

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**LUCAS WACHHOLZ**

**INTENSIDADE LUMINOSA, JEJUM PRÉ-COLETA E TEMPO DE ESTOCAGEM  
DE AMOSTRAS DE SANGUE DE FRANGOS DE CORTE PARA ANÁLISES  
BIOQUÍMICAS**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

**2020**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**LUCAS WACHHOLZ**

**INTENSIDADE LUMINOSA, JEJUM PRÉ-COLETA E TEMPO DE ESTOCAGEM**  
**DE AMOSTRAS DE SANGUE DE FRANGOS DE CORTE PARA ANÁLISES**  
**BIOQUÍMICAS**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção Animal, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes

Co-Orientadores: Cinthia Eying  
Gene Michael Pesti

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

**2020**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Wachholz, Lucas

Intensidade luminosa, jejum pré-coleta e tempo de estocagem de amostras de sangue de frangos de corte para análises bioquímicas / Lucas Wachholz; orientador(a), Ricardo Vianna Nunes; coorientador(a), Cinthia Eyng, coorientador(a)II, Gene Michael Pesti, 2020.

78 f.

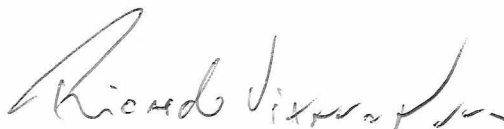
Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2020.

1. bioquímica sanguínea. 2. frações sanguíneas. 3. jejum. 4. tempo de estocagem. I. Nunes, Ricardo Vianna. II. Eyng, Cinthia . III. Pesti, Gene Michael. IV. Título.

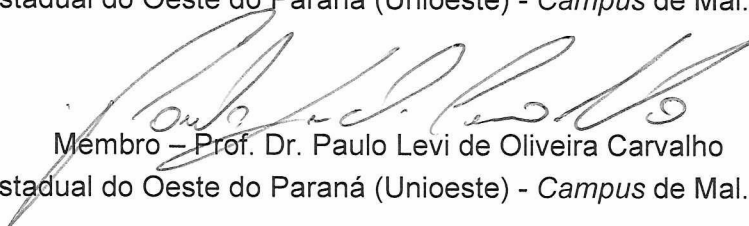
## LUCAS WACHHOLZ

### **Intensidade luminosa, jejum pré-colheita e tempo de estocagem de amostras de sangue de frangos de corte para análises bioquímicas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de “Doutor em Zootecnia”, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, Linha de Pesquisa “Produção e Nutrição de Não-Ruminantes”, APROVADO(A) pela seguinte Banca Examinadora:



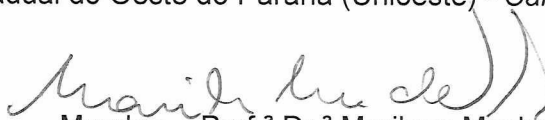
Orientador / Presidente – Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Membro – Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Membro – Dr.<sup>a</sup> Jakeline Marcela Azambuja de Freitas  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Toledo (PNPD/PREP)



Membro – Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marilene Machado Silva  
Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina

Membro – Prof. Dr. Leandro Dalcin Castilha  
Universidade Estadual de Maringá (UEM) – *via* Skype

Marechal Cândido Rondon, 20 de março de 2020.



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**  
GOVERNO DO ESTADO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA – MESTRADO E DOUTORADO**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO ANIMAL**  
**LINHA DE PESQUISA: PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO DE NÃO-RUMINANTES**

DECLARAÇÃO DE PARTICIPAÇÃO À DISTÂNCIA EM BANCA EXAMINADORA  
DE TESE DE DOUTORADO NA  
UNIOESTE – CAMPUS DE MAL. CÂNDIDO RONDON

Às 13h30min do dia 20/03/2020, participei de forma remota e síncrona com os demais membros que assinam a ata física deste ato público, da Banca Examinadora de Tese de **LUCAS WACHHOLZ**, discente de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Mal. Cândido Rondon, referente ao trabalho intitulado “**Intensidade luminosa, jejum pré-colheita e tempo de estocagem de amostras de sangue de frangos de corte para análises bioquímicas**”.

Considerando o trabalho avaliado, as arguições de todos os membros da banca e as respostas dadas pelo candidato, formalizo para fins de registro, por meio deste documento, minha decisão de que o candidato pode ser considerado **APROVADO**.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. Leandro Dalcin Castilho**

leandrocastilha@hotmail.com

CPF nº 051.804.929-98

Doutor em Zootecnia (2015) pela Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Professor Adjunto no Departamento de Zootecnia da UEM

Centro de Ciências Agrárias – UEM

Av. Colombo, 5790, Bloco J45 – DZO / Jardim Universitário

87020- 900 – Maringá / PR

**Dedico aos meus pais Sérgio e Lori Wachholz pelo amor e apoio incondicional que me proporcionaram durante toda a jornada acadêmica e a meu irmão e melhor amigo Diogo Luan Wachholz.**

## **Agradecimentos**

À minha família, que me ajudou da melhor maneira possível, principalmente nos momentos mais difíceis, não me deixando desanimar diante dos obstáculos.

Ao meu orientador, professor Ricardo Vianna Nunes, pela amizade, atenção e auxílio na elaboração deste trabalho.

À minha coorientadora, professora Cinthia Eyng, pela amizade, atenção e auxílio.

Ao meu coorientador, Gene Michael Pesti, pelo auxílio ao projeto.

Ao assistente administrativo do PPZ, Paulo Henrique Morsch, pelo excelente trabalho prestado a nós discentes, estando sempre na prontidão para nos auxiliar.

Aos docentes do PPZ, pelos conhecimentos proporcionados e pelo auxílio nas pesquisas.

Aos Pós Doutorandos, Jomara Broch e André Sanches de Avila, pela amizade e sugestões fornecidas.

Aos amigos do Grupo de Estudos GEMADA, Cleison de Souza, Vaneila Lenhart Savaris, Clauber Polese, Gabriela Glaeser Sangalli, Nilton Rohloff Junior, Jessica Lima Damasceno, Emanuelle Cristine dos Santos, Patrícia de Oliveira Nesello, Maira Suzana Durrewald Pavlak, Guilherme Luis Silva Tesser, Giovana Regina Perin, Nathanael Cesar Costa Santos, Karine Isabela Tenório, Edinan Hagdon Cirilo, Mariana Larissa Lohmann, Frantielo Alex Machado, Gabriela Regina Lohmann, Loane Francine Hanusch Prass, Felipe Poténza Campos, Tania Luiza Kohler, Alessandra Luiza Goldschmidt, Cristine Kaufmann, Matheus Henrique Zanelato, Daniela Benachio Jablonski e Ana Paula Guimarães Cruz Costa.

Aos meus amigos, Jonas Francisco Egewart, Josias Luis Fornari, Fernando Andre Anschau, Luana Muxfeldt, Samantha Mariana Monteiro Sunahara, Andressa Faccenda, Mirna Adriane Syperreck, Heloíse Trautenmuller, Jeferson Tiago Piano, Kerolem Pricila Sousa Cardoso, Tauane Santos Brito, Jaqueline de Araújo Barbosa e Maria Salomé da Silva Ribeiro, pela convivência e valiosa amizade.

Aos funcionários do núcleo de estações experimentais, com menção especial ao amigo e responsável pelo setor de avicultura, Emerson Schmidt.

Às professoras Elisandra Lurdes Kern e Taciana de Oliveira Bruxel, pelo auxílio nos estágios de docência e valiosas dicas.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE e seus colaboradores, pelo acolhimento e aprendizado que me foram proporcionados.

Ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho,  
muito obrigado!



# **INTENSIDADE LUMINOSA, JEJUM PRÉ-COLETA E TEMPO DE ESTOCAGEM DE AMOSTRAS DE SANGUE DE FRANGOS DE CORTE PARA ANÁLISES BIOQUÍMICAS**

## **RESUMO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da utilização dos tratamentos soro ou plasma (fluoreto de sódio), tempo de jejum a que os frangos foram submetidos, tempo de estocagem da amostra a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  e intensidade luminosa submetida às aves sobre as concentrações de glicose, colesterol, triglicerídeos e atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil tranferase (GGT) de frangos de corte aos 45 dias de idade. Foram realizados dois estudos, no primeiro, 70 frangos de corte machos de 45 dias de idade foram submetidos a coletas sanguíneas após 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas de jejum. Imediatamente após a coleta e a 30 e 60 dias após, foram determinados os teores séricos e plasmáticos dos parâmetros sanguíneos. As concentrações de glicose sérica declinaram linearmente ao tempo de jejum ( $P<0,01$ ) enquanto as concentrações de colesterol ( $P<0,01$ ) e atividade de GGT plasmática ( $P<0,05$ ) aumentaram linearmente para o tempo de jejum. As concentrações de glicose plasmática e a atividade de ALT tiveram efeito quadrático com pontos de máxima respectivos a 3h e 57 minutos e 8h e 9 minutos de jejum. As concentrações de triglicerídeos e atividade de GGT sérica apresentaram efeitos quadráticos com respectivos pontos de mínima a 8h e 44 minutos e 5h e 12 minutos de jejum. A GGT sérica foi mais elevada aos 60 dias de estocagem. Os valores de glicose e ALT apresentaram suas menores concentrações e/ou atividade aos 30 dias em relação à análise imediata e 60 dias em relação à estocagem. As concentrações de colesterol e atividade de AST e ALT apresentaram-se maiores no soro do que no plasma ( $P<0,01$ ) e os triglicerídeos foram mais concentrados na fração plasmática. Desta forma, a determinação de AST no plasma e soro não é influenciada pelo tempo de jejum e estocagem, portanto, as análises podem ser conduzidas em até 60 dias quando as amostras são armazenadas a  $-20^{\circ}$ . Mensurações de colesterol e triglicerídeos podem ser realizadas em amostras estocadas até 60 dias, porém não influenciadas pelo tempo de jejum. No segundo estudo foram utilizados 140 frangos machos separados em dois ambientes (5 e 20 lux de iluminação) e realizada a coleta de sangue de 10 aves de cada ambiente em cada período de jejum (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas), para a preparação de soro e plasma que foram armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 0,

15, 30, 60 e 120 dias, sendo após realizadas as análises bioquímicas. As concentrações de glicose sérica declinaram linearmente  $1,15 \text{ mg dL}^{-1}$  a cada duas horas de jejum, e a glicose plasmática teve efeito quadrático com ponto de mínima a 8 h e 13 minutos de jejum. As atividades séricas de ALT apresentaram efeito quadrático com ponto de máxima a 3 h e 46 minutos de jejum, porém as atividades plasmáticas de ALT não se ajustaram aos modelos de regressão utilizados. As atividades séricas de GGT não receberam influência dos tempos de jejum ( $P > 0,05$ ), enquanto as atividades plasmáticas decrescem  $1,60 \text{ IU L}^{-1}$  a cada 2 horas de jejum. As atividades de AST foram influenciadas pelo jejum ( $P < 0,001$ ), porém não se adequaram aos modelos de equações utilizados ( $P > 0,05$ ). Os tempos de estocagem apresentaram efeito quadrático nas concentrações de glicose, com pontos de máxima respectivos no soro e no plasma de 95 e 72 dias. O conteúdo de triglicerídeos séricos aumentou linearmente, porém as concentrações de triglicerídeos plasmáticos não apresentam alterações relacionadas à estocagem ( $P > 0,05$ ). O tempo de estocagem ocasionou resposta quadrática sobre a ALT sérica, com ponto de máxima aos 32 dias de estocagem, enquanto na forma plasmática ocorreu ponto de mínima aos 93 dias de estocagem. As concentrações de colesterol e atividade de GGT aumentaram linearmente ao tempo de estocagem. As concentrações de glicose, triglicerídeos e atividade das enzimas AST e ALT foram maiores sob a intensidade luminosa de 20 lux, e as concentrações de colesterol e atividade GGT foram superiores com a utilização de 5 lux de luminosidade. Perante o exposto, verifica-se que amostras para análise de AST podem ser estocadas em até 120 dias a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Indica-se a utilização preferencial de amostras de soro para a realização de análises de glicose, colesterol, triglicerídeos, AST, ALT e GGT, evitando o congelamento, com jejum de seis horas e, ao transcrever os resultados, recomenda-se especificar a intensidade luminosa a qual as aves estão expostas.

**Palavras-chave:** bioquímica sanguínea, frações sanguíneas, jejum, tempo de estocagem.

## **LIGHT INTENSITY, PRE-COLLECTION FASTING AND STORAGE TIME OF CHICKEN BLOOD SAMPLES FOR BIOCHEMICAL ANALYSIS**

### **ABSTRACT**

The aim of the present study was to evaluate the effect of using the serum or plasma (sodium fluoride) treatments, the fasting time to which the chickens were subjected, the sample storage time at -20 °C and the light intensity submitted to the birds on the concentrations of glucose, cholesterol, triglycerides, and activity of the enzymes aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and gamma glut amyl transferase (GGT) from broilers at 45 days of age. Two studies were carried out, in the first 70 male broilers of 45 days of age were submitted to blood collections after 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours of fasting and immediately after collection and at 30 and 60 days after collection, serum and plasma levels of blood parameters were determined. Serum glucose concentrations declined linearly at fasting time ( $P<0.01$ ) while cholesterol concentrations ( $P<0.01$ ) and plasma GGT activity ( $P<0.05$ ) increased linearly for fasting time. Plasma glucose concentrations and ALT activity had a quadratic effect with respective maximum points at 3h and 57 minutes and 8h and 9 minutes of fasting. The concentrations of triglycerides and serum GGT activity showed quadratic effects with respective minimum points at 8h and 44 minutes and 5h and 12 minutes of fasting. Serum GGT was higher at 60 days of storage. The glucose and ALT values showed their lowest concentrations and or activity at 30 days in relation to the immediate analysis and 60 days of storage. Cholesterol concentrations, AST and ALT activity were higher in serum than in plasma ( $P<0.01$ ) and triglycerides were more concentrated in the plasma fraction. In this way, the determination of AST in plasma and serum is not influenced by the fasting and storage time, therefore, the analyzes can be conducted in up to 60 days when the samples are stored at -20°. Measurements of cholesterol and triglycerides can be performed on samples stored for up to 60 days, but not influenced by the fasting time. In the second study, 140 male chickens separated in two environments (5 and 20 lux of lighting) were used and blood was collected from 10 birds from each environment in each fasting period (0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours), for the preparation of serum and plasma that were stored at -20° C for 0, 15, 30, 60 and 120 days, after which biochemical analyzes were performed. Serum glucose concentrations declined linearly 1.15 mg dL<sup>-1</sup> every two hours of fasting and plasma glucose had a quadratic effect with a minimum point of 8 h

and 13 minutes of fasting. The serum ALT activities showed a quadratic effect with a maximum point at 3 h and 46 minutes of fasting, but the plasmatic activities of ALT did not adjust to the regression models used. Serum GGT activities were not influenced by fasting times ( $P>0.05$ ), while plasma activities decreased by  $1.60 \text{ IU L}^{-1}$  every 2 hours of fasting. AST activities were influenced by fasting ( $P<0.001$ ) but were not adapted to the equation models used ( $P>0.05$ ). The storage times showed a quadratic effect on glucose concentrations with respective maximum points in serum and plasma for 95 and 72 days. The serum triglyceride content increased linearly, but the plasma triglyceride concentrations do not show changes related to storage ( $P>0.05$ ). The storage time caused a quadratic response over the serum ALT with a maximum point at 32 days of storage, while in the plasma form there was a minimum point at 93 days of storage. Cholesterol concentrations and GGT activity increased linearly over storage time. The concentrations of glucose, triglycerides, and activity of the enzymes AST and ALT were higher under the luminous intensity of 20 lux and the concentrations of cholesterol and GGT activity were higher with the use of 5 lux of luminosity. In view of the above, it appears that samples for analysis of AST can be stored in up to 120 days at  $-20^{\circ}\text{C}$ . The preferential use of serum samples is indicated for the analysis of glucose, cholesterol, triglycerides, AST, ALT and GGT, avoiding freezing, with a six-hour fast and when transcribing the results it is recommended to specify the light intensity when to which the birds are exposed.

**Key words:** blood biochemistry, blood fractions, fasting, storage time.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Concentrações séricas e plasmáticas de glicose, colesterol, triglicerídeos, e atividade de Alanina aminotransferase (ALT) e Gama glutamil transferase (GGT) de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum.....47
- Figura 2. Concentrações séricas e/ou plasmáticas de glicose, colesterol, triglicerídeos, e atividade de alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum.....71
- Figura 3. Concentrações de glicose, colesterol, triglicerídeos, e atividade de alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) de amostras de soro e/ou plasma de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes períodos de estocagem .....72

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Concentrações médias de glicose, colesterol e triglicerídeos no plasma e no soro de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum e períodos de estocagem.....44
- Tabela 2. Concentrações médias de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) no plasma e no soro de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum e períodos de estocagem.....45
- Tabela 3. Equações de regressão da glicose, colesterol, triglicerídeos, e atividade de alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes períodos de jejum e tempo de estocagem das amostras .....46
- Tabela 4. Concentrações médias de glicose, colesterol e triglicerídeos no plasma e no soro de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum, períodos estocagem e intensidades luminosas (5 e 20 lux).....68
- Tabela 5. Atividade de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) no plasma e no soro de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum, períodos estocagem e intensidades luminosas (5 e 20 lux).....69
- Tabela 6. Equações de regressão de glicose, colesterol, triglicerídeos, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) no plasma e no soro de frangos de corte submetidos a diferentes períodos de jejum e estocagem.....70

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	17
2.1	Tecido sanguíneo.....	17
2.2	Preparo de amostras e influência da fração sanguínea (soro ou plasma) utilizada para análise.....	18
2.3	Influência do jejum sobre os parâmetros sanguíneos.....	20
2.4	Estocagem de amostras .....	20
2.5	Intensidades de luz em sistemas produtivos de frangos de corte e seus efeitos.....	21
2.6	Glicose.....	22
2.7	Colesterol.....	23
2.8	Triglicerídeos.....	23
2.9	Enzimas aminotransferases .....	24
2.10	Aspartato aminotransferase .....	25
2.11	Alanina aminotransferase .....	25
2.12	Gama glutamil transferase.....	26
	REFERÊNCIAS .....	28
3	TEMPO DE ESTOCAGEM E JEJUM SOBRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS E PLASMÁTICAS DE INTERMEDIÁRIOS DA VIA ENERGÉTICA E ENZIMAS METABÓLICAS EM FRANGOS DE CORTE.....	36
3.1	Introdução.....	39
3.2	Material e Métodos.....	41
3.3	Resultados .....	43
3.4	Discussão.....	48
3.5	Conclusões.....	51
	REFERÊNCIAS .....	52
4	INFLUÊNCIA DA INTENSIDADE LUMINOSA, FRAÇÃO SANGUÍNEA, PERÍODO DE JEJUM E ESTOCAGEM SOBRE OS METABOLITOS DA VIA ENERGÉTICA E ENZIMAS HEPÁTICAS EM FRANGOS DE CORTE .....	57
4.1	Introdução.....	61
4.2	Material e Métodos.....	63
4.3	Resultados .....	66
4.4	Discussão.....	73
4.5	Conclusões.....	76
	REFERÊNCIAS .....	77

5	Considerações Finais .....	82
---	----------------------------	----



## 1 INTRODUÇÃO

A avaliação de parâmetros bioquímicos no sangue é um importante instrumento de pesquisa na avicultura e cresce gradualmente como ferramenta auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos no metabolismo das aves advindo da nutrição, manejo, agentes estressores, desafios de campo, intoxicações, entre outros.

