

EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO ÁCIDO ETILENODIAMINOTETRACÉTICO (EDTA) NO ERITROGRAMA DE CÃES.

RUBENS FERREIRA DIAS JUNIOR¹
MARCO ANTÔNIO DA ROCHA²
RAFAEL ANDRÉ FERREIRA DIAS³

DIAS JUNIOR, R.F., ROCHA, M.A., DIAS, R.A.F. Efeito de diferentes concentrações do ácido etilenodiaminotetracético (edta) no eritrograma de cães. *Semina: Ci. Agr., Londrina*, v.19, n.1, p.13-16, mar. 1998.

RESUMO: Com o objetivo de verificar a influência de diferentes concentrações do anticoagulante EDTA no eritrograma de cães, foi realizado um estudo com amostras de sangue de 9 animais da raça Fila Brasileiro e 5 animais da raça Boxer. Os resultados revelaram que até a concentração de 16 mg de EDTA por ml de sangue não ocorreram alterações significativas no eritrograma destas raças estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: EDTA, eritrograma, cães.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o interesse pelo desenvolvimento de pesquisas no campo da hematologia veterinária tem-se acentuado de maneira considerável, principalmente devido ao aperfeiçoamento das técnicas empregadas e também, pela utilização de respaldo laboratorial na busca de soluções relativas aos problemas clínicos pertinentes às diferentes espécies animais.

Rotineiramente um dos exames hematológicos mais utilizados é o eritrograma, sendo este, definido por Krache (1943), como sendo um conjunto de parâmetros hematológicos, mais especificamente a hematimetria, contagem do número de hemácias/mm³, concentração de hemoglobina em gramas/dl, o hematócrito (relação entre a parte líquida e sólida vermelha do sangue), cujos valores obtidos dão origem aos índices corpusculares absolutos VGM (volume globular médio), HGM (hemoglobina globular média) e CHGM (concentração de hemoglobina globular média).

Os anticoagulantes, substâncias indispensáveis na realização do eritrograma, impedem a coagulação sanguínea após a retirada do sangue do animal, sendo largamente utilizado para tal fim, o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA).

Na rotina laboratorial, esse anticoagulante é acondicionado em frascos, com capacidade total para 10 ml, adicionando-se individualmente o EDTA sódico na concentração de 1 mg/ml de sangue colhido, conforme recomendações de Schalm et al., (1975).

Muitas vezes, devido ao pequeno porte de alguns cães, procede-se a colheita e não obtêm-se a quantidade necessária de sangue, em relação à de anticoagulante existente no frasco, onde o mesmo será acondicionado, provocando-se desta maneira um aumento da concentração do anticoagulante em relação à quantidade de sangue obtido.

Trabalhos realizados por Lampasso (1965) e Pennock & Jones (1966) demonstram, no homem, que o excesso de EDTA em relação à quantidade de sangue colhido, ocasionava alterações eritrocíticas, influenciando no resultado final do eritrograma.

Penny et al., (1970), reportam que nos caninos, os valores do hematócrito diminuíam a medida, em que aumentava-se as concentrações de EDTA, enquanto que Blaxhall & Daisley (1973), utilizando sangue de peixe (*Salmo trutta*), relatam que o excesso de EDTA ocasiona decréscimo nos resultados finais do hematócrito e do volume celular médio das hemácias.

Com esta pesquisa objetivou-se determinar as alterações nos parâmetros hematológicos, constituintes do eritrograma de cães, em relação às diversas concentrações do anticoagulante EDTA.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização desta pesquisa foram utilizados 9 cães da raça Fila Brasileiro e 5 cães da raça Boxer, machos, adultos clinicamente sadios. De cada animal, através da punção da veia cefálica, obteve-se amostras de sanguíneas, sendo as mesmas, acondicionadas em frascos individuais contendo o anticoagulante EDTA nas concentrações de 2, 4, 8, 16, 32, 64 mg/ml. Posteriormente realizou-se o eritrograma de cada amostra sanguínea, seguindo-se as recomendações de Coles (1984).

As contagens de hemácias foram realizadas em câmaras de Neubauer e os valores transformados para \sqrt{x} . Para determinação do hematócrito utilizou-se a técnica do microhematócrito, centrifugando-se as amostras de sangue durante 5 minutos a 10.000 rpm. A determinação da concentração de hemoglobina foi feita pela técnica da cianometahemoglobina. Posteriormente, calculou-

¹ Docente do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva - Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina - Campus Universitário - CxP. 6001 - CEP 86051-990 - Londrina / PR - Fone (043) 371-4485.

