

INEFICÁCIA DO APARELHO PORTÁTIL ACCUTREND® PLUS NA CLÍNICA MÉDICA DE EQUINOS

INEFICACY OF PORTABLE DEVICE ACCUTREND® PLUS IN EQUINE INTERNAL MEDICINE

A. R. TEIXEIRA-NETO^{1*}, R. G. BOTELHO¹, K. E. SOUSA¹,
J. L. GOMES¹, E. M. M. LIMA¹

RESUMO

Comparou-se nesse estudo a determinação de quatro constituintes sanguíneos (glicose, lactato, triglicérides e colesterol), entre um aparelho portátil e métodos laboratoriais convencionais. Foram analisados o sangue de 20 equinos (11 machos e 9 fêmeas), de diversas raças com idades variando entre 8 ± 5 anos e peso corpóreo de $327,60 \pm 64,02$ Kg. Após exame clínico completo de cada animal realizou-se punção da veia jugular externa para coleta de amostra sanguínea, de maneira que a mesma amostra, foi utilizada para determinação no aparelho portátil e no laboratório. Na comparação entre as metodologias, em relação a glicose, não foi notada diferença entre as médias (teste T de Student), a correlação de Pearson revelou-se fraca e não houve concordância segundo o método de Bland-Altman. Para o lactato também não se observou concordância entre os dois métodos. Quanto aos triglicérides e colesterol foi possível apenas a análise descritiva dos resultados, devido as concentrações dos padrões fisiológicos de equinos em repouso, se apresentarem inferiores ao intervalo de leitura do aparelho portátil. Este trabalho demonstrou que o uso do referido aparelho para determinação de glicose, lactato, triglicérides e colesterol não é adequado na clínica médica equina.

PALAVRAS-CHAVE: Bioquímicos. Equinos. Equipamento portátil. Química seca.

SUMMARY

Four blood components (glucose, lactate, triglycerides and cholesterol) were determined and compared using a portable device (Accutrend® Plus, ROCHE) and laboratory methods. Blood samples from 20 horses were analyzed (11 geldings and 9 mares, from various breeds with age and weight varying between 8 ± 5 years and $327,60 \pm 64,02$ Kg, respectively). After complete clinical examination, blood was withdrawn through venipuncture of the external jugular and these samples were analyzed using a portable device and compared to laboratory results. Statistical analysis were used to compare both methodologies. The results showed that glucose data were not different with a weak Pearson's correlation and no agreement according to Bland-Altman method. The results obtained for lactate according to both methods were also not in agreement. Triglycerides and cholesterol data could not be compared due to the fact that reference values for resting horses lie below the reading range of the portable device. The present study showed that the use of Accutrend® Plus to determine glucose, lactate, triglycerides, and cholesterol levels, is not adequate in equine internal medicine.

KEY-WORDS: Biochemical. Dry chemistry. Horses. Portable device.

¹ Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília, UnB. Galpão 4, Granja do Torto, 70636-200, Brasília, DF, Brasil. email: raphaeltx@unb.br. * Autor para correspondência.

INTRODUÇÃO

A glicose é a principal fonte energética do organismo, de maneira que, o conhecimento das dosagens desse componente é muito importante para que se tenha a compreensão da situação metabólica de um paciente (SWENSON & REECE, 1996a). Existem diversos tipos de equipamentos capazes de determinar a glicemia, sendo os aparelhos de bancada mais precisos por utilizarem ambientes controlados, e os glicosímetros portáteis bastante eficazes.

Outro importante substrato do metabolismo energético é o lactato. Durante o exercício é liberado na corrente sanguínea para ser utilizado na formação de glicose a partir da gliconeogênese. No repouso, sua concentração plasmática parece estar relacionada ao estado de condicionamento dos indivíduos treinados anaerobicamente (REHUNEN et al., 1982).

Os lipídeos atuam em diversas funções orgânicas e a interpretação dos resultados desse constituinte sanguíneo deve ser cautelosa, porque em alguns estados fisiológicos normais podem existir alterações de seu perfil. Por exemplo, o terço final de gestação causa um balanço energético negativo e conseqüentemente o aumento da concentração de triglicérides na circulação (SWENSON & REECE, 1996). O acompanhamento das concentrações lipídicas dos equinos é cada vez mais relevante, pois o índice de animais com síndrome metabólica é maior, decorrente da ingestão de dietas não balanceadas, ou suplementos, que são oferecidos por proprietários que acreditam estarem alimentando “melhor” seus animais.