Os constituintes extracelulares do sangue incluem água, eletrólitos, glicose, enzimas, hormônios e proteínas, essenciais para a manutenção da homeostasia corporal (VIEITES et al., 2004). A determinação da concentração desses constituintes, proporciona a obtenção de informações sobre a situação metabólica em que se encontram os indivíduos observados (GATTANI et al., 2016), sendo de grande importância em pesquisas na avicultura, permitindo determinar a participação de componentes específicos e seus efeitos nas alterações em relação aos valores de referência.

A mensuração do perfil bioquímico sanguíneo das aves permite determinar a influência de agentes externos ao organismo, os quais podem estar interferindo no desenvolvimento dos animais. Dentre os principais fatores que podem influenciar essas alterações estão os agentes patogênicos (SOLIS-CRUZ et al., 2019; CEPEDA et al., 2016), a nutrição, o manejo (MINAFRA et al., 2010; BORSA et al., 2006), além de fatores climáticos (BUENO et al., 2017) e a própria idade do animal.

Fatores como o período de jejum podem interferir na modulação do metabolismo animal. Esses períodos que antecedem a coleta de sangue não estão bem definidos. Além disso, animais submetidos a um longo período de jejum podem entrar em catabolismo, retirando nutrientes do organismo para atividades essenciais e, muitas vezes, observa-se nas pesquisas disparidade quanto ao tempo de jejum para coleta de sangue, ou se esse realmente se faz necessário. Córdova-Noboa et al. (2018) não realizaram jejum das aves para coleta das amostras de sangue, entretanto Zakaria et al. (2017); Behboudi et al. (2016); Swarna et al. (2018) e Sadeghi et al. (2014) submeteram os animais a jejum, variando de 2 a 12 horas antes da coleta.

Há a necessidade de determinar a resposta dos componentes bioquímicos sanguíneos, sendo observados diversos estudos com várias espécies (PICHETH et al., 2001; CERÓN et al., 2004; BURTIS et al., 2012; SILVA et al., 2015), porém dados utilizando frangos de corte são escassos. Outra divergência observada está na fração sanguínea utilizada, podendo ser soro (GILANI et al., 2018; SUBHANI et al., 2018),

enquanto outros pesquisadores utilizam plasma sanguíneo (SHARIDEH et al., 2016; YANG et al., 2017).

Outro fator que promove influência nas análises bioquímicas, porém usualmente não recebe muita atenção, é a intensidade luminosa, pois estudos também revelam que as diferentes intensidades luminosas a que as aves podem ser submetidas modelam de forma diferente e aleatória as concentrações dos analitos bioquímicos sanguíneos (OLANREWAJU et al., 2010; OLANREWAJU et al., 2013; MAHMOOD et al 2014; OLANREWAJU et al., 2014; FIDAN et al. 2017).

Perante o exposto, verifica-se a necessidade de determinar a condição ideal para a coleta de amostras de sangue e frações a serem utilizadas nas avaliações das concentrações de glicose, colesterol, triglicerídeos e na atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) em frangos de corte aos 45 dias de idade.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Tecido sanguíneo

O sangue é um tipo especial de tecido conjuntivo originado pelo tecido hematopoiético que se apresenta na forma líquida e tem por função o transporte de nutrientes, gases, hormônios, eletrólitos, calor, células de defesa e diversas substâncias pelo organismo do animal (HALL, 2017).

O transporte inicial dos nutrientes e outras substâncias inicia-se logo após a absorção no trato gastrointestinal, sendo direcionado para os tecidos ou órgãos que possuem demanda. O sangue também é responsável por transportar os produtos do metabolismo das células até os órgãos de excreção, o oxigênio dos pulmões para os tecidos, o dióxido de carbono dos tecidos para os pulmões e as secreções das glândulas endócrinas por todo o corpo (HALL, 2017).

Esse tecido é constituído pelas seguintes células sanguíneas denominadas de eritrócitos (hemácias ou glóbulos vermelhos), plaquetas e leucócitos (glóbulos brancos). Esses últimos dividem-se em basófilos, linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos e o plasma (SCANES, 2014).

Muito importante para a manutenção das concentrações dos componentes sanguíneos é a pressão osmótica. Para a compreensão desse conceito, é necessário explicar a osmose: passagem de água de um meio menos concentrado para outro mais concentrado através de uma membrana semipermeável, até que as soluções apresentem equilíbrio. Assim a pressão osmótica é a pressão aplicada à solução sanguínea, evitando que ocorra o fluxo osmótico (SOUZA e ELIAS, 2006).

Para a realização adequada das análises do perfil metabólico sanguíneo é necessária a utilização do conhecimento bioquímico e fisiológico dos animais, assim como conhecer a fonte e a função de cada um dos metabólitos avaliados, utilizando métodos adequados na sua determinação (WITTEWER, 1995).

A avaliação de parâmetros bioquímicos é uma importante ferramenta que possibilita a detecção de problemas metabólicos, distúrbios e intoxicações nutricionais, entre outros problemas hepáticos, uma vez que esse órgão é responsável por todo metabolismo nutricional, sendo que todo nutriente ou metabolito absorvido passa pelo fígado e é direcionado para outros órgãos (REECE, 2015).

## **2.2 Preparo de amostras e influência da fração sanguínea (soro ou plasma) utilizada para análise**

Para a mensuração de parâmetros bioquímicos, podem ser utilizadas as frações plasma ou soro. Denomina-se plasma a parte líquida sanguínea, composta por proteínas, sais minerais, gás carbônico e outras substâncias dissolvidas em água. Essa porção é responsável pelo transporte do gás carbônico produzido pela respiração celular, transporta nutrientes e os resíduos produzidos pelas células, participa da defesa do organismo e da coagulação sanguínea (THRALL et al., 2012).

O plasma permite a troca de diversos componentes com o líquido intersticial através de poros existentes na membrana capilar dos vasos sanguíneos, porém, as proteínas plasmáticas, em especial por possuírem diâmetro mais elevado, normalmente não atravessam a membrana capilar, permanecendo no plasma (REECE, 2005).

O soro diferencia-se do plasma por não possuir fibrinogênio, uma glicoproteína que participa da coagulação sanguínea (CARLOS e FREITAS, 2007). A maneira simples de separar o soro dos demais constituintes é a centrifugação: os fatores de coagulação são removidos naturalmente (THRALL et al., 2012). Para o preparo das amostras de soro, utilizam-se tubos sem aditivos, geralmente tubos com ativador de coágulo (sílica) jateados nas bordas, ou tubos com ativador de coágulo e gel separador (THRALL et al., 2012).

De acordo com Schmidt et al. (2007), a coleta de soro em aves resulta em amostras com volume pequeno, assim, normalmente utiliza-se o plasma pelo maior volume de amostra gerado durante o processamento. A principal vantagem do plasma em relação ao soro é em nível operacional, pois com o plasma consegue-se obter volumes maiores de sobrenadante (LUMEIJ, 2008).

Na realização de análises bioquímicas sanguíneas, diversos fatores podem influenciar nos resultados das análises, como o preparo das amostras, presença de fibrina ou hemólises, bem como o processamento das amostras durante a centrifugação, como o tempo e velocidade, a avaliação imediata ou sua estocagem, como o tempo e a temperatura, além dos diferentes tipos de anticoagulantes que podem ser utilizados (THRALL et al., 2012).

Hemólise, refere-se à lise ou ruptura das hemácias liberando hemoglobina e outros componentes internos ao plasma ou soro. A ocorrência de hemólise em amostras para a análise pode ser causada por fatores *in vivo*, com fator clínico patológico *ou in vitro*, através de erros nos procedimentos de coleta e processamento das amostras (FRANK et al., 1978).

Para a obtenção do plasma, os anticoagulantes mais comumente utilizados são o fluoreto de sódio, EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), EDTA + fluoreto de sódio, citrato de sódio e heparina (OWEN, 2011).

O EDTA é mais utilizado em hematologia pois tem como vantagem a característica de não deformar as células, atuando como agente quelante do cálcio e impedindo o processo de coagulação (OWEN, 2011). Esse anticoagulante é normalmente disponibilizado na forma de sal de sódio ou de potássio.

A heparina é um anticoagulante produzido pelo organismo animal, também pode ser utilizada para análises bioquímicas, pois atua interferindo na transformação de protrombina em trombina (EVANS, 2009).

O citrato de sódio é outro anticoagulante que pode ser utilizado nas análises sanguíneas, porém seu emprego é reduzido na hematologia por causar deformação em alguns tipos de células, sendo pouco utilizado na bioquímica sanguínea, pois interfere em grande parte nos testes bioquímicos plasmáticos (EVANS, 2009).

O fluoreto de sódio é um anticoagulante fraco, recomendado para a dosagem de glicemia plasmática e pode ser utilizado na determinação de outros parâmetros bioquímicos. Atua prevenindo que as hemácias e leucócitos metabolizem a glicose, através da inibição da enzima enolase (fosfopiruvato hidratase), da via glicolítica, a qual é responsável pela conversão de 2-fosfoglicerato em fosfoenolpiruvato (SACKS et al., 2011). Ele é muitas vezes associado ao EDTA e normalmente utilizado na concentração de  $1,5 \text{ mg ml}^{-1}$  de sangue, sendo que as amostras estocadas com seu uso permanecem estáveis por 8 horas a  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e por 28 horas entre  $2$  a  $8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Já sem a utilização de fluoreto, a concentração da glicose regride em torno de  $10 \text{ mg dL}^{-1}$  por hora, a uma temperatura de  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  (GUPTA et al., 2016).

Segundo Evans (2009), a utilização de soro para realização de testes enzimáticos nem sempre é a mais adequada, pois durante o processo de coagulação, há a liberação de enzimas que podem alterar os resultados das análises. Borsa et al. (2006) observaram que as variações nos níveis de enzimas no soro de frangos de corte podem ter relação direta com os kits comerciais utilizados, equipamentos e dosagens de reagentes, modo de

preparo do soro e método de coleta das amostras. Por isso a necessidade de serem melhor padronizados.

Stockham e Scott (2011) relataram que há uma variação considerável nos dados obtidos de mensuração de enzimas entre soro e plasma sanguíneos. Assim, uma padronização nos métodos de coleta, preparo e estocagem das amostras é necessária, visando uma menor interferência na concentração dos metabólitos no sangue.

### **2.3 Influência do jejum sobre os parâmetros sanguíneos**

Existe uma influência significativa da utilização de jejum ou de sua utilização errônea em vários testes de laboratório, assim, a padronização do tempo de jejum torna-se essencial para evitar resultados equivocados (LIMA-OLIVEIRA et al., 2012).

A necessidade de coleta de sangue de animais em jejum é decorrente dos valores de referência serem estabelecidos sob essa condição (FRIEDRICHS et al., 2012). Desta forma, as aves alimentadas podem apresentar alterações na composição sanguínea e, para a obtenção de uma amostra estável, cada animal deveria ser avaliado levando em consideração o tempo de jejum que cada animal recebeu. Segundo Harr (2002), o período habitual de jejum em frangos para a coleta de amostras para análises bioquímicas é de 12 horas, porém há pouca padronização nessas coletas.

O jejum pode promover alterações nas concentrações de glicose, colesterol e triglicerídeos em frangos de corte (PUVADOLPIROD e THAXTON, 2000; RODRIGUES et al., 2017), isso porque a glicose passa a não vir diretamente da alimentação, mas das reservas de glicogênio e da quebra de lipídeos e proteínas.

As concentrações de triglicerídeos podem variar com o decorrer do tempo de jejum, pois os animais tendem a um balanço energético negativo e assim estimulam a mobilização dos triglicerídeos circulantes para fornecer ácidos graxos como fonte de energia e glicerol como precursor da glicose (SERR et al., 2011).

### **2.4 Estocagem de amostras**

A estabilidade dos analitos varia de acordo com os parâmetros a serem avaliados, sendo a maioria deles estável a 4 °C por até 36 horas, entretanto quando as amostras forem

determinadas a prazos mais longos, é necessário estocar a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (RUSSEL e ROUSSEL, 2007).

Nas rotinas laboratoriais, há a necessidade de encurtar o tempo desde a coleta e preparo, até a leitura das amostras (THRALL et al., 2012), isso se dá, devido ao que ocorre, onde, em muitos casos, as amostras necessitam ser enviadas para laboratórios distantes a fim de serem analisadas (TOTHOVA et al., 2012), o que pode acarretar em diferentes períodos de estocagem (CRAY et al., 2009).

Em casos de estudos epidemiológicos e de nutrição de aves, esse pode ser um fator limitante, pois pode ser necessária uma coleta de sangue de indivíduos em diferentes períodos ou, em alguns casos, a análise não pode ser realizada logo após sua coleta. Muitas vezes, estudos com um número elevado de amostras podem dificultar a realização de todas as análises em um curto período após a coleta.

De maneira geral, após a coleta e processamento das amostras, há a necessidade de refrigeração ou congelamento, com a finalidade de prevenir a degradação de analitos termolábeis (CRAY et al., 2009). No entanto, há pouca informação acerca da estabilidade de constituintes bioquímicos em amostras estocadas sob refrigeração e por longos períodos (TOTHOVA et al., 2012).

Estudos com diferentes espécies animais indicam que a estocagem inadequada de amostras para análises de soro e plasma sanguíneo é potencial fonte de erros pré-analíticos, podendo afetar as concentrações de glicose, colesterol, triglicerídeos, AST, ALT e GGT (DIVYA e JAYAVARDHANAN, 2010; OLIVEIRA et al., 2011; ODDOZE et al., 2012; CUHADAR et al., 2013; MOE et al., 2018). Contudo, há poucos relatos da influência do tempo de estocagem das amostras sobre as concentrações das variáveis bioquímicas sanguíneas em frangos de corte.

## **2.5 Intensidades de luz em sistemas produtivos de frangos de corte e seus efeitos**

A intensidade da luz baseia-se no seu brilho ao nível dos olhos das aves, suas medidas utilizam como unidade de medida fóton, lúmen ou lux, sendo de suma importância na avicultura moderna, pois torna possível modular a produção e o bem-estar das aves através de mecanismos comportamentais ou fisiológicos (DEEP et al., 2013).

A intensidade de luz é um importante fator que afeta o comportamento de frangos de corte (ALVINO et al., 2009). A radiação luminosa penetra no sistema ocular da ave, estimulando a glândula hipófise a produzir hormônios que estimulam o funcionamento dos órgãos reprodutivos (MORAIS et al., 2012).

A manipulação da intensidade da luz é amplamente utilizada na indústria avícola para controlar o comportamento das aves. A redução na intensidade da luz faz com que as aves apresentem comportamento mais calmo, assim, com a diminuição do estresse é possível melhorar a produtividade (CARVALHO et al., 2015).

Em estudo avaliando a influência do fotoperíodo sobre as concentrações séricas de alguns parâmetros bioquímicos, Fidan et al. (2017) observaram efeito da intensidade luminosa sobre as concentrações de triglicerídeos, obtendo maiores valores desse parâmetro quando os animais foram expostos a maior intensidade luminosa, porém o mesmo não foi observado para glicose, colesterol e AST. Em trabalho avaliando as intensidades luminosas sobre as concentrações séricas de glicose, não foi observado efeito sobre esse metabolito (ABBAS et al., 2014).

## 2.6 Glicose

A glicose é um monossacarídeo, sendo a principal fonte de energia para os animais, submetida à degradação química através da respiração celular, atua também como regulador de energia. Assim como nas demais espécies, o metabolismo da glicose em aves é regulado pelo pâncreas através da insulina e glucagon (SUMMERS et al., 2014).

Em aves não ocorrem mudanças significativas nos valores de glicose durante o processamento das amostras em relação ao tempo, pois os eritrócitos utilizam preferencialmente os ácidos graxos para obtenção de energia (CAPITELLI e CROSTA, 2013).

As concentrações de glicose são mantidas pela glicogenólise no fígado durante curtos períodos de jejum. Períodos extensos de jejum não acarretam diminuição de utilização da glicose como nos mamíferos. Segundo Thrall et al. (2012), nas aves em jejum, a energia utilizada para a manutenção é proveniente do metabolismo de gorduras e mobilização proteica, o que pode ocasionar a perda de peso e consequente redução de massa muscular no peito.



## 2.7 Colesterol

A origem do colesterol sanguíneo pode ser tanto via exógena, proveniente da alimentação, quanto endógena, é sintetizado a partir do acetil-CoA, no intestino, gônadas, fígado, na adrenal ou na pele (MYANT, 2012). A biossíntese de colesterol é inibida pela ingestão de colesterol, que circula no plasma ligado às lipoproteínas (HDL, LDL e VLDL).