² Docente do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Londrina

³ Acadêmico do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Londrina

se os índices hematimétricos absolutos, ou seja, o volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média (HGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas), desenvolvido por Euclides (1983). O modelo matemático utilizado foi o seguinte:

$$Y_{IJK} = \mu + R_I + C_J + (RC)_{IJ} + E_{IJK}$$

Em que:

- Y_{IJK} = observação referente à unidade experimental da raça I, concentração J e interação entre a raça I e concentrações J
 μ = média geral
 R_I = efeito da raça I, sendo I = 1 e 2
 C_J = efeito da concentração J, sendo J = 2, 4, 8, 16, 32 e 64 mg/ml
 $(RC)_{IJ}$ = efeito da interação da raça I com a concentração J
 E_{IJK} = erro experimental

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estatística dos resultados obtido no presente trabalho, evidencia alterações significativas no eritograma de cães, quando este é realizado com amostras de sangue com excesso de anticoagulante EDTA em relação a quantidade de sangue colhido.

Através da análise de variância (Tabela 1) verificou-se que em relação à concentração do anticoagulante EDTA, este ocasionou alterações significativas na contagem global de hemácias, hematócrito, e na concentração de hemoglobina globular média. Levando-se em conta essas alterações provocadas pelo aumento da concentração de EDTA, foram determinadas as médias (\bar{X}) e o erro padrão das médias (EP), nas diversas concentrações estudadas em relação à esses exames.

A taxa de hemoglobina, volume globular médio e hemoglobina globular média não sofreram alterações estatisticamente significativas quando do aumento da concentração do EDTA no sangue de cães.

Tabela 1. Resumo da Análise de variância para as características: hemácias, hemoglobina e CHGM, nas concentrações de 2, 4, 8, 16, 32 e 64 mg de EDTA/ml de sangue.

QUADRADOS MÉDIOS								
FV	G.L.	H.C.	H.B.	HT	VGM	HGM	CHGM	
RAÇA	1	101010,87	0,0296	0,0693	552,39	103,67	0,0053	
CONC.	5	274090,00	0,000971	0,0151	368,54	37,16	0,0101	
Linear	1	1272000,00	0,004461	0,0738	1122,97	67,58	0,0437	
Quad.	1	31530,42	0,000046	0,0006	457,39	111,60	0,0065	
Cub.	1	1301,24	0,000001	0,0004	151,35	0,11	0,0001	
Quart.	1	64798,02	0,000301	0,0003	95,12	6,36	0,000009	
Quint.	1	1319,40	0,000004	0,0001	24,43	0,08	0,0001	
RAÇA X CONC.	5	88526,75	0,0013	0,0005	785,57	47,39	0,0015	
Resíduo	72	34902,26	0,0020	0,0053	256,26	35,63	0,0042	

p < 0,05 ; p < 0,01

Contagem global de hemácias ($10^6/\text{mm}^3$)

Na Tabela 2, observa-se que a quantidade de hemácias decresceu, em média, de 4.924.848/ mm^3 , na concentração de 2 mg%, a 3.308.906/ mm^3 de sangue, na concentração de 64 mg% de EDTA. Observa-se, além disso, que não ocorreram alterações significativas quando da utilização do EDTA nas concentrações de 2, 4, 8, e 16 mg%, podendo-se utilizar-se do anticoagulante até a concentração de 16 mg/ml de sangue.

Tabela 2. Médias ajustadas (\bar{X}) e erro padrão (EP) para o número de hemácias (milhões/ mm^3), conforme as concentrações de EDTA (mg/ml).

CONC	\bar{X}	EP	
2	2.219,26 (4.924.848/ mm^3)	± 52,20 ^a	
4	2.154,92 (4.643.680/ mm^3)	± 52,15 ^a	
8	2.080,28 (4.327.564/ mm^3)	± 52,10 ^{ab}	
16	2.100,61 (4.412.562/ mm^3)	± 52,10 ^{ab}	
32	1.948,92 (3.798.289/ mm^3)	± 52,40 ^{bc}	
64	1.819,04 (3.308.906/ mm^3)	± 52,80 ^c	

* Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de TUKEY ao nível de 5%.

Hematócrito - HT (%)

Na Tabela 3, observa-se que a porcentagem do hematócrito decresceu, em média, de 36,3%, na

concentração de 2 mg% a 27,7 % na concentração de 64 mg/ml. Observou-se que quando da utilização do anticoagulante nas concentrações de 2, 4 e 8 mg/ml, essas foram estatisticamente diferentes da concentração de 16, 32 e 64 mg/ml ($P < 0,05$).

Tabela 3. Média ajustada (\bar{X}) e erros padrões (EP) para o hematócrito (%), conforme as concentrações de EDTA (mg/ml).