Alguns dos aparelhos portáteis usados na veterinária são desenvolvidos para humanos, portanto não possuem o mesmo grau de sensibilidade na mensuração de componentes sanguíneos dos animais portanto devem ser testados. O presente trabalho procurou avaliar a viabilidade do uso do Accutrend® Plus, como método diagnóstico auxiliar na clínica médica de equinos, comparando seus resultados aos de métodos convencionais de análise laboratoriais na determinação de glicose, lactato, colesterol e triglicérides, do sangue de equinos em repouso.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados, 20 equinos (11 machos e 9 fêmeas) com idade variando entre 8 ± 5 anos e peso corporal de $327,60 \pm 64,02$ Kg (média \pm desvio padrão). A obtenção de amostras de sangue através da venipunção da jugular externa realizou-se com todos animais em repouso. Antes das coletas de sangue, foi realizado exame clínico completo de cada animal. Após o referido exame, foram coletadas amostras (5mL) de sangue dos animais de maneira que parte (1 gota) era imediatamente utilizada para fazer as determinações no aparelho portátil. O restante era acondicionado em tubos com pressão negativa (Vacuette®), sendo um para testes bioquímicos sem anticoagulante, outro com EDTA para hemograma e o terceiro com fluoreto de sódio para mensuração de glicose e lactato plasmáticos visto que essa solução é hipotônica em relação as hemácias, provocando hemólise e inibição da glicólise,

prevenindo assim a coagulação sanguínea e produção de lactato pelas hemácias (SIMÕES et al. 1998). Todas as amostras foram acondicionadas em isopor com gelo, por aproximadamente 4 horas, e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UnB. No laboratório foram centrifugadas durante 5 minutos à 3000rpm e separados soro e plasma em alíquotas de 1,5 mL. O soro foi utilizado para a mensuração dos triglicérides e colesterol com a utilização de kits enzimáticos (Liquiform/Labtest®), no analisador bioquímico semi-automático Bio2000. O hemograma foi realizado pelo aparelho pochH-100 *iv Diff* e a contagem diferencial foi obtida a partir de esfregaço sanguíneo corado com panótico. As amostras de plasma foram congeladas em freezer e posteriormente acondicionadas em isopor com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Farmacologia e Fisiologia do Esforço Equino na UNESP – Jaboticabal, onde foram mensurados lactato e glicose pelo aparelho YSI 2300 STAT PLUS, que realiza a mensuração através de eletrodos que determinam a corrente elétrica gerada pela reação catalisada pela enzima glicose-oxidase ou lactato-oxidase (PLANCHE et al. 2001).

Para a comparação dos dados referentes a glicose e lactato, entre os resultados laboratoriais e os obtidos a partir do Accutrend® Plus, foram utilizados como métodos estatísticos o Teste T de Student com amostras pareadas e significância de $p < 0,05$, o teste de correlação de Pearson com a finalidade de observar a existência de algum padrão de distribuição entre os resultados dos dois aparelhos permitindo correlacioná-los e o método de investigação de concordância de Bland&Altman (1986). Quanto aos triglicérides e colesterol, realizou-se apenas a análise descritiva dos dados, pois os resultados do aparelho portátil indicaram valores abaixo da faixa de leitura, por meio da palavra “LOW”.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os equinos utilizados na pesquisa eram provenientes do Hospital Veterinário de Grandes Animais da UnB que se encontravam em fase final de tratamento, sendo necessário somente a realização de curativos diários. Para certificar que todos estes estavam hígidos foi realizado exame clínico e hemograma completo de cada animal. Na Tabela 1 estão representados as variáveis fisiológicas (frequência cardíaca, respiratória, temperatura corporal) e hematológicas (contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito) avaliadas nos 20 equinos utilizados nesse estudo e os valores de referência dessas variáveis. Quando retirados de suas baias e durante a contenção em brete para o exame clínico, percebeu-se certa inquietação dos animais, desencadeando a partir de estímulo adrenérgico, elevações nas frequências cardíaca e respiratória (SWENSON & REECE, 1996b). As demais variáveis apresentaram-se dentro dos valores de referência da espécie. Na Tabela 2 estão demonstrados os resultados obtidos de concentração sanguínea de glicose, lactato, triglicérides e colesterol obtidos com o aparelho portátil e com os métodos laboratoriais de referência.

Tabela 1 - Variáveis fisiológicas e hematológicas (média ± desvio padrão) determinadas durante exame clínico de equínos (n=20) e valores de referência da espécie (Brasília, 2010).