O colesterol é o principal esterol sintetizado pelos animais, transportado no plasma sanguíneo, sendo importante constituinte da membrana celular e de hormônios (GONZÁLEZ e SILVA, 2017). É fundamental na estrutura das membranas celulares, síntese de ácidos biliares e hormônios esteroides (KANEKO et al., 2008). Entretanto, níveis séricos elevados de colesterol estão associados a problemas cardíacos em animais e humanos, portanto, a redução dessas moléculas no organismo é desejada (SANTOS et al., 2014).

O estresse térmico altera as concentrações de colesterol sérico (SOHAIL et al., 2010), assim como a alimentação (SIDDIQUI et al., 2015), sistema de criação (SUN et al., 2012) e os níveis nutricionais de minerais nas dietas (LU et al., 1988; BOUKAIBA et al., 1993). De acordo com Rajman et al. (2006), o jejum pode alterar os níveis de colesterol sérico, assim esse resultado pode ser alterado não representando com fidedignidade os valores que foram avaliados durante o período experimental.

Casos de hipercolesterolemia geralmente são indicativos de insuficiência hepática, e casos de hipocolesterolemia geralmente estão associados à falha hepática, má digestão e/ou absorção e inanição (CAPITELLI e CROSTA, 2013).

## 2.8 Triglicerídeos

Os triglicerídeos são os lipídios que existem em maior quantidade no organismo dos animais, chegando a cerca de 95% de toda a gordura corporal, a principal forma de armazenamento de energia através do tecido adiposo (GONZÁLEZ e SILVA, 2017). Portanto, os triglicerídeos, juntamente com o colesterol são os principais componentes analisados para a avaliação do metabolismo lipídico em aves (BORSA et al., 2011).

A síntese de triglicerídeos ocorre na mucosa intestinal e no fígado. Esse processo é realizado a partir dos componentes da digestão e absorção dos ácidos graxos (WANG et al., 2015), e sua concentração sanguínea pode variar por diversos fatores em aves.

No momento que o organismo processa a gordura ingerida na alimentação, os triglicerídeos são hidrolisados e organizados em unidades lipoproteicas denominadas quilomícrons e, nessa forma, são absorvidos pelo sistema linfático, tendo acesso ao plasma onde são transportados com auxílio das lipoproteínas (FERREIRA et al., 2014). Aliada a isso, a síntese de gordura ocorre no tecido adiposo e fígado, os quais sintetizam triglicerídeos que são secretados na corrente sanguínea para a utilização em outros tecidos.

## **2.9 Enzimas aminotransferases**

As aminotransferases são enzimas que atuam principalmente nas reações de transaminação, coletando grupos amino dos aminoácidos e transformando em L-glutamato, que é utilizado como doador de grupos amino para as vias biossintéticas ou para as vias de excreção e eliminação de nitrogênio (BEZERRA et al., 2013).

As aminotransferases mais conhecidas e que possuem interesse clínico são a aspartato aminotransferase (AST) e a alanina aminotransferase (ALT). A atividade dessas enzimas aumenta quando há lesão hepática e de acordo com Barbosa et al. (2010), apresentam seus níveis aumentados linearmente com a idade das aves. De acordo com Schmidt et al. (2007), as enzimas AST e ALT são as transaminases de maior importância no diagnóstico clínico de diversas alterações metabólicas.

De acordo com Barbosa et al. (2010), as transferases estão distribuídas em praticamente todos os tecidos do corpo dos animais, porém os principais tecidos em que se encontram são cérebro, coração, rim e fígado. As alterações na atividade de aminotransferases são geralmente relacionadas ao tecido hepático, sendo indicadores de alterações funcionais e ou estruturais nas células do fígado (ANDRIOLO et al., 1989). De acordo com Thrall et al. (2012), a mensuração de atividade das enzimas é de utilidade para detectar danos hepáticos recentes e/ou em fase inicial, e não são de muita utilidade na avaliação da atividade normal do órgão.

Recomendam-se cuidados especiais para a coleta de amostras para análises de enzimas, como não utilizar EDTA, pois esse pode quelar os íons metálicos necessários à

atividade enzimática. Além disso, durante a avaliação do soro, a preparação da amostra deve ser feita de forma imediata, no intuito de evitar a passagem das enzimas das células para o soro (LUMEIJ, 2008).

## **2.10 Aspartato aminotransferase**

A enzima AST ou transaminase glutâmico pirúvica (TGP) é uma enzima que atua no metabolismo animal, sendo responsável por catalisar a transferência de um grupo amino do aspartato para o oxaloacetato, sendo o produto dessa reação de transaminação reversível a glutamato e a  $\alpha$ -cetoglutarato, sendo ela, uma enzima de exceção pois as demais transferases atuam com o objetivo de formar glutamato (ADEVA et al., 2012). Essa enzima está presente tanto na forma mitocondrial quanto citoplasmática (BURTIS et al., 2014).

A AST está presente nos tecidos na forma citoplasmática, sendo mais abundante no fígado, no músculo esquelético e cardíaco, e nos eritrócitos (GONZÁLES e SILVA, 2017).

Assim a AST, de acordo com Grunkemeier (2010), é encontrada principalmente nos músculos e no fígado. Valores elevados dessa enzima na corrente sanguínea remetem a danos hepáticos, pois esse aumento pode estar relacionado a danos nos hepatócitos. Porém, a atividade da AST isoladamente não pode ser relacionada a danos nos hepatócitos, sendo necessária a realização também da avaliação de uma enzima muscular específica para ser possível diferenciar os danos hepáticos dos danos no tecido muscular (SCHMIDT et al., 2007).

A enzima AST é também relacionada ao metabolismo muscular, sendo que níveis elevados dessa em animais podem ser indicativo de lesão cardíaca (COLES, 1984), também pode ser elevada em caso de exercício físico de alta intensidade, hemólise, deficiência de vitamina E ou selênio (GONZÁLES e SILVA, 2017).

Essa enzima possui a atividade idade-dependente e pode variar de acordo com a espécie (SCHMIDT et al., 2007).

## **2.11 Alanina aminotransferase**

A enzima ALT ou transaminase glutâmico oxalacética (TGO) é uma enzima exclusivamente citoplasmática (BURTIS et al., 2014), encontrada no sangue e em diversos outros tecidos como coração, rim, musculatura esquelética, fígado e pulmão, mas é geralmente associada ao fígado. A sua alta atividade, por sua vez, está associada a danos nesse órgão ou também a lesões musculares (THRALL et al., 2012).

A ALT catalisa a transferência de um grupo amino de L-alanina para  $\alpha$ -cetoglutarato, sendo os produtos dessa reação de transaminação reversíveis a piruvato e a L-glutamato (SYED, 2019).

Alguns autores relataram que os valores de ALT são limitados como parâmetros para avaliar distúrbios hepatocelulares em aves pois a enzima não é exclusiva do tecido hepático e, por esse motivo, a mensuração de sua atividade é utilizada em conjunto com outros exames para determinar anomalias hepáticas (SCHMIDT et al., 2007; THRALL et al., 2012). Araújo Lima et al. (2001) consideraram, por sua vez, esse um sensível indicador de anomalias hepáticas. Conforme Rezende et al. (2019) os valores dessa enzima em frangos geralmente são baixos.

## 2.12 Gama glutamil transferase

A gama glutamil transferase (GGT) é uma enzima encontrada em membranas celulares e está envolvida na transferência de aminoácidos através da membrana. No tecido renal existe grande concentração dessa enzima, porém se origina do sistema hepato-biliar e encontra-se geralmente em concentrações elevadas em casos de doença hepática (KUNUTSOR, 2016).

A enzima GGT está presente em vários tecidos e uma importante função desempenhada por ela é o envolvimento no metabolismo da glutatona, auxiliando na transferência da fração glutamil para uma variedade de moléculas, como água, alguns L-aminoácidos e peptídeos, deixando o produto da cisteína com função de preservar a homeostase do estresse oxidativo intracelular. Sendo a reação: (5-L-glutamil) -peptídeo + um aminoácido  $\rightleftharpoons$  peptídeo + 5-L-glutamil-aminoácido (GONZÁLES e SILVA, 2017).

O aumento de atividade da GGT pode ocorrer tanto por lesões hepáticas quanto por lesões do epitélio biliar, sendo bastante específica desse último (HARR, 2002, KANEKO et al., 2008). Em caso de lesão hepática, os danos nesse tecido podem afetar a

capacidade do fígado em exercer o metabolismo de lipídeos, proteínas e carboidratos (GRUNKEMEYER, 2010).

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, G.; AHMAD, F.; MAHMOOD, S.; YOUSAF, M.; IQBAL, A.; SALEEN, M. I.; MAHFOOZ, A.; SIDDIQUE, F. Effect of Varying Light Intensity on Immunity Level, Dressed Weight, Minor Body Parts Weight, Fat Deposition and Serum Glucose Level in Broilers. **Scholar's Advances in Animal and Veterinary Research**, v. 1, n. 1, p. 9-12, 2014.
- ADEVA, M. M.; SOUTO, G.; BLANCO, N.; DONAPETRY, C. Ammonium metabolism in humans. **Metabolism**, v. 61, n. 11, p. 1495-1511, 2012.
- ALVINO, G. M.; ARCHER, G. S.; MENCH, J. A. Behavioural time budgets of broiler chickens reared in varying light intensities. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 118, n. 1-2, p. 54-61, 2009.
- ANDRIOLO, A.; BORGES, D. R. Enzimologia clínica em doenças do fígado. **Revista Brasileira de Patologias Clínicas**. v. 25, n. 3, p. 95-98, 1989.
- ARAÚJO LIMA, A. A. L.; RAMALHO, L. N. Z.; ZUCOLOTO, S.; BAGNATO, V. S.; SILVA JÚNIOR, O. DE C. Estudo das aminotransferases em ratos cirróticos hepatectomizados após aplicação de laser. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 16, n. 1, p. 4, 2001.
- BARBOSA, A. A.; MULLER, E. S.; MORAES, G. H. K.; UMIGI, R. T.; BARRETO, S. L. T.; FERREIRA, R. M. Perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 39, n. 2, p. 308-312, 2010.
- BEHBOUDI, H.; ESMAEILPOUR, O.; MIRMAHMOUDI, R.; MAZHARI, M. The Influence of drinking water containing lemon juice and thyme supplemented diet on performance and some blood parameters of broilers under heat stress. **Journal of Applied Animal Science**, v. 6, n. 1, p. 169-174, 2016.
- BEZERRA, R. M.; PERAZZO, F. G.; SANTOS, R. A. Glutamic acid and protein reduction for broilers and commercial laying hens. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v. 6, n. 3, p. 101-109, 2013.
- BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L. P.; SAITO, M. E.; KUIBIDA, K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 675-677, 2006.
- BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L. P.; SAITO, M. E. Efeitos da interação entre aflatoxicoses e doença infecciosa bursal sobre níveis de enzimas de função hepática, colesterol e triglicérides em frangos de corte. **Veterinária em Foco**, v. 8, n. 2, p. 132-142, 2011.
- BOUKAIBA, N.; FLAMENT, C.; ACHER, S.; CHAPPUIS, P.; PIAU, A.; FUSSELIER, M.; DARDENNE, M.; LEMONNIER, D. A physiological amount of zinc

- supplementation: Effects on nutritional, lipid, and thymic status in an elderly population. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n. 4., p. 566-572, 1993.
- BUENO, J. P. R.; NASCIMENTO, M. R. B. M.; MARTINS, J. M. S.; MARCHINI, C. F. P.; GOTARDO, L. R. M.; SOUSA, G. M. R.; MUNDIN, A. V.; GUIMARÃES, E. C.; RINALDI, F. P. Effect of age and cyclical heat stress on the serum biochemical profile of broiler chickens. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 1383-1392, 2017.
- BURTIS, C. A.; BRUNS, D. E. **Tietz: Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics-E-Book**. 7. ed. Amsterdã: Elsevier, 2014. 1104 p.
- CARLOS, M. M. L.; FREITAS, P. D. F. S. Estudo da cascata de coagulação sanguínea e seus valores de referência. **Acta Veterinaria Brasílica**, v. 1, n. 2, p. 49-55, 2007.
- CARVALHO, R. H.; SOARES, A. L.; GRESPAN, M.; SPURIO, R. S.; CORÓ, F. A. G.; OBA, A.; SHIMOKOMAKI, M. The effects of the dark house system on growth, performance and meat quality of broiler chicken. **Animal Science Journal**, v. 86, n. 2, p. 189-193, 2015.
- CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 16, n. 1, p. 71-120, 2013.
- CEPEDA, M. B.; CEPEDA, P. B.; BAÊTA, B. A.; GAUDÊNCIO, F. N.; CORDEIRO, M. D.; MAGALHÃES-MATOS, P. C.; BRITO, M. F.; FONSECA, A. H. Alterações bioquímicas, anatômicas e histopatológicas em fígado de *Gallus gallus* Linnaeus, 1758 experimentalmente infectados por *Borrelia anserina* Sakharoff, 1891. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 36, n. 8, p. 687 - 693, 2016.
- CERÓN, J. J.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; HENNEMANN, C.; TECLES, F. The effects of different anticoagulants on routine canine plasma biochemistry. **The Veterinary Journal**, v. 167, n. 3, p. 294-301, 2004.
- CRAY, C.; RODRIGUEZ, M.; ZAIAS, J.; ALTAIAN, N. H. Effects of storage temperature and time on clinical biochemical parameters from rat serum. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 48, n. 2, p. 202-204, 2009.
- CÓRDOVA-NOBOA, H. A.; OVIEDO-RONDÓN, E. O.; SARSOOR, A. H.; BARNES, J.; SAPCOTA, D.; LÓPEZ, D.; GROSS, L.; RADEMACHER-HEILSHORN, M.; BRAUN, U. Effect of guanidinoacetic acid supplementation on live performance, meat quality, pectoral myopathies and blood parameters of male broilers fed corn-based diets with or without poultry by-products. **Poultry Science**, v. 97, n. 7, p. 2494-2505, 2018.

- CUHADAR, S.; KOSEOGLU, M.; ATAY, A.; DIRICAN, A. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. **Biochemia Medica**, v. 23, n. 1, p. 70-77, 2013.
- DIVYA, P. D.; JAYAVARDHANAN, K. K. Effect of temperature and storage time on hepatobiliary enzyme activities in goat serum. **Veterinary World**, v. 3, n. 6, p. 277, 2010.
- DEEP, A.; RAGINSKI, C.; SCHWEAN-LARDNER, K.; FANCHER, B. I.; CLASSEN, H. L. Minimum light intensity threshold to prevent negative effects on broiler production and welfare. **British Poultry Science**, v. 54, n. 6, p. 686-694, 2013.
- EVANS, G. O. **Animal Clinical Chemistry**. 2.ed. London: Taylor & Francis, 2009. 222p.
- FERREIRA, L.; LISENKO, K.; BARROS, B.; ZANGERONIMO, M.; PEREIRA, L.; SOUSA, R. Influence of medium-chain triglycerides on consumption and weight gain in rats: a systematic review. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 98, n. 1, p. 1-8, 2014.
- FIDAN, E. D.; NAZLIGÜL, A.; TÜRKYILMAZ, M. K.; AYPAK, S. Ü.; KILIMCI, F. S.; KARAARSLAN, S.; KAYA, M. Effect of photoperiod length and light intensity on some welfare criteria, carcass, and meat quality characteristics in broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 3, p. 202-210, 2017.
- FRIEDRICHS, K. R.; HARR, K. E.; FREEMAN, K. P.; SZLADOVITS, B.; WALTON, R. M.; BARNHART, K. F.; BLANCO-CHAVEZ, J. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 41, n. 4, p. 441-453, 2012.
- FRANK, J. J.; BERMES, E. W.; BICKEL, M. J.; WATKINS, B. F. Effect of in vitro hemolysis on chemical values for serum. **Clinical Chemistry**, v. 24, n. 11, p. 1966-1970, 1978.
- GATTANI, A.; PATHAK, A.; KUMAR, A.; MISHRA, V.; BHATIA, J. S. Influence of season and sex on hemato-biochemical traits in adult turkeys under arid tropical environment. **Veterinary World**, v. 9, n. 5, p. 530-534, 2016.
- GILANI, S. M. H.; ZEHRRA, S.; GALANI, S.; ASHRAF, A. Effect of natural growth promoters on immunity, and biochemical and haematological parameters of broiler chickens. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 4, p. 627-633, 2018.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, 521p, 2017.
- GRUNKEMEYER, V. L. Advanced diagnostic approaches and current management of avian hepatic disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 13, n. 3, p. 413-427, 2010.



- GUPTA, S.; GUPTA, A. K.; VERMA, M.; SINGH, K.; KAUR, A.; CHOPRA, B.; KAUR, V. A study to compare the plasma glucose levels obtained in sodium fluoride and citrate buffer tubes at a tertiary care hospital in Punjab. **International Journal of Applied and Basic Medical Research**, v. 6, n. 1, p. 50-53, 2016.
- HALL, J.E. **Guyton e Hall fundamentos de fisiologia**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.
- HARR, K. E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 31, n. 3, p. 140-151, 2002.
- KANEKO, J. J; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Waltham: Academic Press, 2008. P.839-872.
- KUNUTSOR, S. K. Gamma-glutamyltransferase—friend or foe within?. **Liver International**, v. 36, n. 12, p. 1723-1734, 2016.
- LIMA-OLIVEIRA, G.; SALVAGNO, G. L.; LIPPI, G.; GELATI, M.; MONTAGNANA, M.; DANESE, E.; PICHETH, G.; GUIDI, G. C. Influence of a regular, standardized meal on clinical chemistry analytes. **Annals of Laboratory Medicine**, v. 32, n. 4, p. 250-256, 2012.
- LÜ, J.; GERALD, F.; COMBS, J. R. Effect of excess dietary zinc on pancreatic exocrine function in the chick. **The Journal of Nutrition**, v. 118, n. 6, p. 681-689, 1988.
- LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J. J; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Waltham: Academic Press, 2008. p. 839-872.
- MAHMOOD, S.; AHMAD, F., UL HAQ, A.; ABBAS, G.; QURESHI, R. A. M.; AHMAD, M. F. T., SALEEM, M. I.; SHAHZAD, M. K. Comparative effect of light intensity on behavior and blood profile in broilers. **Scholar's Advances in Animal and Veterinary Research**, v. 1, n. 1, p. 25-29, 2014.
- MINAFRA, C. S.; MARQUES, S. F. F.; STRINGHINI, J. H.; ULHOA, C. J.; REZENDE, C. S. M.; SANTOS, J. S.; MORAIS, G. H. K. Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfaamilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2691-2696, 2010.
- MOE, M. O.; OKSTAD, W.; BERLAND, S.; FRAMSTAD, T. Effects of storage duration and temperature conditions on biochemical analytes in porcine clotted, uncentrifuged blood samples. **Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research**, v. 7, n. 1, p. 1 - 6, 2018.
- MORAIS, M. R. P. T.; VELHO, A. L. M. C. S.; DANTAS, S. E. S.; FONTENELENETO, J. S. Morfofisiologia da reprodução das aves: Controle endócrino do ciclo sexual das aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n.4, p. 285-293, 2012.

