 6 | 6,1 | 6,1 | 5,8 | 5,7 | 6,0 |
| 7 | 6,1 | 5,9 | 5,8 | 5,7 | 5,9 |
| 8 | 6,0 | 5,9 | 5,8 | 5,7 | 5,9 |
| 9 | 5,9 | 5,9 | 5,7 | 6,4 | 5,9 |
| 10 | 5,9 | 5,9 | 5,9 | 5,9 | 5,3 |
| total | 60,7 | 60,0 | 58,9 | 58,4 | 58,9 |
| \bar{x} | 6,07 | 6,00 | 5,89 | 5,84 | 5,89 |

N = 5,94

s (\bar{x}) 0,05

s 0,16

C.V. 2,69%

F crítico a 5% - ap. 2,55

a 1% - ap. 3,70

Análise da Variância

| Causas de variação | Q L | S Q | Q M | F |
|--------------------|-----|------|-------|--------|
| Tratamento | 4 | 0,36 | 0,09 | 3,21 * |
| Resíduo | 45 | 1,26 | 0,028 | - |
| Total | 49 | 1,62 | - | - |

TESTE TUNBY - Delta = 0,204

TABELA XIV

Experimento D - Parte referente ao cálculo da relação Albumina / Globulinas.

| amostra | tratamento I | tratamento II | tratamento III | tratamento IV | tratamento V |
|-----------------|--------------|---------------|----------------|---------------|--------------|
| 1 | 0,41 | 0,41 | 0,50 | 0,37 | 0,40 |
| 2 | 0,38 | 0,47 | 0,48 | 0,39 | 0,40 |
| 3 | 0,40 | 0,47 | 0,48 | 0,41 | 0,42 |
| 4 | 0,43 | 0,47 | 0,48 | 0,42 | 0,40 |
| 5 | 0,39 | 0,47 | 0,48 | 0,42 | 0,40 |
| 6 | 0,41 | 0,43 | 0,52 | 0,42 | 0,40 |
| 7 | 0,41 | 0,47 | 0,52 | 0,42 | 0,41 |
| 8 | 0,42 | 0,47 | 0,52 | 0,42 | 0,41 |
| 9 | 0,46 | 0,49 | 0,54 | 0,41 | 0,42 |
| 10 | 0,46 | 0,49 | 0,52 | 0,37 | 0,47 |
| total | 4,17 | 4,64 | 5,04 | 4,05 | 4,13 |
| \bar{m} | 0,42 | 0,46 | 0,50 | 0,40 | 0,41 |
| s (\hat{m}) | 0,007 | | | | |
| s | 0,022 | | | | |
| C.V. | 48,89 % | | | | |

M - 0,45

Análise da Variância

| Causas de variação | Q I | S Q | Q M | F |
|--------------------|-----|--------|--------|---------|
| Tratamentos | 4 | 0,0716 | 0,0179 | 35,8 ** |
| Resíduo | 45 | 0,0247 | 0,0005 | - |
| Total | 49 | 0,0963 | - | - |

F crítico a 5% - ap. 2,55

a 1% - ap. 3,70

TESTE TUKEY - Delta = 0,028

É provável que todos os tratamentos não difeririam se o intervalo intercalado na seqüência original da dosagem fosse reduzido a 2 ou 3 horas.

EXPERIMENTO B Os tratamentos não diferem significativamente para as dosagens de albumina, globulinas e cálculo da relação albumina / globulinas. Diferem, porém, os tratamentos significativamente, ao nível de 5%, para as dosagens de proteína total.

Não recomendamos este método, pois a permanência do Reativo de Biureto nos tubos do colorímetro, determina a opalescência de suas paredes, tornando difícil sua limpeza e, pela repetição de dosagens, talvez os inutilize.

EXPERIMENTO C O material refrigerado pareceu-nos se conservar melhor, pois o mesmo, à temperatura ambiente apresentou grumos e precipitados. O soro, refrigerado ou não, parece se conservar melhor que o plasma em idênticas condições. O plasma apresenta sempre taxas mais altas que o soro, devido à presença do fibrinogênio.