	Variáveis fisiológicas	Valores de Referência ¹
Frequência cardíaca (bpm)	46 ± 7,7	24 – 48 ²
Frequência respiratória (mpm)	25 ± 8,7	18 – 20 ³
Temperatura corporal (°C)	37,5 ± 0,62	37,2 – 38,2 ⁴
Hematócrito	36 ± 5,32	32 – 52 ¹
Hemoglobina (g/dL)	11,88 ± 2,27	11 – 19 ¹
Leucócitos Totais (x10 ³ /uL)	10,51 ± 2,71	5,5 – 12,5 ¹

1. KANEKO et al., 1997, 2. MACORIS, 1994, 3. SPEIRS, 1999, 4. CUNNINGHAM, 1999.

Tabela 2 - Concentrações sanguíneas de glicose, lactato, triglicérides e colesterol (média ± desvio padrão) de equínos (n=20) determinadas por equipamento portátil (Accutrend[®] Plus) e por metodologia laboratorial convencional (Brasília, 2010).

	Glicose (mg/dL)	Lactato (mmol/L)	Triglicérides (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)
Accutrend [®] Plus	4,67 ± 0,69	1,57 ± 0,39	low	low
YSI2300 STAT PLUS	4,44 ± 0,43	0,66 ± 0,27*	-	-
Bio2000 – BioPLUS [®]	-	-	19 ± 7,39	62,65 ± 14,17
Valores de Referência	4,27 - 7,32 ¹	0,55 - 1,11 ² 1,11 - 1,78 ³	4 – 44 ⁴	75 – 150 ⁵

* indica diferença estatística entre os métodos de determinação (p<0,05).

1. HYYPPA et al., 1997; 2. RODIEK & STULL, 1997; 3. KANEKO, 1989; 4. BRUSS, 1980; 5. KANEKO et al., 1997

O tempo de armazenagem da amostra até a determinação dos constituintes é muito importante. No caso da glicose, em temperatura ambiente, os eritrócitos promovem um consumo dessa, na velocidade aproximada de 10% (do total) por hora (KANEKO, 1997). No presente trabalho as amostras com fluoreto de sódio foram acondicionadas em isopor com gelo durante 5 horas e, após esse período, congeladas. Valores médios (e desvio padrão) de glicose de 4,689 ± 0,69 e 4,44 ± 0,43mmol/L foram determinados no Accutrend[®] Plus e YSI 2300 STAT PLUS, respectivamente. Os dois aparelhos revelaram valores de acordo com os padrões de referência para equínos em repouso conforme descrito por HYYPPA et al. (1997) e Ferraz et al. (2008), que verificaram valores fisiológicos de glicose de 4,5 a 6,0mmol/L. Entretanto, não foi observada diferença (p=0,18) entre os valores de glicose segundo o teste T de Student. Na correlação de Pearson, obteve-se correlação fraca (r=0,08) entre os valores obtidos pelo aparelho portátil e pelo método de referência. O método de investigação de concordância de Bland&Altman (1986) não demonstrou boa concordância entre os resultados obtidos pelos aparelhos, com diferença média do Accutrend[®] Plus para o YSI2300 de 0,25 mmol/L e um limite de concordância de -1,3 e 1,79 mmol/L, sendo esses valores significativos e não sendo observada uma boa precisão entre esses aparelhos (Figura 1).

Na comparação dos valores referentes ao lactato, os resultados foram obtidos a partir de amostras de sangue total mensuradas pelo Accutrend[®] Plus (que determina os valores a partir de amostras de sangue total e os converte para valores plasmáticos por meio de cálculos, segundo o fabricante) e de plasma medidas pelo YSI 2300 STAT PLUS. Em ambos os métodos, determinou-se o lactato em mmol/L. No aparelho portátil, o valor médio (e desvio padrão) encontrado foi de 1,57 ± 0,39 mmol/L e no lactímetro de bancada foi de 0,66 ± 0,27 mmol/L. O resultado encontrado nesse trabalho corrobora Soares (2008), que afirmou que mensurações de lactato realizadas a partir do plasma de equínos apresentavam valores inferiores às determinações feitas com o sangue total e com Muñoz et al. (1996) que mencionaram que essa diferença entre os resultados das amostras deve ocorrer porque a concentração de lactato no interior das células sanguíneas é maior que a sua concentração plasmática.