- MYANT, N. B. **Cholesterol Metabolism, LDL, and the LDL Receptor**. 1 ed. San Diego: Academic Press. 2012, 465p.
- ODDOZE, C.; LOMBARD, E.; PORTUGAL, H. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. **Clinical Biochemistry**, v. 45, n. 6, p. 464-469, 2012.
- OLANREWAJU, H. A.; PURSWELL, J. L.; COLLIER, S. D.; BRANTON, S. L. Effect of ambient temperature and light intensity on physiological reactions of heavy broiler chickens. **Poultry Science**, v. 89, n. 12, p. 2668-2677, 2010.
- OLANREWAJU, H. A.; PURSWELL, J. L.; COLLIER, S. D.; BRANTON, S. L. Effects of genetic strain and light intensity on blood physiological variables of broilers grown to heavy weights. **Poultry Science**, v. 93, n. 4, p.970-978, 2014.
- OLANREWAJU, H. A.; PURSWELL, J. L.; COLLIER, S. D.; BRANTON, S. L. Interactive effects of photoperiod and light intensity on blood physiological and biochemical reactions of broilers grown to heavy weights. **Poultry science**, v. 92, n. 4, p. 1029-1039, 2013.
- OLIVEIRA, F. S.; FALBO, M. K.; SANDINI, I. E.; ISHIY, L. E. Efeito do congelamento e do tempo de armazenamento do soro sanguíneo de cordeiros na determinação de parâmetros bioquímicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 717-722, 2011.
- OWEN, J. C. Collecting, processing, and storing avian blood: a review. **Journal of Field Ornithology**, v. 82, n. 4, p. 339-354, 2011.
- PUVADOLPIROD, S.; THAXTON, J. P. Model of physiological stress in chickens 1. Response parameters. **Poultry Science**, v. 79, n. 3, p. 363-369, 2000.
- PICHETH, G.; JAWORSKI, M. C. G.; PINTO, A.P.; KIKUTI, M. Y.; SCARTEZINI, M.; ALCÂNTARA, V. M.; FADEL-PICHETH, C. M. T. Plasma-fluoretado comparado ao soro na determinação da glicose sanguínea. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 33, n. 4, p. 167-170, 2001.
- RAJMAN, M.; JURÁNI, M.; LAMOSOVA, D.; MACAJOVA, M.; SEDLACKOVA, M.; KOSTAL, L.; JEZOVA, D.; VYBOH, P. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 145, p. 363-371, 2006.
- REECE, W. O. (2015). *Duke's Physiology of Domestic Animals*. 13 ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2015.
- REZENDE, M. S., SILVA, P. L., GUIMARÃES, E. C., LELLIS, C. G., MUNDIM, A. V. Variações fisiológicas, influência da idade e sexo no perfil bioquímico sanguíneo de aves da linhagem pesada de frango de corte na fase de recria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 5, p. 1649-1658, 2019.
- RODRIGUES, D. R.; CAFÉ, M. B.; JARDIM FILHO, R. M.; OLIVEIRA, E.; TRENTIN, T. C.; MARTINS, D. B.; MINAFRA, C. S. Metabolism of broilers subjected to

- different lairage times at the abattoir and its relationship with broiler meat quality. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 3, p. 733-741, 2017.
- RUSSELL, K. A.; ROUSSEL, A. J. Evaluation of the ruminal serum chemistry profile. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 403-426, 2007.
- SACKS, D. B.; ARNOLD, M.; BAKRIS, G. L.; BRUNS, D. E.; HORVATH, A. R.; KIRKMAN, M. S.; LERNMARK, A.; METZGER, B. E.; NATHAN, D. M. Executive summary: guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. **Clinical Chemistry**, v. 57, n. 6, p. 793-798, 2011.
- SADEGHI, A. A.; MOHAMADI-SAEI, M.; AHMADVAND, H. The efficacy of dietary savory essential oil on reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 20, n. 4, p. 481-486, 2014.
- SANTOS, F. R.; SANTANA, R. O.; CARVALHO, E. D. A.; COSTA, N. A.; MINAFRA, C. S.; OLIVEIRA, P. R. Desempenho e perfil sérico bioquímico de frangos de corte alimentados com rações contendo produtos homeopáticos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 394-405, 2014.
- SCANES, C. G. **Sturkie's avian physiology**. 6 ed., Amsterdam: Elsevier Health Sciences, 2014. 1028p.
- SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI, DITTRICH, R.; SANTIN, E., PAULILLO, A. C. Patologia clínica em aves de produção – uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 9-20, 2007.
- SERR, J.; SUH, Y.; OH, S. A.; SHIN, S.; KIM, M.; LATSHAW, J. D.; LEE, K. Acute up-regulation of adipose triglyceride lipase and release of non-esterified fatty acids by dexamethasone in chicken adipose tissue. **Lipids**, v. 46, n. 9, p. 813-820, 2011.
- SIDDIQUI, M. N.; ISLAM, M. T.; SAYED, M. A., HOSSAIN, M. A. Effect of dietary supplementation of acetone extracts of *Nigella sativa* L. seeds on serum cholesterol and pathogenic intestinal bacterial count in broilers. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 25, n. 2, p. 372-379, 2015.
- SILVA, B. R.; MAREZE, M.; FALBO, M. K.; SANDINI, I. E.; GROFF, P. M. Bioquímico plasmático de cães: efeitos dos diferentes anticoagulantes em comparação com o soro. **Colloquium Agrariae**, v. 11, n. 1, p. 33-41, 2015.
- SHARIDEH, H.; ZHANDI, M.; ZAGHARI, M.; AKHLAGHI, A. Effect of dietary zinc oxide and phytase on the plasma metabolites and enzyme activities in aged broiler breeder hens. **Iranian Journal of Veterinary Medicine**, v. 9, n. 4, p. 263-270, 2016.
- SOHAIL, M. U.; IJAZ, A.; YOUSAF, M. S.; ASHRAF, K.; ZANEB, H.; ALEEM, M.; REHMAN, H. Alleviation of cyclic heat stress in broilers by dietary supplementation of mannan-oligosaccharide and *Lactobacillus*-based probiotic: Dynamics of cortisol,

- thyroid hormones, cholesterol, C-reactive protein, and humoral immunity. **Poultry Science**, v. 89, n. 9, p. 1934-1938, 2010.
- SOUZA, M. H. L.; ELIAS, D. O. **Fundamentos da circulação extracorpórea**. 2.ed., Rio de Janeiro: Centro Editorial Alfa Rio, 2006. 808p.
- SOLIS-CRUZ, B.; HERNANDEZ-PATLAN, D.; PETRONE, V. M.; PONTIN, K. P.; LATORRE, J. D.; BEYSSAC, E.; HERNANDEZ-VELASCO, X.; MERINO-GUZMAN, R.; OWENS, C.; HARGIS, B. M.; LOPEZ-ARELLANO, R.; TELLEZ-ISAIAS, G. Evaluation of Cellulosic Polymers and Curcumin to Reduce Aflatoxin B1 Toxic Effects on Performance, Biochemical, and Immunological Parameters of Broiler Chickens. **Toxins**, v. 11, n. 2, p. 121-141, 2019.
- STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2.ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2011. 744 p.
- SUBHANI, Z.; SHAHID, M.; HUSSAIN, F.; KHAN, J. A. Efficacy of *Chlorella pyrenoidosa* to Ameliorate the Hepatotoxic Effects of Aflatoxin B1 in Broiler Chickens. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 8, n. 1, p. 13-18, 2018.
- SUMNERS, L. H.; ZHANG, W.; ZHAO, X.; HONAKER, C. F.; ZHANG, S.; CLINE, M. A.; SIEGEL, P. B.; GILBERT, E. R. Chickens from lines artificially selected for juvenile low and high body weight differ in glucose homeostasis and pancreas physiology. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 172, p. 57-65, 2014.
- SUN, T.; LIU, Z.; QIN, L.; LONG, R. Meat fatty acid and cholesterol level of free-range broilers fed on grasshoppers on alpine rangeland in the Tibetan Plateau. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 11, p. 2239-2243, 2012.
- SWARNA, C. L.; SRINIVAS, G.; RAO, S. V. Effect of Unsaturated to Saturated Fatty Acids Ratio of Supplemental Fat in the Diet with or without L-Carnitine on Performance of Broiler Chicken. **Indian Journal of Poultry Science**, v. 53, n. 2, p. 150-155, 2018.
- SYED, A. ALT Blood Test. **International Journal of Biology Sciences**. v. 1, n. 2, p. 12-14. 2019.
- THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R.; CAMPBELL, T. **Veterinary hematology and clinical chemistry**, 2. ed. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins, 2012, p. 32-39.
- TOTHOVA, C.; NAGY, O.; SEIDEL, H.; KOVAC, G. The effect of storage temperature and time on the concentrations of bovine serum amyloid A and its mammary associated isoform. **Veterinary Medicine International**, v. 2012, p. 1-6, 2012.
- VIEITES, F. M.; MORAES, G. H. K.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H. S.; DONZELE, J. L.; RODRIGUES, A. C.; SILVA, F. A.; ATENCIO, A. Balanço eletrolítico e níveis de proteína bruta sobre parâmetros sanguíneos e ósseos de frangos

de corte aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1520-1530, 2004.

WANG, J.; WANG, X.; LI, J.; CHEN, Y.; YANG, W.; ZHANG, L. Effects of dietary coconut oil as a medium-chain fatty acid source on performance, carcass composition and serum lipids in male broilers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 2, 223, 2015.

WITTEWER, F. Empleo de los perfiles metabólicos en el diagnóstico de desbalances metabólicos nutricionales en el ganado. **Buiatria**, v. 2, p. 16-20, 1995.

YANG, J. Y.; ZHANG, H. J.; WANG, J.; WU, S. G.; YUE, H. Y.; JIANG, X. R.; QI, G. H. Effects of dietary grape proanthocyanidins on the growth performance, jejunum morphology and plasma biochemical indices of broiler chicks. **Animal**, v. 11, n. 5, p. 762-770, 2017.

ZAKARIA, H. A.; JALAL, M.; AL-TITI, H. H.; SOUAD, A. Effect of Sources and Levels of Dietary Zinc on the Performance, Carcass Traits and Blood Parameters of Broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 19, n. 3, p. 519-526, 2017.

### **3 TEMPO DE ESTOCAGEM E JEJUM SOBRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS E PLASMÁTICAS DE INTERMEDIÁRIOS DA VIA ENERGÉTICA E ENZIMAS METABÓLICAS EM FRANGOS DE CORTE**

#### **RESUMO**

Objetivou-se caracterizar as respostas de componentes bioquímicos em amostras de soro e plasma de frangos de corte, coletados aos tempos de jejum de 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12h e analisadas imediatamente após coleta e aos 30 e 60 dias de estocagem a  $-20^{\circ}$  C. Foram coletadas amostras de sangue de 70 frangos de 45 dias de idade respeitando-se os períodos e foram determinadas as concentrações séricas e plasmáticas de glicose, colesterol, triglicerídeos, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT). As concentrações de glicose sérica declinaram linearmente com o tempo de jejum ( $P<0,01$ ) enquanto as concentrações de colesterol ( $P<0,01$ ) e GGT plasmática ( $P<0,05$ ) aumentam linearmente com o tempo de jejum. As concentrações de glicose plasmática e a ALT apresentaram efeito quadrático com pontos de máxima respectivos as 3h e 57 minutos e 8h e 9 minutos de jejum. As concentrações de triglicerídeos e GGT sérica apresentam efeitos quadráticos com respectivos pontos de mínima a 8h e 44 minutos e 5h e 12 minutos de jejum. Houve elevação da GGT sérica aos 60 dias de estocagem e não houve efeito para a GGT plasmática ( $P>0,05$ ) em relação aos períodos de estocagem. Os valores de glicose e ALT apresentaram suas menores concentrações aos 30 dias em relação a 0 e 60 dias de estocagem. As concentrações de colesterol, AST e ALT foram maiores no soro em relação ao plasma ( $P<0,01$ ) e os triglicerídeos se apresentam mais concentrados na fração plasmática. Assim a determinação de AST em aves não é influenciada pelo tempo de jejum que precede a coleta das amostras e podem ser estocadas até 60 dias a  $-20^{\circ}$  C e, mensurações de colesterol e triglicerídeos podem ser realizadas em amostras estocadas por 60 dias. Para a realização de leituras de glicose, ALT plasmática e GGT sérica deve-se evitar a estocagem das amostras por longos períodos. Recomenda-se a utilização de amostras de soro e a utilização de 6 horas de jejum.

**Palavras- chave:** bioquímica sanguínea, frangos de corte, metabolismo.

**STOCKING TIME AND FASTING ON SERUM AND PLASMATIC  
CONCENTRATIONS OF ENERGY TRACK INTERMEDIATES AND  
METABOLIC ENZYMES IN CHICKEN**

**ABSTRACT**

The objective was to characterize the responses of biochemical components in serum and plasma samples from broilers, collected at fasting times of 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12h and analyzed immediately after collection and at 30 and 60 days blood storage at  $-20^{\circ}$  C. Blood samples were collected from 70 45-day-old chickens respecting the periods and the serum and plasma concentrations of glucose, cholesterol, triglycerides, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and gamma glutamyl transferase (GGT). Serum glucose concentrations declined linearly with fasting time ( $P < 0.01$ ) while cholesterol ( $P < 0.01$ ) and plasma GGT ( $P < 0.05$ ) increased linearly with fasting time. Plasma glucose and ALT concentrations showed a quadratic effect with respective maximum points at 3h and 57 minutes and 8h and 9 minutes of fasting. The concentrations of triglycerides and serum GGT present quadratic effects with respective minimum points at 8h and 44 minutes and 5h and 12 minutes of fasting. There was an increase in serum GGT at 60 days of storage and there was no effect for plasma GGT ( $P > 0.05$ ) in relation to storage periods. The values of glucose and ALT showed their lowest concentrations at 30 days in relation to 0 and 60 days of storage. The concentrations of cholesterol, AST and ALT were higher in serum than in plasma ( $P < 0.01$ ) and triglycerides are more concentrated in the plasma fraction. Thus, the determination of AST in birds is not influenced by the fasting time that precedes the collection of samples and can be stored up to 60 days at  $-20^{\circ}$  C and measurements of cholesterol and triglycerides can be performed in samples stored for 60 days. In order to perform glucose readings, plasma ALT and serum GGT, the storage of samples for long periods should be avoided. It is recommended to use serum samples and to use 6 hours of fasting.

**Key words:** blood biochemistry, broilers, metabolism.



### 3.1 Introdução

A avaliação de parâmetros bioquímicos nas pesquisas com aves pode ser melhor explorada, possibilitando a aferição de concentrações de diversos constituintes bioquímicos que podem ser utilizados como indicativos de distúrbios metabólicos, aferições de estado nutricional e no diagnóstico de enfermidades (MINAFRA et al., 2010).

Os ensaios com frangos de corte em geral preconizam avaliar o desempenho das aves promovendo ganhos satisfatórios sem comprometer o metabolismo e a integridade sanitária desses animais. As mudanças que ocorrem no metabolismo das aves podem ser ocasionadas pela inclusão de ingredientes, aditivos, fármacos, ou outros componentes das rações, além de efeitos ambientais, podendo alterar o estado nutricional e a saúde dos animais. Portanto as avaliações bioquímicas sanguíneas são uma importante ferramenta para o diagnóstico de enfermidades e distúrbios metabólicos proporcionando diagnósticos eficientes, rápidos e seguros (YARI et al., 2014).

Segundo Gattani et al. (2016), a aferição das concentrações sanguíneas de glicose, colesterol total, triglicérideo total, atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) podem ser utilizadas como auxílio nos diagnósticos para doenças e distúrbios metabólicos nas aves.

Entretanto, existe grande divergência nas condições de coleta do material para análise e não há padronização do período de jejum pós-prandial realizado antes da coleta de sangue. Córdova-Noboa et al. (2018) não realizaram jejum das aves para coleta das amostras de sangue, entretanto Zakaria et al. (2017); Behboudi et al. (2016); Swarna et al. (2018) e Sadeghi et al. (2014) realizaram jejum variando entre os trabalhos de 2 a 12 horas antes da coleta das amostras. Considerando essas variações no tempo de jejum, não se pode inferir que os resultados obtidos não sofreram interferência causada por um longo período de jejum pós-prandial, e essa falta de padronização não permite a exata conclusão e a comparação entre os resultados.

Os parâmetros bioquímicos podem ser aferidos em amostras de soro, obtidos de amostras de sangue coagulado; no plasma é obtido através de amostras com anticoagulantes. A diferença entre esses dois processos é que no plasma se obtém maior volume de sobrenadante em relação ao soro (LUMEIJ, 2008).

Uma grande divergência na utilização do soro ou plasma nas pesquisas resulta em falta de padronização dos resultados, alguns autores utilizam soro para a aferição dos

parâmetros bioquímicos (REHMAN et al., 2018; CHAND et al., 2018; SUBHANI et al., 2018; GILANI et al., 2018). Em contrapartida, outros utilizam plasma (KIM et al., 2019; ZHANG et al., 2017; YANG et al., 2017; SHARIDEH et al., 2016).