CONC	\bar{X}	\pm	EP
2	0,6474	(36,3)	\pm 0,0204 ^a
4	0,6437	(36,0)	\pm 0,0204 ^a
8	0,6311	(34,8)	\pm 0,0204 ^a
16	0,6287	(34,6)	\pm 0,0204 ^{a,b}
32	0,6108	(32,8)	\pm 0,0204 ^{a,b}
64	0,5547	(27,7)	\pm 0,0204 ^b

* Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de TUKEY ao nível de 5%

Concentração de hemoglobina globular média – CHGM (g/dl)

Verificando-se a Tabela 4, observa-se que a concentração de hemoglobina globular média aumentou, em média, de 33,9 g/dl, na concentração de 2 mg/ml a 40,5 g/dl na concentração de 64 mg/ml. Observa-se ainda, que não ocorreram alterações significativas quando da utilização de EDTA nas concentrações de 2, 8, 16 e 32 mg/ml. Os valores não foram sempre crescentes, pois na concentração de 2 e 4 mg/dl, ocorre diferenças significativas.

De acordo com os trabalhos realizados por Lampasso (1965) e Pennock & Jones (1966), verificaram que o aumento de concentração de EDTA no sangue interferem nos resultados finais dos exames hematológicos, não devendo exceder a 2 mg/ml de sangue, enquanto que Schalm et al., (1975), recomenda a concentração de 1 mg/ml de sangue colhido.

Tabela 4. Médias ajustadas (\bar{X}) e erros padrões (EP) para concentração de hemoglobina globular média (g%), conforme as concentrações de EDTA (mg/ml).

CONC	\bar{X}	\pm	EP
2	0,6217	(33,9)	\pm 0,018 ^a
4	0,6168	(33,4)	\pm 0,018 ^b
8	0,6234	(34,1)	\pm 0,018 ^{a,b}
16	0,6204	(33,8)	\pm 0,018 ^{a,b}
32	0,6287	(34,6)	\pm 0,018 ^{a,b}
64	0,6902	(40,5)	\pm 0,018 ^a

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de TUKEY ao nível de 5%

Raças

Na análise de variância dos resultados (Tabela 1), observou-se que entre as raças estudadas ocorreram alterações significativas na quantidade de hemoglobina e na porcentagem de hematócrito.

Na raça Fila Brasileiro, observou-se, em média, a quantidade de 10,5 g/ml \pm 0,006 e na raça Boxer esta situou-se na quantidade de 13,1 g/ml \pm 0,008. Com relação a porcentagem de hematócrito, na raça Fila Brasileiro, observou-se, em média, a quantidade de 31% \pm 0,01, e na raça Boxer 36,6% \pm 0,01/ml de sangue colhido. Nos outros parâmetros hematológicos estudados não ocorreram alterações estatisticamente importantes. A interação raça x concentração de EDTA foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$) para a quantidade de hemácias e concentração de hemoglobina globular média indicando que as duas raças tiveram respostas diferentes nas concentrações de EDTA.

Como a determinação dos parâmetros hematológicos é na maioria das vezes feita ao mesmo tempo e utilizando-se da mesma amostra de sangue, observou-se que a concentração máxima permitida do anticoagulante EDTA por ml de sangue, em cães, não deverá ser superior a 16 mg/ml, visto que, a partir dessa concentração ocorrerão alterações significativas na contagem de hemácias.

4. CONCLUSÃO

Constatou-se que para a realização do eritrograma de cães a concentração de EDTA por ml de sangue colhido não poderá ultrapassar 16 mg/ml, visto que, a partir desta concentração ocorrerão alterações estatisticamente significativas.

DIAS JUNIOR, R.F., ROCHA, M.A., DIAS, R.A.F. Influence of ethylenediaminetetracetic acid (edta) concentration in the dog's erythrogram. *Semina: Ci. Agr.*, Londrina, v.19, n.1, p.13-16, mar. 1998.

ABSTRACT: In order to verify the influence of EDTA concentration on dog's erythrogram, 9 Fila brasileiro and 5 Boxer breed animals were studied. The results showed that, until 16 mg of EDTA per ml, there were no significant alterations on the erythrograms of these breeds.

KEY WORDS: EDTA, erithrogram, dogs

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLAXHALL, P.C., DAISLEY, K.W. Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, v.5, p.771-781, 1973.
- COLES, E.H. *Veterinary Clinical Pathology*. 3. ed. [s.l.]: Saunders, 1980. 556p.
- EUCLYDES, R.F. *Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas)*. Viçosa: Imprensa Universitária, 1983. 59 p.
- KRACHE, R. *Doenças do sangue*. 2. ed., Rio de Janeiro: Koogan, 1943. 980 p.
- LAMPASSO, J.A. Error in haematocrit value produced by excessive ethylenodiaminetetracetic. *Am. J. Pathol.*, v.44, p.109-110, 1965.
- PENNOCK, C.A., JONES, K.W. Effect of EDTA dipotassium salt, and heparin on the estimation of packed cell volume. *J. Clin. Pathol.*, v.19, p.196-199, 1966.
- PENNY, R.H.C. Some observations on the effects of the EDTA on the packed cell volume of domesticated animals. *Brit. Vet. J.*, v.126, p.383-389, 1970.
- SCHALM, O.W., JAIN, N.C., CARROL, E.J. *Veterinary haematology*. 3. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1975. 807 p.