As amostras com antissépticos apresentaram taxas mais baixas que as sem eles, em virtude da diluição de seus constituintes. Este fato desaconselha o processo.

As amostras com antibióticos, principalmente quando refrigeradas, parecem oferecer melhores condições de conservação, merecendo melhores estudos para mais efetiva conclusão.

EXPERIMENTO D No delineamento proposto em nossos experimentos

os tratamentos diferem significativamente. Mereceria um estudo semelhante o sôro, que parece se conservar melhor. Aplicando-se o teste de TUKEY⁽⁷⁾, e comparando os tratamentos, notamos:

PARA PROTEÍNA TOTAL Os tratamentos I e II apresentam médias que não diferem significativamente ao nível de 5%. Os demais tratamentos, em relação ao tratamento I, apresentam diferenças significativas ao mesmo nível.

PARA ALBUMINA As médias não diferem significativamente ao nível de 5%, para os tratamentos I e IV, diferindo para os demais.

PARA AS GLOBULINAS As médias diferem significativamente ao nível de 5%, apenas para os tratamentos I e IV.

PARA A RELAÇÃO ALBUMINA / GLOBULINAS As médias diferem significativamente ao nível de 5%, apenas para os tratamentos II e III em relação ao tratamento I.

CONCLUSÕES

1. Quando houver necessidade de um intervalo na dosagem da proteína total, albumina e globulinas, no plasma ou sôro, usando-se o método modificado de GORNALL, BARDAWIL e DAVID, este deve ser

anterior à adição do Reativo de Biureto.

2. As leituras dessas dosagens, devem ser feitas o mais rapidamente possível após a adição do Reativo de Biureto (sempre esperando o mínimo de 30 minutos para o desenvolvimento máximo de coloração).
3. Sempre que possível as determinações devem ser realizadas logo após a obtenção do plasma ou sôro.
4. O material não dosado imediatamente deverá ser mantido refrigerado. Quando a conservação deva ser mais prolongada é aconselhável o uso de antibióticos além da refrigeração.
5. A congelação por 48 horas não altera o teor da proteína total, porém, altera o teor da albumina e o cálculo da relação albumina / globulinas.

S U M M A R Y

The preservation of cattle serum and plasma has been studied for later determination of total protein, albumin, globulins and proteinic quotient, through modified methods of Gornall, Bardawill and David.

A preservation had been attempted with an interval between the processing phases by delaying the reading of the results, refrigeration and freezing the samples, and also adding antibiotics and antiseptics.

The results obtained were:

1. The interval in the determination must be prior to adding the Biuret Reactive.

2. The reading of the results must be immediat.
3. Preferably the determination should be maid immediately after the obtaining of the samples.
4. The samples that have not been dosed immediately, must be refrig erated and if the preserving will be necessary for a longer pe riod, it is advisable to use an antibiotic.
5. A preservation for 48 hours does not alter the total protein contents.

AGRADECIMENTOS

Apresentamos nossos agradecimentos a Messias Galvão Gomes e Elias B. Kalil, estaticistas, respectivamente da Cadeira de Bio estatística da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo e da Divisão de Zootecnia e Nutrição Animal do Departamento da Produção Animal da Secretaria da Agricultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. - KRACKE, R. - 1943 - Doenças do sangue e atlas de hematologia.
Trad. da 2a. ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara
2. - GORNALL, A.G. - BARDAWILL, C.J. - DAVID, M.M. - 1949 - Determi
nation of serum protein by means of the biuret reaction.
J. Biol. Chem., 177:151-161

3. - GERMECK, O.A. - CARDOSO, A. - Arq. Cir. Exp., 15 (2):37

 4. - GOMES, F.P. - 1960 - Curso de estatística experimental. Piracicaba. Publicação Didática.

 5. - KOLMER, J.A. - BOERNER, F. - 1939 - Técnica de laboratório. Trad. da 2a. ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara

 6. - BIER, C. - Bacteriologia e imunologia em suas aplicações à medicina e a higiene. 2a. ed. São Paulo, Edições Melhoramentos

 7. - AMARAL, V. - Comunicação pessoal.

 8. - TUKEY, J.W. - Reminder sheets for discussion of paper on multiple comparisons. (mimeografado)
-