Quanto ao tempo de estocagem a que cada amostra pode ser submetida antes da realização das análises bioquímicas, é importante levar em consideração que geralmente as amostras serão coletadas em datas diferentes da data de análise, pois fatores como distância entre laboratório e galpão experimental, tempo até acumular volume suficiente de amostras e período de transporte, podem postergar a data de realização das mensurações das variáveis bioquímicas no sangue (LPA-UN, 2010).

Devido à falta de padronização nas análises em relação ao período de jejum para a coleta e período de estocagem das amostras, objetivou-se caracterizar as respostas de componentes bioquímicos em amostras de soro e plasma de frangos de corte, coletadas em diferentes tempos de jejum e armazenadas sob  $-20^{\circ}\text{C}$  por 30 e 60 dias.

### 3.2 Material e Métodos

Este estudo foi realizado na Universidade Estadual do Oeste do Paraná-UNIOESTE, no Centro de Pesquisa em Avicultura do Núcleo de Estações Experimentais Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pertencente ao *Campus* de Marechal Cândido Rondon-PR.

As aves foram manuseadas com cuidado para evitar desconforto desnecessário e todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no uso de animais da UNIOESTE (CEUA), sob protocolo 23/20-CEUA.

Foram utilizados 70 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500 com peso médio de  $3072 \pm 859$ g com 45 dias de idade distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado. As aves foram criadas de 1 a 42 dias de idade recebendo água e ração *ad libitum*, sobre as mesmas condições ambientais para iluminação e temperatura, as quais foram ajustadas de acordo com as recomendações do manual de linhagem. As dietas, isocalóricas e isonitrogênicas, foram formuladas de acordo com a composição dos alimentos e exigências nutricionais segundo recomendações de Rostagno et al. (2017).

Aos 42 dias de idade, as aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em sete boxes (1,76 m<sup>2</sup>) equipados com bebedouros tipo *nipple*, comedouro tubular e cama de maravalha de pinus, com densidade de alojamento de 5,7 frangos por metro quadrado.

Após três dias de adaptação ao ambiente (aos 45 dias de idade), as aves foram mantidas em jejum por um período de uma hora, sendo em seguida alimentadas por 30 minutos. Esse procedimento foi realizado para que todas as aves apresentassem o mesmo quadro alimentar pós-prandial. Após o período de arraçoamento foi realizada a primeira colheita de sangue.

A cada intervalo de 2 horas dentro o período de 12 horas, o sangue foi coletado via punção braquial por veia ulnar, 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas de jejum de todas as aves de um box, com as aves em posição de decúbito lateral, utilizando-se tubos específicos de coleta a vácuo com capacidade de 4 ml, adaptadores específicos e agulhas de 25 x 0,8 mm, onde foram coletados 4 ml de sangue por coleta. O primeiro tubo de sangue foi coletado para obtenção do soro com tubo para coleta de sangue a vácuo para soro com ativador de coágulo jateado na parede do tubo, que acelera o processo de coagulação. O segundo tubo foi utilizado para obtenção do plasma, para coleta de sangue a vácuo com o inibidor glicólico fluoreto de sódio 5 mg. Após a colheita, as amostras permaneceram

15 minutos em decúbito horizontal e, posteriormente, centrifugadas a 2500 rpm (1050g) por 10 minutos em temperatura ambiente. Após a separação do soro/plasma, eles foram identificados e divididos em três alíquotas, as quais foram acondicionadas em microtubos de 2 ml, sendo uma alíquota imediatamente encaminhada ao laboratório para realização das análises. As demais alíquotas (dois microtubos) foram estocadas a -20 °C, por períodos de 30 e 60 dias. Durante a estocagem a temperatura do freezer foi monitorada semanalmente a fim de avaliar possíveis oscilações.

Antes da realização das leituras, as amostras foram descongeladas a temperatura de 4 a 8 °C, permanecendo em geladeira por 24 horas e depois centrifugadas em micro centrífuga. As leituras dos parâmetros bioquímicos foram realizadas a 0, 30 e 60 dias de estocagem utilizando analisador bioquímico automático, com espectrofotometria por meio do equipamento Flexor EL200 (Elitechgroup, Netherlands) utilizando reagentes, calibradores (Elical II) e padrões de aferição (Elitrol I) da marca Elitech<sup>®</sup>. As leituras realizadas foram de glicose [glicose PAP, Método de Trinder, enzimático colorimétrico cinético (TRINDER, 1969)], colesterol [método de Trinder, enzimático, colorimétrico de ponto final (ALLAIN et al. 1974)], triglicerídeos [triglicerídeos SL New, enzimático-colorimétrico, ponto final (FOSSATI E PRENCIPE, 1982)], AST – aspartato aminotransferase [método IFCC sem fosfato de piridoxal, cinético, UV (SCHUMAN et al., 2002a)], ALT – alanina aminotransferase [método IFCC sem fosfato de piridoxal, cinético, UV (SCHUMAN et al., 2002b)] e GGT – gamma glutamiltransferase [GAMMA GT Plus, método substrato glupa C, cinético (SCHUMAN et al., 2002c)].

Após a obtenção de todos os dados analíticos, os mesmos foram tabulados para tipo de amostra (soro ou plasma), tempo de jejum (0; 2; 4; 6; 8; 10 e 12 horas) e período de estocagem (0; 30 e 60 dias) e as análises foram realizadas em esquema fatorial. Todos os dados foram submetidos a teste de homogeneidade e normalidade, para posterior análise de variância. Em caso de significância, foi realizado teste F para tipo de amostra, análise de regressão para jejum e teste de Tukey para estocagem. A interação tripla não foi utilizada, pois se objetivou avaliar apenas as interações duplas para tipo de amostra e jejum, tipo de amostra e tempo de estocagem e os fatores isoladamente (PIMENTEL-GOMES, 2009). Os testes foram realizados a 5% de probabilidade. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando o pacote GLM do SAS (SAS, 2014).

### 3.3 Resultados

A glicose ( $P < 0,0001$ ) e a GGT ( $P = 0,0002$ ) apresentaram efeito na interação entre jejum e fração sanguínea (Tabelas 2 e 3). Não houve interação (jejum e fração sanguínea) para as concentrações de colesterol ( $P = 0,0616$ ), triglicerídeos ( $P = 0,8899$ ), AST ( $P = 0,4836$ ) e ALT ( $P = 0,3520$ ).

As concentrações de glicose sérica declinaram linearmente ( $P < 0,0001$ ) com o tempo de jejum, diminuindo cerca de  $2,48 \text{ mg dL}^{-1}$  a cada duas horas de jejum e as concentrações de colesterol ( $P < 0,0001$ ) e GGT plasmática ( $P < 0,0001$ ) aumentaram linearmente com o tempo prolongado de jejum (Tabela 4, Figura 1), aumentando respectivamente  $1,87 \text{ mg dL}^{-1}$  e  $0,19 \text{ IU L}^{-1}$  a cada 2 horas de jejum.

Houve efeito quadrático sobre as concentrações de glicose plasmática (concentração máxima a 3 h e 57 minutos de jejum) e GGT sérica (concentração mínima a 5 h e 12 min de jejum).

Os tempos de jejum influenciaram as concentrações de colesterol ( $P < 0,0001$ ), triglicerídeos ( $P < 0,0001$ ) e ALT ( $P < 0,0001$ ), porém não influenciaram as concentrações de AST ( $P = 0,1404$ ).

Houve efeito quadrático sobre as concentrações de triglicerídeos (concentração mínima a 8 h e 44 minutos de jejum) e ALT (concentração máxima a 8 h e 9 minutos de jejum).

As variáveis tempo de estocagem e fração sanguínea apresentaram interação para GGT ( $P = 0,0002$ ), houve elevação da GGT sérica aos 60 dias de estocagem, porém para GGT plasmática não foi influenciada pelo período de estocagem.

Os valores de glicose foram influenciados pelo tempo de estocagem ( $P < 0,0001$ ), assim como os de ALT ( $P < 0,0001$ ) e foi observado que os valores desses metabólitos têm respectivamente as menores concentrações aos 30 dias de estocagem em relação a 0 e 60 dias. Para glicose, as maiores concentrações foram observadas com 0 e 60 dias de estocagem e a maior concentração de ALT se apresentou quando essa variável foi determinada logo após a coleta. Já as concentrações de colesterol ( $P = 0,0616$ ), triglicerídeos ( $P = 0,8999$ ), AST ( $P = 0,1356$ ) e ALT ( $P = 0,3520$ ) não foram influenciadas pelo tempo de estocagem.

O colesterol ( $P < 0,0001$ ), a AST ( $P < 0,0001$ ) e a ALT ( $P < 0,0001$ ) foram maiores no soro do que no plasma ( $P < 0,0001$ ), apenas os triglicerídeos ( $P = 0,0174$ ) apresentaram maiores concentrações no plasma em relação ao soro.

Tabela 1. Concentrações médias de glicose, colesterol e triglicerídeos no plasma e no soro de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum e períodos de estocagem.

Jejum (horas)	Glicose (mg dL <sup>-1</sup> )			Colesterol (mg dL <sup>-1</sup> )			Triglicerídeos (mg dL <sup>-1</sup> )		
	Soro	Plasma	Média	Soro	Plasma	Média	Soro	Plasma	Média
0	260 ± 12	233 ± 15	247 ± 19	130 ± 13	114 ± 10	122 ± 14	76 ± 19	78 ± 19	77 ± 19
2	260 ± 18	236 ± 13	248 ± 19	134 ± 13	118 ± 13	126 ± 15	48 ± 10	52 ± 12	50 ± 11
4	258 ± 21	255 ± 17	256 ± 19	141 ± 14	136 ± 13	138 ± 14	47 ± 12	53 ± 13	50 ± 13
6	247 ± 21	239 ± 12	243 ± 17	138 ± 12	123 ± 12	130 ± 14	41 ± 14	42 ± 11	42 ± 12
8	241 ± 11	232 ± 10	237 ± 11	132 ± 11	121 ± 12	127 ± 13	38 ± 6	41 ± 8	40 ± 7
10	231 ± 3	219 ± 10	225 ± 13	146 ± 14	127 ± 11	136 ± 16	32 ± 7	33 ± 6	33 ± 6
12	238 ± 21	228 ± 17	233 ± 19	145 ± 14	128 ± 13	136 ± 16	42 ± 5	43 ± 6	42 ± 5
Estocagem (dias)									
0	251 ± 20	238 ± 16	245 ± 19 <sup>A</sup>	137 ± 14	124 ± 14	130 ± 15	44 ± 19	49 ± 20	47 ± 19
30	243 ± 17	230 ± 15	237 ± 17 <sup>B</sup>	138 ± 14	125 ± 12	132 ± 15	47 ± 17	50 ± 71	49 ± 16
60	249 ± 23	235 ± 19	242 ± 22 <sup>A</sup>	138 ± 14	122 ± 15	130 ± 17	47 ± 16	48 ± 18	48 ± 17
Média	248 ± 20	234 ± 17	241 ± 20	138 ± 14 <sup>a</sup>	124 ± 14 <sup>b</sup>	131 ± 16	46 ± 17 <sup>b</sup>	49 ± 18 <sup>a</sup>	48 ± 17
CV	8,12			11,94			36,48		
EPM	0,961			0,765			0,847		
P Jejum	<0,0001			<0,0001 (L)			<0,0001 (Q)		
P Tipo	<0,0001			<0,0001			0,0174		
P Estocagem	<0,0001			0,5011			0,3643		
P Jejum x Tipo	<0,0001			0,0616			0,8999		
Linear	<0,0001	<0,0001							
Quadrática	<0,0001	<0,0001							
P Estocagem x Tipo	0,8482			0,5945			0,3550		

CV: Coeficiente de variação; EPM: Erro Padrão da média; P: Significância a 5% de probabilidade; L: Efeito linear obtido na análise de regressão; Q: Efeito quadrático obtido na análise de regressão; Letras minúsculas na mesma linha diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F; Letras maiúsculas na mesma coluna se diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 2. Concentrações médias de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) no plasma e no soro de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum e períodos de estocagem.

Jejum (horas)	AST (IU L <sup>-1</sup> )			ALT (IU L <sup>-1</sup> )			GGT (IU L <sup>-1</sup> )		
	Soro	Plasma	Média	Soro	Plasma	Média	Soro	Plasma	Média
0	353 ± 60	322 ± 56	337 ± 60	9,17 ± 2,43	7,18 ± 2,13	8,18 ± 2,48	23,95 ± 6,97	14,57 ± 2,62	19,26 ± 7,04
2	408 ± 87	407 ± 81	407 ± 84	9,34 ± 2,29	8,28 ± 2,83	8,81 ± 2,61	21,10 ± 6,78	16,36 ± 4,86	18,73 ± 6,32
4	450 ± 76	440 ± 70	445 ± 72	9,95 ± 2,84	9,59 ± 2,85	9,77 ± 2,83	21,32 ± 5,49	18,05 ± 4,01	19,05 ± 5,03
6	436 ± 63	403 ± 71	419 ± 69	10,25 ± 2,45	9,12 ± 2,15	9,68 ± 2,35	19,55 ± 6,01	15,08 ± 2,67	17,31 ± 5,13
8	413 ± 66	380 ± 73	396 ± 71	9,93 ± 2,00	8,80 ± 2,30	9,36 ± 2,21	20,96 ± 5,10	18,57 ± 4,02	19,72 ± 4,69
10	460 ± 67	417 ± 70	438 ± 71	10,65 ± 2,33	8,85 ± 2,91	9,77 ± 2,76	23,25 ± 6,07	16,14 ± 4,22	19,51 ± 6,26
12	436 ± 71	387 ± 65	412 ± 72	10,65 ± 3,01	8,38 ± 2,75	9,51 ± 3,08	27,04 ± 5,63	18,15 ± 2,99	22,59 ± 6,33
Estocagem (dias)									
0	409 ± 71	388 ± 65	398 ± 67	11,14 ± 2,40	9,76 ± 2,26	10,45 ± 2,43 <sup>A</sup>	16,80 ± 3,85 <sup>B</sup>	16,66 ± 4,08	18,35 ± 4,88
30	431 ± 74	397 ± 71	414 ± 74	9,40 ± 2,42	8,02 ± 2,64	8,71 ± 2,62 <sup>B</sup>	16,48 ± 3,69 <sup>B</sup>	16,03 ± 4,43	19,91 ± 6,36
60	426 ± 85	396 ± 94	411 ± 90	9,44 ± 2,37	8,04 ± 2,64	8,74 ± 2,60 <sup>B</sup>	24,22 ± 6,45 <sup>A</sup>	16,82 ± 4,32	20,38 ± 6,58
Média	422 ± 77 <sup>a</sup>	394 ± 77 <sup>b</sup>	408 ± 78	9,99 ± 2,52 <sup>a</sup>	8,60 ± 2,64 <sup>b</sup>	9,30 ± 2,67	22,46 ± 6,41	16,70 ± 3,94	19,54 ± 6,03
CV	19,21			28,73			30,86		
EPM	3,826			0,130			0,296		
P Jejum	0,1404			<0,0001(Q)			<0,0001		
P Tipo	<0,0001			<0,0001			<0,0001		
P Estocagem	0,1356			<0,0001			0,0009		
P Jejum x Tipo	0,4836			0,3520			0,0002		
Linear							0,0320	0,0043	
Quadrática							<0,0001	0,0104	
P Estocagem x Tipo	0,7032			0,9989			0,0005		
P Tukey							<0,0001	0,8510	

CV: Coeficiente de variação; EPM: Erro Padrão da média; P: Significância da análise de variância; L: Efeito linear; Q: Efeito quadrático; Letras minúsculas na mesma linha diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F. Letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

Tabela 3. Equações de regressão da glicose, colesterol, triglicerídeos, atividade de alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes períodos de jejum e tempo de estocagem das amostras

Jejum				
Variável	Soro/Plasma	Equação de regressão	PC	R <sup>2</sup>
Glicose	Soro	$262,66533 - 2,47838*Gli$		0,86
Glicose	Plasma	$235,95679 + 2,47754*Gli - 0,31335*Gli^2$	3,95	0,46
Colesterol	Soro e Plasma	$125,21352 + 0,91623*Col$		0,42
Triglicerídeos	Soro e Plasma	$73,13413 - 8,44434*Trig + 0,48298*Trig^2$	8,74	0,90
ALT	Soro e Plasma	$8,25000 + 0,37279*ALT - 0,02286*ALT^2$	8,15	0,84
GGT	Soro	$24,00018 - 1,54703*GGT + 0,14871*GGT^2$	5,20	0,95
GGT	Plasma	$15,54308 + 0,19297*GGT$		0,29

PC: Ponto crítico obtido da derivação de equação quadrática.