No presente estudo, os valores obtidos pelo Accutrend[®] Plus corroboram Franchini et al. (2004), quando afirmaram que, para concentrações abaixo de 5 mmol/L outro lactímetro portátil (Accusport[®]), que utiliza a mesma tecnologia, também revelou valores maiores. Entretanto, os valores da concentração de lactato sanguíneo se revelaram dentro do padrão fisiológico, para equínos em repouso (1,11 a 1,78 mmol/L), segundo Kaneko (1989). Nos aparelhos

portáteis atenção especial deve ser dada aos valores de hematócrito, pois quando se mostrarem menores do que 30% os resultados podem ser falsamente elevados, enquanto que nos casos de valores de hematócrito maiores que 55% podem resultar em valores subestimados (WESS & REUSCH, 2000). No presente trabalho todos os animais apresentaram o hematócrito dentro dos valores de referência para a espécie, com média e desvio padrão de $36,27 \pm 5,55$.

Notou-se diferença ($P < 0,001$), entre os métodos de determinação pelo Teste T de Student, e não foi verificada boa concordância, pois a diferença média foi de 0,91 mmol/L e os limites de concordância (95%) de 0,17 e 1,65 mmol/L (Figura 2). A correlação de Pearson ($r = 0,407$) foi considerada moderada, diferindo dos trabalhos de alguns autores (FRANCHINI et al., 2004, KOBAYASHI, 2007) que compararam outro

lactímetro portátil (Accusport®), com o mesmo aparelho de referência do presente trabalho, onde foram reveladas correlações forte de $r = 0,9632$ e de $r = 0,95$, respectivamente.

As concentrações séricas médias (e desvio padrão) de triglicérides e colesterol determinadas pelo método laboratorial de referência, foram de $19 \pm 7,39$ mg/dL e $62,65 \pm 14,16$ mg/dL, respectivamente. No Accutrend®Plus o intervalo de leitura para os triglicérides é de 70 a 600 mg/dL e para o colesterol é de 150 a 300 mg/dL. Os resultados revelaram-se de acordo com os valores referenciais para equinos em repouso, todavia se encontraram fora do intervalo de leitura do aparelho portátil, não sendo possível a obtenção de resultados, indicado por LOW no visor.

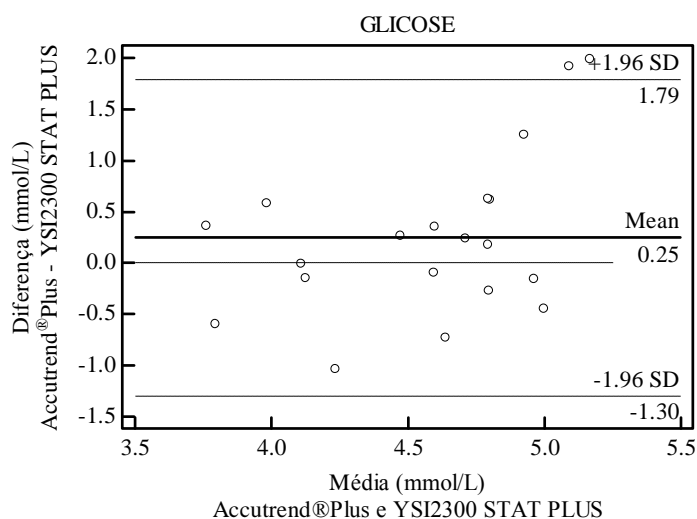


Figura 1 - Representação gráfica da concordância entre os aparelhos Accutrend®Plus e YSI2300 STAT PLUS de acordo com Bland e Altman (1986). O eixo horizontal mostra a média dos resultados de glicose obtidos pelos dois aparelhos e o eixo vertical demonstra as diferenças entre os métodos.

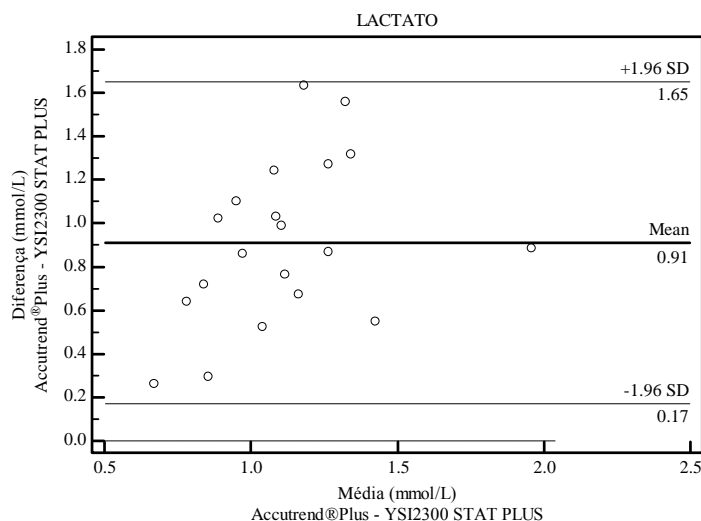


Figura 2 - Representação gráfica da concordância entre os aparelhos Accutrend®Plus e YSI2300 STAT PLUS, de acordo com Bland e Altman (1986). O eixo horizontal mostra a média dos resultados obtidos pelos dois aparelhos e o eixo vertical demonstra as diferenças entre os métodos.