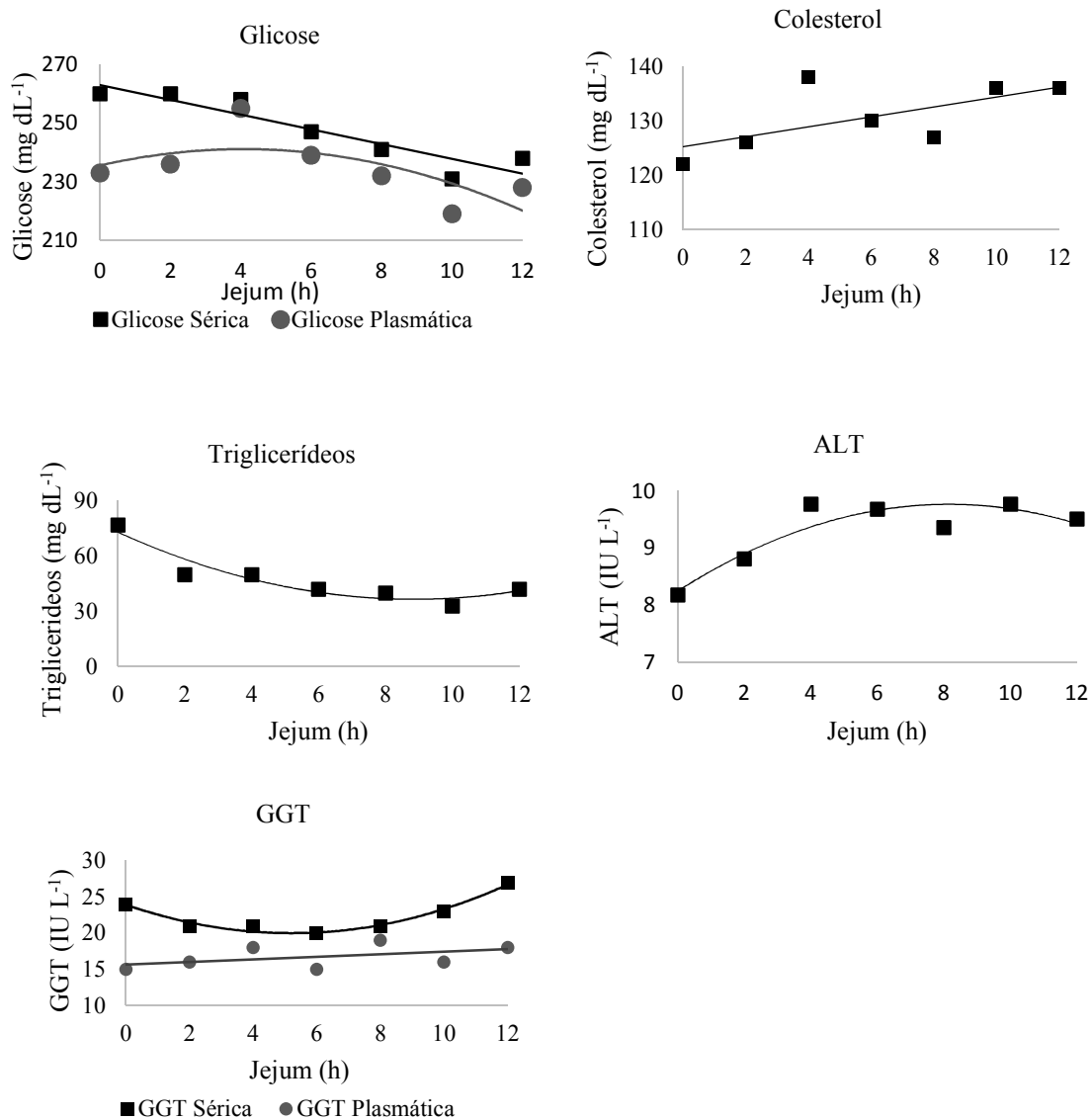


Figura 1. Concentrações séricas e plasmáticas de glicose, colesterol, triglicerídeos, atividade de Alanina aminotransferase (ALT) e Gama glutamil transferase (GGT) de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum.

### 3.4 Discussão

O efeito linear decrescente apresentado na glicose sérica e quadrático para as concentrações de glicose plasmática com diminuição das concentrações a partir de 3h e 57 minutos de jejum, ocorre devido à depleção de glicogênio no fígado não ser suficiente para manter os níveis glicêmicos, havendo assim uma redução gradual da glicose sanguínea (RODRIGUES et al., 2017).

O aumento na concentração de colesterol e a redução nos triglicerídeos pode ser devido a uma mobilização lipídica, onde os lipídeos adentram a corrente sanguínea e, conseqüentemente, são transportados por lipoproteínas VLDL, acarretando uma maior circulação de colesterol no sangue e, assim, a utilização dos triglicerídeos pelos tecidos (LUMEIJ, 2008).

A ocorrência de ponto de mínima nas concentrações de triglicerídeos por volta de 9 horas de jejum pode estar associada à mobilização lipídica para obtenção de energia e manutenção das atividades vitais do organismo em decorrência do período prolongado de jejum (RODRIGUES et al., 2017). As concentrações sanguíneas de triglicerídeos são influenciadas pelo tempo de jejum, de maneira que na ocorrência de balanço energético negativo, o metabolismo das aves é estimulado a mobilizar triglicerídeos circulantes fornecendo ácidos graxos e glicerol, os quais através da  $\beta$ -oxidação e via glicolítica, respectivamente, são utilizados para a produção de energia (COELHO et al., 2013), diminuindo assim as concentrações sanguíneas de triglicerídeos.

A diminuição nas concentrações de triglicerídeos e glicose foram relatadas por Vosmerova et al. (2010), os quais observaram que em aves expostas a tempos de jejum prolongados os valores de glicose e triglicerídeos tendem a diminuir.

Ocorreu resposta quadrática para atividade da enzima ALT com ponto de máxima (8h e 9 minutos), o que vem ao encontro do descrito por Veiga et al. (1978), que em estudo com frangos, relataram que o tempo de jejum aumenta as concentrações de ALT nas aves.

A ocorrência de efeito quadrático com aumento nas concentrações de GGT sérico após o ponto de mínima (5h e 12 minutos) e do aumento linear crescente do GGT plasmático se deve ao fato de que os animais, quando em um período de jejum anormal, tem seu metabolismo animal podendo desencadear catabolismo proteico, aumentando conseqüentemente o transporte de aminoácidos, evidenciando a principal função da GGT

que, conforme Yu e Long (2016), tem por função atuar no meio extracelular catalisando a conversão de glutathiona (GSH) nos dipeptídeos glutamato ou cisteína.

O período de estocagem do soro ou plasma pode acarretar redução das concentrações de glicose. O presente estudo apresentou variação nas concentrações de glicose causados pela estocagem (-20°C), esta variação encontrada demonstra que a temperatura utilizada durante o armazenamento não foi suficiente para manter o analito estável por 60 dias. Este resultado foi demonstrado por Cuhadar et al. (2013) e Clark et al. (1990), estocando soro a -20°C, obtidos de sangue de humanos, por um e três meses respectivamente, estes observaram diminuição nas concentrações de glicose nas amostras armazenadas por longos períodos.

Os resultados observados para colesterol e triglicerídeos demonstram que esses analitos podem permanecer estáveis por 60 dias à temperatura de -20°C sem sofrerem alterações. O colesterol e triglicerídeos presentes no plasma e no soro não sofrem alterações em suas concentrações quando estocados a -20°C por 19 a 27 semanas (STOKES et al., 1986; TIEDINK e KATAN, 1989). A estabilidade dos triglicerídeos durante longos períodos de armazenamento também foi observada por Shimizu e Ichihara (2019) ao armazenarem amostras de soro por 2 meses a -20°C.

Outro metabolito estável à estocagem é o AST, esse não sofreu modificações durante os 2 meses de estocagem a -20°C. Segundo Kaneko et al. (2008), essa enzima é estável a armazenamentos durante o congelamento e essa resposta foi observada por Thoresen et al. (1995) e Oliveira et al. (2011), os quais estudaram a mesma enzima, entretanto em amostras de sangue de cães e cordeiros, respectivamente.

As concentrações de ALT tendem a diminuir com o tempo de estocagem (KANEKO et al., 2008). Essa diminuição na concentração de ALT sanguíneo é fruto da desnaturação enzimática descrita por Ikeda et al. (2015) em trabalho com humanos, os quais relatam que a enzima ALT costuma apresentar desnaturação enzimática e conseqüente diminuição nas suas concentrações a -20°C sendo instáveis nessa temperatura. Assim o período de estocagem pode interferir de forma negativa nos resultados de análises experimentais, sendo que muitas vezes os pesquisadores podem concluir com base nos resultados encontrados, sendo que esses sofreram influência do tempo de estocagem.

As concentrações de glicose, colesterol, AST, ALT e GGT, estudadas nesse trabalho, apresentaram-se mais elevadas quando determinados na amostra de soro, ao serem comparadas com os observados no plasma. Essa maior concentração no soro pode

ser atribuída à ação que os anticoagulantes de baixo peso molecular, como o fluoreto de sódio, pode exercer sobre as amostras. O efeito osmótico desses anticoagulantes tende a retirar uma quantidade de água do interior dos eritrócitos transferindo-a ao plasma, o que ocasionaria uma diluição das concentrações plasmáticas de alguns metabólitos (ALPER et al., 1974). De acordo com Grande et al. (1964), isso pode fazer com que ocorra maior diluição dos constituintes plasmáticos, resultando em valores mais baixos nessa fração sanguínea, por isso deve ser escolhido um anticoagulante que não interfira nos resultados das análises. Outro ponto importante a se destacar é que pode ocorrer uma redistribuição osmótica entre as células e o plasma, e essa pode interferir nos resultados dos analitos (GRANDE et al., 1964).

A utilização de fluoreto de sódio como anticoagulante pode interferir analiticamente nas avaliações por espectrofotometria, devido a muitas vezes esse anticoagulante provocar fibrina nas amostras durante sua coleta (FERNANDEZ et al., 2013; BONETTI et al., 2016; AL-KHARUSI et al., 2014). Assim, após a separação do plasma, deve ser observada a formação de hemólise e, se possível, realizar uma nova coleta ou fazer uma centrifugação com maior força de gravidade.

Embora as diferenças encontradas entre as concentrações dos analitos bioquímicos no soro e no plasma serem estatisticamente significativas, Picheth et al. (2001) relataram que essas diferenças entre as frações, para o analito glicose, não representam diferenças quimicamente significativas, destacando que ambas as frações podem ser utilizadas analiticamente para glicose.

As concentrações de GGT apresentaram efeitos diferentes para o soro e o plasma durante o período de estocagem. A diferença nas concentrações de GGT entre soro e o plasma, bem como uma diminuição nos valores do metabólito nas análises do plasma, devem-se pelo uso do anticoagulante fluoreto de sódio, o qual reduz a atividade da GGT (BURTIS et al., 2012).

### 3.5 Conclusões

A determinação de AST não é influenciada pelo tempo de jejum que precede a coleta e pode ser realizada a até 60 dias quando estocado a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

As mensurações de colesterol e triglicerídeos podem ser realizadas em amostras estocadas a até 60 dias a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Para a realização de leituras de glicose, ALT e GGT plasmática, deve-se evitar a estocagem a  $-20^{\circ}\text{C}$  das amostras por longos períodos.

Com base nos dados apresentados, recomenda-se a utilização de amostras de soro e a utilização de 6 horas de jejum.

As concentrações de glicose no soro podem apresentar valores médios de  $248 \pm 21$  e no plasma de  $228 \pm 17\text{ mg dL}^{-1}$ ; o colesterol no soro possui valores médios de  $138 \pm 14$  e no plasma de  $124 \pm 14\text{ mg dL}^{-1}$ ; os triglicerídeos no soro têm valores médios de  $46 \pm 17$  e no plasma de  $49 \pm 18\text{ mg dL}^{-1}$ ; a atividade de AST no soro apresenta valores médios de  $422 \pm 77$  e no plasma de  $394 \pm 77\text{ mg IU L}^{-1}$ ; a ALT no soro apresenta médias de  $9,99 \pm 2,52$  e no plasma de  $8,60 \pm 2,64\text{ IU L}^{-1}$ ; a GGT sérica apresenta valores médios de  $22,46 \pm 6,41$  e no plasma de  $16,70 \pm 3,94\text{ IU L}^{-1}$ .

## REFERÊNCIAS

- AL-KHARUSI, A.; AL-LAWATI, N.; AL-KINDI, M.; MULA-ABED, W. A. Are tubes containing sodium fluoride still needed for the measurement of blood glucose in hospital laboratory practice?. **Oman Medical Journal**, v. 29, n. 6, p. 404-409, 2014.
- ALLAIN, C. C.; POON, L. S.; CHAN, C. S.; RICHMOND, W. F. P. C.; FU, P. C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical chemistry**, v. 20, n. 4, p. 470-475, 1974.
- ALPER, C. Specimen collection and preservation. In: HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKELMAN, J. W. *Clinical Chemistry, Principles and Techniques*. 11 ed. New York: Harper and Row Publishers, p. 373-388, 1974.
- BEHBOUDI, H.; ESMAEILPOUR, O.; MIRMAHMOUDI, R.; MAZHARI, M. The Influence of drinking water containing lemon juice and thyme supplemented diet on performance and some blood parameters of broilers under heat stress. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 6, n. 1, p. 169-174, 2016.
- BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. **Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book**. Amsterdam: Elsevier Health Sciences, 2012. 1088p.
- BONETTI, G.; CANCELLI, V.; COCCOLI, G.; PICCINELLI, G.; BRUGNONI, D.; CAIMI, L.; CARTA, M. Which sample tube should be used for routine glucose determination?. **Primary Care Diabetes**, v. 10, n. 3, p. 227-232, 2016.
- CHAND, N.; NAZ, S.; REHMAN, Z.; KHAN, R. U. Blood biochemical profile of four fast-growing broiler strains under high ambient temperature. **Applied Biological Chemistry**, v. 61, n. 3, p. 273-279, 2018.
- CLARK, M. L.; HUMPHREYS, S. M.; FRAYN, K. N. Stability of plasma glucose during storage. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 27, n. 4, p. 373-377, 1990.
- COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Archives of Medical Science: AMS**, v. 9, n. 2, p. 191-200, 2013.
- CUHADAR, S.; KOSEOGLU, M.; ATAY, A.; DIRICAN, A. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. **Biochemia Medica**, v. 23, n. 1, p. 70-77, 2013.
- CÓRDOVA-NOBOA, H. A.; OVIEDO-RONDÓN, E. O.; SARSOUR, A. H.; BARNES, J.; SAPCOTA, D.; LÓPEZ, D.; GROSS, L.; RADEMACHER-HEILSHORN, M.; BRAUN, U. Effect of guanidinoacetic acid supplementation on live performance, meat quality, pectoral myopathies and blood parameters of male broilers fed corn-based diets with or without poultry by-products. **Poultry Science**, v. 97, n. 7, p. 2494-2505, 2018.

- FERNANDEZ, L.; JEE, P.; KLEIN, M. J.; FISCHER, P.; PERKINS, S. L.; BROOKS, S. P. A comparison of glucose concentration in paired specimens collected in serum separator and fluoride/potassium oxalate blood collection tubes under survey 'field' conditions. **Clinical Biochemistry**, v. 46, n. 4-5, p. 285-288, 2013.
- FOSSATI, P., PRENCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. **Clinical chemistry**, v. 28, n. 10, p. 2077-2080, 1982.
- GATTANI, A.; PATHAK, A.; KUMAR, A.; MISHRA, V.; BHATIA, J. S. Influence of season and sex on hemato-biochemical traits in adult turkeys under arid tropical environment. **Veterinary world**, v. 9, n. 5, p. 530-534, 2016.
- GILANI, S. M. H.; ZEHRA, S.; GALANI, S.; ASHRAF, A. Effect of natural growth promoters on immunity, and biochemical and haematological parameters of broiler chickens. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 4, p. 627-633, 2018.
- GRANDE, F.; AMATUZIO, D.S.; WADA, S., Cholesterol measurement in serum and in plasma. **Clinical Chemistry**, v. 10, p. 619-626, 1964.
- IKEDA, K.; ICHIHARA, K.; HASHIGUCHI, T.; HIDAKA, Y.; KANG, D., MAEKAWA, M., MATSUMOTO, H.; MATSUSHITA, K.,; OKUBO, S.; TSUCHIYA, T.; FURUTA, K. Evaluation of the short-term stability of specimens for clinical laboratory testing. **Biopreservation and Biobanking**, v. 13, n. 2, p. 135-143, 2015.
- KANEKO, J. J; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Waltham: Academic Press, 2008. p.839-872.
- KIM, J. H.; CHOI, H. S., GOO, D.; PARK, G. H.; HAN, G. P.; DELOS REYES, J.; KIL, D. Y. Effect of dietary melamine concentrations on growth performance, excreta characteristics, plasma measurements, and melamine residue in the tissue of male and female broiler chickens. **Poultry Science**, v. 98, p. 8, p. 3204-3211, 2019.
- LPA-UN - Laboratorio de Patología Aviar, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. **Registros, Historias Clínicas** 2003- 2010.
- LUMEIJ, J. T. **Avian clinical biochemistry**. In: KANEKO, J. J; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Waltham: Academic Press, 2008. p.839-872.
- MINAFRA, C. S.; MARQUES, S. F. F.; STRINGHINI, J. H.; ULHOA, C. J.; REZENDE, C. S. M.; SANTOS, J. S.; MORAES, G. H. K. D. Biochemical serum profile of broilers fed diets supplemented with alphaamylase from *Cryptococcus flavus* and *Aspergillus niger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2691-2696, 2010.

- OLIVEIRA, F. S.; FALBO, M. K.; SANDINI, I. E.; ISHIY, L. E. Efeito do congelamento e do tempo de armazenamento do soro sanguíneo de cordeiros na determinação de parâmetros bioquímicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 717-722, 2011.
- PICHETH, G.; JAWORSKI, M. C. G.; PINTO, A.P.; KIKUTI, M. Y.; SCARTEZINI, M.; ALCÂNTARA, V. M.; FADEL-PICHETH, C. M. T. Plasma-fluoretado comparado ao soro na determinação da glicose sanguínea. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 33, n. 4, p. 167-170, 2001.
- PIMENTEL-GOMES, F. (2009). Curso de estatística experimental Piracicaba: Esalq, 2009. 477p.
- REHMAN, Z.; CHAND, N.; KHAN, R. U.; NAZ, S.; ALHIDARY, I. A. Serum biochemical profile of two broilers strains supplemented with vitamin E, raw ginger (*Zingiber officinale*) and L-carnitine under high ambient temperatures. **South African Journal of Animal Science**, v. 48, n. 5, p. 935–942, 2018.
- RODRIGUES, D. R.; CAFÉ, M. B.; JARDIM FILHO, R. M.; OLIVEIRA, E.; TRENTIN, T. C.; MARTINS, D. B.; MINAFRA, C. S. Metabolism of broilers subjected to different lairage times at the abattoir and its relationship with broiler meat quality. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 3, p. 733-741, 2017.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; BRITO, C. O. **Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa: Departamento de Zootecnia, 488p. 2017.
- SAS Institute INC. SAS University Edition: Installation Guide for Windows. Cary: SAS Institute, 2014. 23p.
- SADEGHI, A. A.; MOHAMADI-SAEI, M.; AHMADVAND, H. The efficacy of dietary savory essential oil on reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 20, n. 4, p. 481-486, 2014.
- SCHUMANN, G.; BONORA, R.; CERIOTTI, F.; FÉRARD, G.; FERRERO, C. A.; FRANCK, P. F.; GELLA, F. J.; HOELZE, W.; JORGENSEN, P. J.; KANNO, T.; KESSNER, A.; KLAUKE, R.; KRISTIANSEN, N.; LESSINGER, J. M.; LINSINGER, T. P. J.; MISAKI, H.; PANTEGHINI, M.; PAUWELS, J.; SCHIELE, F.; SCHIMMEL, H. G.; WEIDEMANN, G.; SIEKMANN, L. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of aspartate-aminotransferase [L-aspartate: 2-oxoglutarate-aminotransferase (AST), EC 2.6.1.1]. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 40, n. 7, p. 725-733, 2002a.
- SCHUMANN, G.; BONORA, R.; CERIOTTI, F.; FÉRARD, G.; FERRERO, C. A.; FRANCK, P. F.; GELLA, F. J.; HOELZE, W.; JORGENSEN, P. J.; KANNO, T.; KESSNER, A.; KLAUKE, R.; KRISTIANSEN, N.; LESSINGER, J. M.; LINSINGER, T. P. J.; MISAKI, H.; PANTEGHINI, M.; PAUWELS, J.; SCHIELE,



- F.; SCHIMMEL, H. G.; WEIDEMANN, G.; SIEKMANN, L. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of alanine aminotransferase [L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase (ALT), EC 2.6.1.2]. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 40, n. 7, p. 718-724, 2002b.
- SCHUMANN, G.; BONORA, R.; CERIOTTI, F.; FÉRARD, G.; FERRERO, C. A.; FRANCK, P. F.; GELLA, F. J.; HOELZE, W.; JORGENSEN, P. J.; KANNO, T.; KESSNER, A.; KLAUKE, R.; KRISTIANSEN, N.; LESSINGER, J. M.; LINSINGER, T. P. J.; MISAKI, H.; PANTEGHINI, M.; PAUWELS, J.; SCHIELE, F.; SCHIMMEL, H. G.; WEIDEMANN, G.; SIEKMANN, L. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 6. Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of  $\gamma$ -glutamyltransferase [( $\gamma$ -glutamyl)-peptide: amino acid  $\gamma$ -glutamyltransferase (GGT), EC 2.3.2.2]. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 40, n. 7, p. 734-738, 2002c.
- SHARIDEH, H.; ZHANDI, M.; ZAGHARI, M.; AKHLAGHI, A. Effect of dietary zinc oxide and phytase on the plasma metabolites and enzyme activities in aged broiler breeder hens. **Iranian Journal of Veterinary Medicine**, v. 9, n. 4, p. 263-270, 2016.
- SHIMIZU, Y.; ICHIHARA, K. Elucidation of stability profiles of common chemistry analytes in serum stored at six graded temperatures. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 57, n. 9, p. 1388-1396, 2019.
- SUBHANI, Z.; SHAHID, M.; HUSSAIN, F.; KHAN, J. A. Efficacy of *Chlorella pyrenoidosa* to Ameliorate the Hepatotoxic Effects of Aflatoxin B1 in Broiler Chickens. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 38, n.1, p. 13-18, 2018.
- STOKES, Y. M.; SALMOND, C. E.; CARPENTER, L. M.; WELBY, T. J. Stability of total cholesterol, high-density-lipoprotein cholesterol, and triglycerides in frozen sera. **Clinical Chemistry**, v. 32, n. 6, p.995-999, 1986.
- SWARNA, C. L.; SRINIVAS, G.; RAO, S. V. Effect of Unsaturated to Saturated Fatty Acids Ratio of Supplemental Fat in the Diet with or without L-Carnitine on Performance of Broiler Chicken. **Indian Journal of Poultry Science**, v. 53, n. 2, p.150-155, 2018.
- THORESEN, S. I.; TVERDAL, A.; HAVRE, G.; MORBERG, H. Effects of storage time and freezing temperature on clinical chemical parameters from canine serum and heparinized plasma. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 24, n. 4, p. 129-133, 1995.
- TIEDINK, H. G.; KATAN, M. B. Variability in lipoprotein concentrations in serum after prolonged storage at -20° C. **Clinica Chimica Acta**, v. 180, n. 2, p. 147-155, 1989.
- TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Annals of clinical Biochemistry**, v. 6, n. 1, p. 24-27, 1969.

- VEIGA, J. A.; ROSELINO, E. S.; MIGLIORINI, R. H. Fasting, adrenalectomy, and gluconeogenesis in the chicken and a carnivorous bird. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 234, n.3, p. 115-121, 1978.
- VOSMEROVA, P.; CHLOUPEK, J.; BEDANOVA, I.; CHLOUPEK, P.; KRUIKOVÁ, K.; BLAHOVA, J.; VECEREK, V. Changes in selected biochemical indices related to transport of broilers to slaughterhouse under different ambient temperatures. **Poultry Science**, v. 89, n.12, p. 2719-2725, 2010.
- YANG, J. Y.; ZHANG, H. J.; WANG, J.; WU, S. G.; YUE, H. Y.; JIANG, X. R.; QI, G. H. Effects of dietary grape proanthocyanidins on the growth performance, jejunum morphology and plasma biochemical indices of broiler chicks. **Animal**, v. 11, n. 5, p. 762-770, 2017.
- YARI, P.; YAGHOBFAR, A.; AGHDAMSHAHRYAR, H.; EBRAHIM-NEZHAD, Y.; MIRZAIE-GOUDARZI, S. Productive and serum biological responses of broiler chicks to use of different patterns of diet formulation. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 4, n. 3, p. 459-464, 2014.
- YU, X.; LONG, Y. C. Crosstalk between cystine and glutathione is critical for the regulation of amino acid signaling pathways and ferroptosis. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-10, 2016.
- ZAKARIA, H. A.; JALAL, M.; AL-TITI, H. H.; SOUAD, A. Effect of Sources and Levels of Dietary Zinc on the Performance, Carcass Traits and Blood Parameters of Broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 19, n. 3, p. 519-526, 2017.
- ZHANG, Y. N.; WANG, J.; QI, B.; WU, S. G.; CHEN, H. R.; LUO, H. Y.; YIN, D. J.; LU, F. J.; ZHANG, H. J.; QI, G. H. Evaluation of mango saponin in broilers: effects on growth performance, carcass characteristics, meat quality and plasma biochemical indices. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 8, p. 1143-1149, 2017.

#### **4 INFLUÊNCIA DA INTENSIDADE LUMINOSA, FRAÇÃO SANGUÍNEA, PERÍODO DE JEJUM E ESTOCAGEM SOBRE OS METABOLITOS DA VIA ENERGÉTICA E ENZIMAS HEPÁTICAS EM FRANGOS DE CORTE**

##### **RESUMO**

Objetivou-se com este estudo determinar a influência do jejum, do tempo de estocagem, da fração sanguínea (soro ou plasma) e da intensidade luminosa sobre as concentrações de glicose, colesterol, triglicerídeos, Aspartato aminotransferase (AST), Alanina aminotransferase (ALT) e Gama glutamil tranferase (GGT) de frangos de corte aos 45 dias de idade. Neste estudo foram utilizados 140 frangos machos separados em dois ambientes (5 e 20 lux de iluminação) e realizada a coleta de sangue de 10 aves de cada ambiente em cada período de jejum (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas), para a preparação de soro e plasma, sendo essas divididas em microtubos e armazenadas a  $-20^{\circ}$  C por 0, 15, 30, 60 e 120 dias e, depois disso, realizadas as análises bioquímicas. As concentrações de glicose sérica declinaram linearmente  $1,15 \text{ mg dL}^{-1}$  a cada duas horas de jejum. Já a glicose plasmática teve resposta de forma quadrática com ponto de mínima a 8 h e 13 minutos de jejum. As concentrações séricas de ALT apresentaram efeito quadrático com ponto de máxima a 3 h e 46 minutos de jejum, porém as concentrações plasmáticas de ALT não se ajustam aos modelos de regressão utilizados. As concentrações séricas de GGT não foram influenciadas pelos tempos de jejum ( $P > 0,05$ ), enquanto as concentrações plasmáticas decresceram  $1,60 \text{ IU L}^{-1}$  a cada 2 horas de jejum. As concentrações de AST foram influenciadas pelo jejum ( $P < 0,001$ ), porém não se ajustaram aos modelos de equações utilizados ( $P > 0,05$ ). Os tempos de estocagem influenciaram as concentrações de glicose de forma quadrática, com pontos de máxima respectivos no soro e no plasma de 95 e 72 dias. Os conteúdos de colesterol e triglicerídeos séricos aumentaram linearmente com os períodos de estocagem, porém as concentrações de triglicerídeos plasmáticos não apresentam alterações relacionadas à estocagem ( $P > 0,05$ ). O tempo de estocagem ocasionou resposta quadrática sobre a ALT sérica com ponto de máxima aos 32 dias de estocagem, já na forma plasmática ocorreu ponto de mínima aos 32 dias de estocagem. As concentrações de GGT aumentaram linearmente com a estocagem. As

concentrações de glicose, triglicerídeos, AST e ALT foram maiores sob a intensidade luminosa de 20 lux, e as concentrações de colesterol e GGT foram superiores com a utilização de 5 lux de luminosidade. Diante do exposto, verifica-se que amostras para análise de AST podem ser estocadas em até 120 dias a -20°C. Indica-se a utilização preferencial de amostras de soro para a realização de análises de glicose, colesterol, triglicerídeos, AST, ALT e GGT, evitando o congelamento, com jejum de seis horas. Assim, ao transcrever os resultados recomenda-se especificar a intensidade luminosa a qual as aves estão expostas.

**Palavras-chave:** bioquímica sanguínea, luminosidade, plasma, soro.

**INFLUENCE OF LUMINOUS INTENSITY, BLOOD FRACTION,  
FASTING PERIOD AND STORAGE ON ENERGY TRACT  
METABOLITES AND HEPATIC ENZYMES IN CHICKENS**

**ABSTRACT**

The objective of this study was to determine the influence of fasting, storage time, blood fraction (serum or plasma) and light intensity on the concentrations of glucose, cholesterol, triglycerides, Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT) and Glut amyl transfer (GGT) range of broilers at 45 days of age. In this study 140 male chickens separated in two environments (5 and 20 lux of lighting) were used and blood was collected from 10 birds from each environment in each fasting period (0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours), for the preparation of serum and plasma, which are divided into micro tubes and stored at -20° C for 0, 15, 30, 60 and 120 days, after which biochemical analyzes are performed. Serum glucose concentrations declined linearly 1.15 mg dL<sup>-1</sup> every two hours of fasting and plasma glucose responded in a quadratic manner with a minimum point of 8 h and 13 minutes of fasting. Serum ALT concentrations showed a quadratic effect with a maximum point at 3 h and 46 minutes of fasting, but plasma ALT concentrations do not adjust to the regression models used. Serum GGT concentrations were not influenced by fasting times (P>0.05), while plasma concentrations decreased by 1.60 IU L<sup>-1</sup> every 2 hours of fasting. AST concentrations were influenced by fasting (P<0.001) but did not fit the models of equations used (P> 0.05). The storage times influenced the glucose concentrations in a quadratic way with respective maximum points in the serum and plasma for 95 and 72 days. The serum cholesterol and triglyceride contents increased linearly with the storage periods, but the plasma triglyceride concentrations do not show changes related to storage (P>0.05). The storage time caused a quadratic response over the serum ALT with a maximum point at 32 days of storage, whereas in the plasma form there was a minimum point at 32 days of storage. GGT concentrations increased linearly with storage. The concentrations of glucose, triglycerides, AST and ALT were higher under the luminous intensity of 20 lux and the concentrations of cholesterol and GGT were higher with the use of 5 lux of luminosity. In view of the above, it is verified that samples for analysis of AST can be stored in up to 120

days at -20°C. The preferential use of serum samples is indicated for the analysis of glucose, cholesterol, triglycerides, AST, ALT and GGT, avoiding freezing, with a six-hour fast and when transcribing the results it is recommended to specify the light intensity when to which the birds are exposed.

**Key words:** Blood biochemistry, luminosity, plasma, serum.

## 4.1 Introdução

Muitos estudos com produção animal visando melhorar a produtividade a partir de nutrição, ambiência, sanidade e manejo, são realizados, havendo assim a necessidade da utilização de ferramentas precisas e de métodos menos invasivos em suas avaliações. Neste contexto, salienta-se que as análises dos constituintes bioquímicos sanguíneos podem auxiliar os pesquisadores na identificação de distúrbios metabólicos sem a necessidade da eutanásia dos animais.

As análises bioquímicas representam um excelente instrumento de pesquisa, que vêm sendo utilizado tanto para avaliar a saúde (WANG et al., 2012; ISLAM et al., 2012), quanto para o “status” nutricional das aves (SILVA et al., 2019; ANDRADE et al., 2017). As determinações das concentrações de glicose, colesterol, triglicerídeos e das atividades de AST, ALT e GGT são amplamente utilizadas nas avaliações experimentais com frangos de corte, porém há a necessidade de avaliar efeitos de algumas variáveis sobre os resultados obtidos nas análises desses parâmetros.

A alimentação tem influência de forma direta nos testes bioquímicos do sangue (OKE et al., 2017), pois é o sangue que transporta os nutrientes para os tecidos, assim o jejum é utilizado na maioria das análises bioquímicas de sangue, porém há uma grande variação metodológica para a coleta de sangue em diferentes estudos, podendo não utilizar jejum (CÓRDOVA-NOBOA et al., 2018) ou estudos com variações de 2 a 12 horas de jejum (ZAKARIA et al., 2017; BEHBOUDI et al., 2016; SWARNA et al., 2018; SADEGHI et al., 2014).

Também existe a necessidade de se determinar o tempo de estocagem para que as amostras de sangue possam ser processadas, sem que haja efeito sobre as concentrações de metabólitos sanguíneos. Na literatura encontram-se apenas estudos com outras espécies, como humanos (CUHADAR et al., 2013), cães (THORESEN et al., 1995; SILVA et al., 2017), cordeiros (OLIVEIRA et al., 2011), caprinos (DIVYA e JAYAVARDHANAN, 2010) e ratos (SPINELLI et al., 2012), os quais demonstram efeitos distintos, reforçando a necessidade específica de estudo com frangos de corte.

Outra dúvida existente é referente à utilização de soro ou plasma para a realização de análises bioquímicas no sangue de frangos de corte, pois existem estudos com outras espécies comparando essas frações sanguíneas (SILVA et al., 2015; BURTIS et al., 2012), porém, em frangos de corte existem poucas ou nenhuma publicação. Além de que

há divergências de utilização pois alguns estudos utilizam soro (SUBHANI et al., 2018; GILANI et al., 2018) e outros utilizam plasma (KIM et al., 2019; YANG et al., 2017).

A intensidade luminosa é conhecida por ter forte influência no comportamento dos frangos de corte, porém também atua intensamente a nível fisiológico, inclusive alterando as concentrações de metabólitos sanguíneos (FIDAN et al., 2017), criando assim a necessidade de realização de trabalhos visando especificar esse efeito, pois os estudos que utilizam de análises bioquímicas sanguíneas como ferramenta obtém amostras de animais mantidos em diferentes intensidades luminosas e, muitas vezes, não levam em conta essa fonte de variação, devendo, assim, ser melhor caracterizado esse efeito.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da intensidade luminosa, fração sanguínea utilizada para análise, períodos de jejum e de estocagem sobre as concentrações sanguíneas de glicose, colesterol, triglicerídeos e das atividades de AST, ALT e GGT em frangos de corte.



## 4.2 Material e Métodos

O presente estudo foi realizado na Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus* de Marechal Cândido Rondon – PR no Aviário Experimental do Núcleo de Estações Experimentais Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa.

Todas as aves foram manuseadas de modo a evitar desconfortos desnecessários e os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de ética no uso de animais da UNIOESTE (CEUA) sob protocolo 23/20-CEUA.

Foram utilizados 140 frangos de corte machos de 45 dias de idade da linhagem Cobb 500 com peso médio de  $3.123 \pm 654$  g, os quais foram criados de 1 a 42 dias de idade sob o mesmo ambiente com alimentação e água *ad libitum* sob piso revestido com cama de maravalha de pinus, em aviário climatizado com temperatura e umidade controladas para que permanecessem na faixa ideal da fase. A dieta fornecida foi preparada visando atender as exigências das fases e seguiram as recomendações nutricionais propostas por Rostagno et al. (2017).

Aos 42 dias de idade as aves foram separadas em 2 ambientes dos quais apenas diferiu-se a intensidade de luz fornecida às aves, cinco e 20 lux m<sup>2</sup>, medida com Luxímetro Instrutherm, modelo LD-209.

Cada ambiente contou 70 aves alojadas em boxes de 1,96 m<sup>2</sup> com 70 aves cada, equipados com bebedouros tipo *nipple* e comedouros tubulares, recebendo a mesma dieta, contendo 10 aves cada, correspondendo à taxa de lotação de 5,1 aves por m<sup>2</sup>.

O período experimental contou com duas intensidades de luz (cinco e 20 lux m<sup>2</sup>), sete tempos de jejum antes da coleta, 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas, dois tipos de preparo das amostras, soro ou plasma em fluoreto de sódio e cinco tempos de estocagem, 0, 15, 30, 60 e 120 dias.

Após três dias de adaptação, aos 45 dias de idade, as aves foram mantidas em jejum por um período de uma hora, sendo em seguida alimentadas por 30 minutos. Esse procedimento foi realizado para que todas as aves apresentassem o mesmo status nutricional ou alimentar pós-prandial. Após o período de arraçoamento foi realizada a primeira coleta de sangue correspondente ao tempo zero, via punção braquial na veia ulnar.