CONCLUSÕES

A partir da análise dos resultados obtidos pelos métodos laboratoriais de referência, concluiu-se que a utilização do aparelho portátil Accutrend® Plus, segundo a recomendação do fabricante, para determinação de glicose, lactato, triglicérides e colesterol sanguíneos, não pode ser considerado método diagnóstico confiável na clínica médica de equinos.

REFERÊNCIAS

- BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **Lancet**. v.1, p.307-310, 1986.
- BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J. (Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. New York: Academic Press, 1980. p.83-95.
- CUNNINGHAM, J. G. Termorregulação. In: **Tratado de fisiologia veterinária**. São Paulo: Guanabara Koogan, 1999. p.507-514.
- FERRAZ, G. C.; D'ANGELIS, F. H. F.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; FREITAS, E. V. V.; LACERDA-NETO J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Blood lactate threshold reflects glucose responses in horses submitted to incremental exercise test. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.256-259, 2008
- FRANCHINI, E.; MATSUSHIGUE, K. A.; COLANTONIO, E.; KISS, M. A. P. D. Comparação dos analisadores de lactate accusport e yellow springs. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v.12, n.1, p.39-44. 2004.
- HYYPPA, S.; RASANEN, L. A.; POSO, A. R. Resynthesis of glycogen in skeletal muscle from standard bred trotters after repeated bouts of exercise. **American Journal of Veterinary Research**, v.58, n.2, p.162-166, 1997.
- KANEKO, J. J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4 ed., Academic Press: San Diego, 1989, p.480-486.
- KANEKO J. J. Serum proteins and dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS M. L. (Eds.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5.ed, San Diego. Academic Press, 1997. p.317-367.
- KOBAYASHI, M. Simple Lactate measurement in horses using a portable lactate analyzer with lancet skin puncture under field conditions. **Journal of Equine Science**, v.18, n.1, p.5-11, 2007.
- MACORIS, D. G. Exame clínico. In: **Fórum de Gastroenterologia Equina**. Curitiba:[s.n.],1994. p.10-16.
- MUÑOZ, A.; CASTEJÓN, F. M.; RUBIO, M. D.; VIVO, R.; AGÜERA, E. I.; ESCRIBANO, B. M.; SANTISTEBAN, R. How erythrocyte and plasma lactate concentrations are related in Andalusian horses during an exercise test and recuperation. **Journal Equine Science**. v.7, n.2, p.35-42, 1996.
- REHUNEN, S.; NÄVERI, H.; KUOPPASALMI, K.; HÄRKÖNEN, M. High-energy phosphate compounds during exercise in human slow-twitch and fast-twitch muscle fibers. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v.42, p.499-506, 1982.
- RODIEK, A.; STULL, C. L. Fat metabolism. In: THOMPSON, K. N. **Basic Equine Nutrition and its Physiological Functions**. St. Louis: Purina Mills Inc, 1997. p.43-51.
- SIMÕES, H. G.; CAMPBELL, C. S. G.; BALDISSERA, V.; DENADAI, B. S.; KOKUBUN E. Determinação do limiar anaeróbico por meio de dosagens glicêmicas e lactacidêmicas em testes de pista para corredores. **Revista Paulista de Educação Física**, v.12, p.17-30, 1998.
- SOARES, O. A. B. **Comparação de diferentes métodos lactacidêmicos e Glicêmicos de determinação do limiar anaeróbico em quinos**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2008. 80p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008.
- SPEIRS, V. C. O Sistema respiratório. In: **Exame Clínico de Equinos**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. p.37-81.
- SWENSON, M. J.; REECE, W. O. Fisiologia dos animais domesticos. In: BEITZ, D. C. **Metabolismo dos carboidratos**. 11ed. Guanabara 1996a. p.403-411.
- SWENSON, M. J.; REECE, W. O. Fisiologia dos animais domesticos. In: DETWEILLER, D. K. **Metabolismo dos carboidratos**. 11ed. Guanabara 1996b. p.198-199.
- WESS, G.; REUSCH, C. Evaluation of five portable blood glucose meters for use in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.216, n.2, p.203-209, 2000.