O sangue foi coletado de 20 aves em cada tempo de jejum, 10 aves para cada intensidade luminosa, com as aves em decúbito lateral através de agulhas e tubos para coleta de sangue a vácuo de 4 ml, com adaptadores e agulhas de 25 x 0,8 mm sendo utilizados os tubos sem anticoagulante para a coleta de soro, tubo para coleta de sangue com ativador de coágulo jateado na parede do tubo, o que acelera o processo de coagulação, além de tubos com fluoreto de sódio para a obtenção de plasma, tubo para coleta de sangue com o inibidor glicólico fluoreto de sódio 5 mg, retirando-se duas amostras de 4 ml de sangue por ave, dentro do permitido para a espécie e peso. Foram realizadas duas colheitas com a mesma agulha, em que foi obtida primeiro a amostra para soro e posteriormente, para plasma.

Após a colheita, os tubos permaneceram em repouso em decúbito horizontal por 15 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente foram centrifugados a 2500 rpm (1050G) por 10 minutos para separação de soro e plasma, sendo acondicionadas em microtubos de 2 ml e estocadas em freezer a -20° C.

Uma alíquota foi encaminhada ao laboratório para realização das análises imediatamente. As demais alíquotas, quatro microtubos, permaneceram estocadas por períodos de 15, 30, 60 e 120 dias. Durante a estocagem a temperatura do freezer foi monitorada frequentemente para evitar possíveis oscilações.

Antes da realização das leituras, as amostras foram descongeladas à temperatura de 2 a 8°C, e após, foram centrifugadas em micro-centrífuga (Eppendorf) a 2500 rpm (1050 G) por 10 minutos para a retirada de possível hemólise.

As análises dos parâmetros bioquímicos foram realizadas aos 0, 15, 30, 60 e 120 dias de estocagem. Para essa análise, foi utilizado um analisador bioquímico automático, equipado com espectrofotometria utilizando o equipamento Flexor EL200 (Elitechgroup, Netherlands), com reagentes, calibradores e padrões de aferição da marca Elitech®. As leituras foram realizadas para glicose [glicose PAP, Método de Trinder, enzimático colorimétrico cinético (TRINDER, 1969)], colesterol [método de Trinder, enzimático, colorimétrico de ponto final (ALLAIN et al. 1974)], triglicerídeos [triglicerídeos SL New, enzimático-colorimétrico, ponto final (FOSSATI e PRENCIPE, 1982)], AST – aspartato aminotransferase [método IFCC sem fosfato de piridoxal, cinético, UV (SCHUMANN et al., 2002a)], ALT – alanina aminotransferase [método IFCC sem fosfato de piridoxal, cinético, UV (SCHUMANN et al., 2002b)] e GGT – gamma glutamiltransferase [GAMMA GT Plus, método substrato glupa C, cinético (SCHUMANN et al., 2002c)].

Após a obtenção de todos os resultados analíticos, esses foram tabulados e organizados em esquema fatorial para as análises estatísticas em tipo de amostra, soro ou plasma, tempo de jejum, 0; 2; 4; 6; 8; 10 e 12 horas, período de estocagem, 0; 15, 30, 60 e 120 dias e intensidade luminosa, 5 e 20 lux. Todos os dados foram submetidos a teste de homogeneidade e normalidade, para posterior análise de variância. Em caso de significância foi realizada a análise de regressão para tempos de jejum e estocagem, onde as interações triplas e quádruplas não foram utilizadas, sendo que se objetivou apenas avaliar as interações duplas para tipo de amostra e jejum, tipo de amostra, tempo de estocagem e luminosidade e os fatores isolados, sendo os testes realizados a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 2009). Todos os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando o pacote GLM do SAS (SAS, 2014).

### 4.3 Resultados

Houve interação entre tempos de jejum e fração da amostra utilizada (soro/plasma), para as concentrações de glicose ( $P < 0,0001$ ), colesterol ( $P < 0,0001$ ), triglicerídeos ( $P = 0,0011$ ), atividades de ALT ( $P < 0,0001$ ) e GGT ( $P < 0,0001$ ), porém não houve interação entre esses fatores para AST ( $P = 0,3947$ ) (Tabelas 6 e 7).

As concentrações de glicose sérica declinaram linearmente  $1,15 \text{ mg dL}^{-1}$  a cada 2 horas de jejum (Tabela 8; Figura 2) e a glicose plasmática respondeu de forma quadrática com ponto de mínima de  $217 \text{ mg dL}^{-1}$  de glicose a 8h e 13 minutos de jejum. As concentrações de colesterol sérico e plasmático decaíram linearmente, respectivamente,  $1,91$  e  $1,25 \text{ mg dL}^{-1}$  a cada 2 horas de jejum, já as concentrações de triglicerídeos apresentaram efeito quadrático com pontos de mínima de  $29,45 \text{ mg dL}^{-1}$  de triglicerídeos a 7h e 49 minutos de jejum no soro e  $35,91 \text{ mg dL}^{-1}$  a 8 h e 17 minutos de jejum no plasma.

Os tempos de jejum propiciaram efeito quadrático para as atividades séricas de ALT com ponto de máxima de  $10,02 \text{ UI L}^{-1}$  de ALT a 3h e 46 minutos de jejum, já nas atividades plasmáticas, os modelos de regressão linear e quadrático não se ajustaram adequadamente aos dados ( $P > 0,05$ ).

A atividade de AST foi influenciada pelo tempo de jejum ( $P < 0,0001$ ), entretanto não se ajustaram adequadamente aos modelos lineares e quadráticos de regressão ( $P > 0,05$ ).

A atividade sérica de GGT não foi influenciada pelos tempos de jejum ( $P > 0,05$ ), diferente das concentrações plasmáticas de GGT, as quais reduziram linearmente  $1,60 \text{ L}^{-1}$  a cada duas horas de jejum.

Houve interação entre período de estocagem e fração sanguínea para glicose ( $P = 0,0213$ ) e triglicerídeos ( $P = 0,0026$ ) e ALT ( $P < 0,0001$ ), porém não foi observado efeito para as concentrações de colesterol ( $P = 0,5541$ ), atividade de AST ( $P = 0,2885$ ) e GGT ( $P = 0,2526$ ).

Os tempos de estocagem alteraram de forma quadrática as concentrações de glicose sérica e plasmática, apresentando respectivamente os pontos de máxima aos 95 dias de estocagem e aos 72 dias de estocagem. As concentrações de triglicerídeos ( $P = 0,0062$ ) séricos aumentaram linearmente, porém as concentrações de triglicerídeos plasmáticos não foram influenciadas pelos tempos de estocagem ( $P = 0,4216$ ) (Figura 3).

O tempo de estocagem influenciou de forma quadrática a atividade sérica de ALT, com ponto de máxima aos 32 dias de estocagem, porém no plasma ocorreu efeito quadrático com ponto de mínima aos 93 dias de estocagem e as concentrações de GGT aumentaram linearmente.

As concentrações de colesterol aumentaram de forma linear com o tempo de estocagem.

A atividade de AST foi maior na fração sérica em relação à plasmática.

A intensidade luminosa influenciou sobre todos os metabólitos analisados sendo que para glicose ( $P=0,0268$ ), triglicerídeos ( $P<0,0001$ ), AST ( $P=0,0008$ ) e ALT ( $P=0,0004$ ) as concentrações foram maiores com a intensidade luminosa de 20 lux. Já a concentração de colesterol ( $P<0,0001$ ) e atividade GGT ( $P<0,0001$ ), foi superior nas aves que permaneceram sob a intensidade de 5 lux.

Tabela 4. Concentrações médias de glicose, colesterol e triglicerídeos no plasma e no soro de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum, períodos estocagem e intensidades luminosas (5 e 20 lux)

Jejum (horas)	Glicose (mg dL <sup>-1</sup> )			Colesterol (mg dL <sup>-1</sup> )			Triglicerídeos (mg dL <sup>-1</sup> )		
	Soro	Plasma	Média	Soro	Plasma	Média	Soro	Plasma	Média
0	243 ± 15	232 ± 14	237 ± 15	134 ± 10	113 ± 9	122 ± 14	58 ± 15	59 ± 20	58 ± 18
2	246 ± 16	231 ± 15	237 ± 14	138 ± 14	123 ± 11	130 ± 15	60 ± 19	62 ± 17	61 ± 18
4	242 ± 16	227 ± 13	233 ± 16	137 ± 18	123 ± 16	129 ± 18	41 ± 12	42 ± 13	41 ± 12
6	233 ± 13	223 ± 13	228 ± 14	139 ± 13	122 ± 13	130 ± 15	39 ± 8	36 ± 7	37 ± 8
8	240 ± 14	224 ± 16	231 ± 17	136 ± 13	117 ± 12	126 ± 16	36 ± 6	31 ± 7	33 ± 7
10	237 ± 15	228 ± 17	232 ± 16	140 ± 12	133 ± 13	136 ± 13	41 ± 7	44 ± 9	43 ± 8
12	229 ± 13	225 ± 17	227 ± 15	140 ± 13	131 ± 15	135 ± 15	35 ± 9	39 ± 13	38 ± 12
Estocagem (dias)									
0	230 ± 14	222 ± 14	225 ± 15	134 ± 14	120 ± 14	127 ± 16	40 ± 15	42 ± 17	41 ± 16
15	235 ± 13	226 ± 13	230 ± 14	135 ± 14	122 ± 14	128 ± 15	44 ± 15	43 ± 15	43 ± 15
30	245 ± 15	235 ± 15	239 ± 16	141 ± 12	125 ± 15	132 ± 16	47 ± 14	45 ± 16	46 ± 15
60	238 ± 15	225 ± 15	231 ± 17	136 ± 13	122 ± 14	128 ± 15	40 ± 12	44 ± 17	42 ± 15
120	244 ± 15	228 ± 15	235 ± 17	143 ± 13	126 ± 14	134 ± 16	48 ± 16	44 ± 17	46 ± 16
Intensidade luminosa (lux)									
5	238 ± 15	225 ± 14	231 ± 16 <sup>B</sup>	141 ± 14	124 ± 13	131 ± 16 <sup>A</sup>	42 ± 13	41 ± 15	42 ± 14 <sup>B</sup>
20	238 ± 16	229 ± 16	233 ± 16 <sup>A</sup>	135 ± 13	123 ± 16	128 ± 16 <sup>B</sup>	46 ± 16	46 ± 17	46 ± 16 <sup>A</sup>
Média	238 ± 15	227 ± 15	232 ± 16	138 ± 13	123 ± 14	130 ± 0,45	44 ± 15	44 ± 16	44 ± 16
CV		7,01			12,15			35,48	
EPM		0,47			0,45			15,76	
P Jejum	<0,0001			<0,0001			<0,0001		
P Tipo	<0,0001			<0,0001			0,6496		
P Estocagem	<0,0001			<0,0001			<0,0001		
P Intensidade	<0,0268			<0,0001			<0,0001		
P Jejum x Tipo	<0,0001			<0,0001			0,0011		
Linear	<0,0001	0,0004		0,0063	<0,0001		<0,0001	<0,0001	
Quadrática	<0,0216	<0,0001		0,0127	<0,0001		<0,0001	<0,0001	
P Estocagem x Tipo	0,0213			0,5541			0,0026		
Linear	<0,0001	0,0783		<0,0001			0,0062	NS	
Quadrática	<0,0026	0,0017		0,9748			0,5277	NS	

CV: Coeficiente de variação; EPM: Erro Padrão da média; P: Significância a 5% de probabilidade; L: Efeito linear obtido na análise de regressão; Q: Efeito quadrático obtido na análise de regressão; Letras minúsculas na mesma linha diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5. Atividade de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) no plasma e no soro de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum, períodos de estocagem e intensidades luminosas (5 e 20 lux).

Jejum (horas)	AST (IU L <sup>-1</sup> )			ALT (IU L <sup>-1</sup> )			GGT (IU L <sup>-1</sup> )		
	Soro	Plasma	Média	Soro	Plasma	Média	Soro	Plasma	Média
0	384 ± 107	320 ± 112	348 ± 114	10,14 ± 3,17	8,23 ± 3,44	9,08 ± 3,45	29,01 ± 9,55	49,10 ± 12,21	38,53 ± 14,80
2	345 ± 92	299 ± 107	319 ± 103	9,14 ± 3,15	6,83 ± 3,64	7,85 ± 3,61	30,88 ± 9,80	43,13 ± 15,49	36,93 ± 14,28
4	395 ± 137	347 ± 132	368 ± 136	9,21 ± 3,29	8,07 ± 3,84	8,57 ± 3,64	30,34 ± 9,11	44,89 ± 11,54	38,29 ± 12,78
6	365 ± 102	320 ± 122	340 ± 115	10,97 ± 3,18	7,87 ± 3,24	9,23 ± 3,56	29,49 ± 5,48	46,87 ± 12,53	37,90 ± 12,92
8	376 ± 107	338 ± 127	355 ± 120	9,94 ± 3,30	8,25 ± 4,03	8,97 ± 3,82	28,97 ± 8,92	35,63 ± 12,95	32,57 ± 11,73
10	365 ± 122	358 ± 128	361 ± 125	8,08 ± 3,13	8,11 ± 3,47	8,10 ± 3,30	28,99 ± 7,15	29,52 ± 12,48	29,28 ± 10,39
12	350 ± 92	307 ± 94	326 ± 95	7,85 ± 2,77	6,77 ± 2,39	7,25 ± 2,62	26,68 ± 7,00	32,00 ± 15,28	29,59 ± 12,49
Estocagem (dias)									
0	359 ± 102	319 ± 115	337 ± 111	9,87 ± 4,03	10,69 ± 3,56	10,32 ± 3,79	24,95 ± 7,38	37,21 ± 15,65	31,60 ± 13,96
15	360 ± 103	334 ± 133	346 ± 121	9,48 ± 2,68	8,20 ± 3,33	8,77 ± 3,13	25,95 ± 7,70	35,50 ± 13,23	30,95 ± 11,93
30	365 ± 109	337 ± 119	350 ± 115	9,54 ± 3,16	7,76 ± 3,14	8,55 ± 3,27	30,12 ± 7,78	40,28 ± 14,94	35,48 ± 13,10
60	376 ± 121	314 ± 118	342 ± 123	9,96 ± 3,07	6,41 ± 2,80	8,00 ± 3,41	31,60 ± 8,63	42,61 ± 16,43	36,81 ± 14,02
120	381 ± 116	329 ± 111	352 ± 116	7,75 ± 3,04	5,90 ± 2,66	6,72 ± 2,98	33,64 ± 7,40	42,57 ± 13,72	38,26 ± 11,97
Intensidade luminosa (lux)									
5	362 ± 109	311 ± 119	334 ± 117 <sup>B</sup>	9,00 ± 3,28	7,47 ± 3,55	8,15 ± 3,51 <sup>B</sup>	30,60 ± 8,55	42,97 ± 13,23	36,82 ± 12,75 <sup>A</sup>
20	375 ± 112	342 ± 118	357 ± 116 <sup>A</sup>	9,63 ± 3,29	7,99 ± 3,45	8,73 ± 3,47 <sup>A</sup>	27,79 ± 7,87	36,46 ± 15,86	32,44 ± 13,49 <sup>B</sup>
Média	368 ± 110 <sup>a</sup>	327 ± 119 <sup>b</sup>	345 ± 117	9,31 ± 3,30	7,73 ± 3,51	8,43 ± 3,50	29,19 ± 8,33	39,50 ± 15,04	34,55 ± 13,31
CV		33,93			41,56			38,53	
EPM		3,30			0,10			0,39	
P Jejum		0,0002			<0,0001			<0,0001	
P Tipo		<0,0001			<0,0001			<0,0001	
P Estocagem		0,5933			<0,0001			<0,0001	
P Intensidade		0,0008			0,0004			<0,0001	
P Jejum x Tipo		0,3947			<0,0001			<0,0001	
Linear		0,9638		<0,0001	0,3577		NS	<0,0001	
Quadrática		0,1464		<0,0001	0,1563		NS	<0,0001	
P Estocagem x Tipo		0,2885			<0,0001			0,4526	
Linear		NS		<0,0001	<0,0001			<0,0001	
Quadrática		NS		<0,0086	<0,0001			<0,0191	

CV: Coeficiente de variação; EPM: Erro Padrão da média; P: Significância a 5% de probabilidade; L: Efeito linear obtido na análise de regressão; Q: Efeito quadrático obtido na análise de regressão; Letras minúsculas na mesma linha diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6. Equações de regressão de glicose, colesterol, triglicerídeos, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) no plasma e no soro de frangos de corte submetidos a diferentes períodos de jejum e estocagem

Jejum				
Variável	Soro/Plasma	Equação de regressão	PC	R <sup>2</sup>
Glicose	Soro	$245,29956 - 1,14668*Gli$		0,64
Glicose	Plasma	$232,51465 - 1,91197*Gli + 0,11627*Gli^2$	8,22	0,72
Colesterol	Soro	$135,49916 + 0,38954*Col$		0,53
Colesterol	Plasma	$115,69263 + 1,24765*Col$		0,55
Triglicerídeos	Soro	$29,45573 + 0,40625*Tag - 0,05190*Tag^2$	3,91	0,81
Triglicerídeos	Plasma	$63,70886 - 6,70615*Tag + 0,40439*Tag^2$	8,29	0,74
ALT	Soro	$9,54968 + 0,25127*ALT - 0,03334*ALT^2$	3,77	0,53
GGT	Plasma	$49,67161 - 1,60005*GGT$		0,77
Estocagem				
Glicose	Soro	$232,25247 + 0,24331*Gli - 0,00128*Gli^2$	95,04	0,57
Glicose	Plasma	$223,92059 + 0,17336*Gli - 0,00121*Gli^2$	71,63	0,19
Colesterol	Soro e Plasma	$127,46464 + 0,04885*Col$		0,57
Triglicerídeos	Soro	$42,20012 + 0,03972*Tag$		0,27
ALT	Soro	$9,55360 + 0,01679*ALT - 0,00026*ALT^2$	32,19	0,89
ALT	Plasma	$10,23340 - 0,10016*ALT + 0,00054*ALT^2$	92,74	0,95
GGT	Soro e Plasma	$31,91139 + 0,05980*GGT$		0,78

L= Efeito linear; Q: Efeito quadrático; PC: Ponto crítico resultado da derivação de equação quadrática.



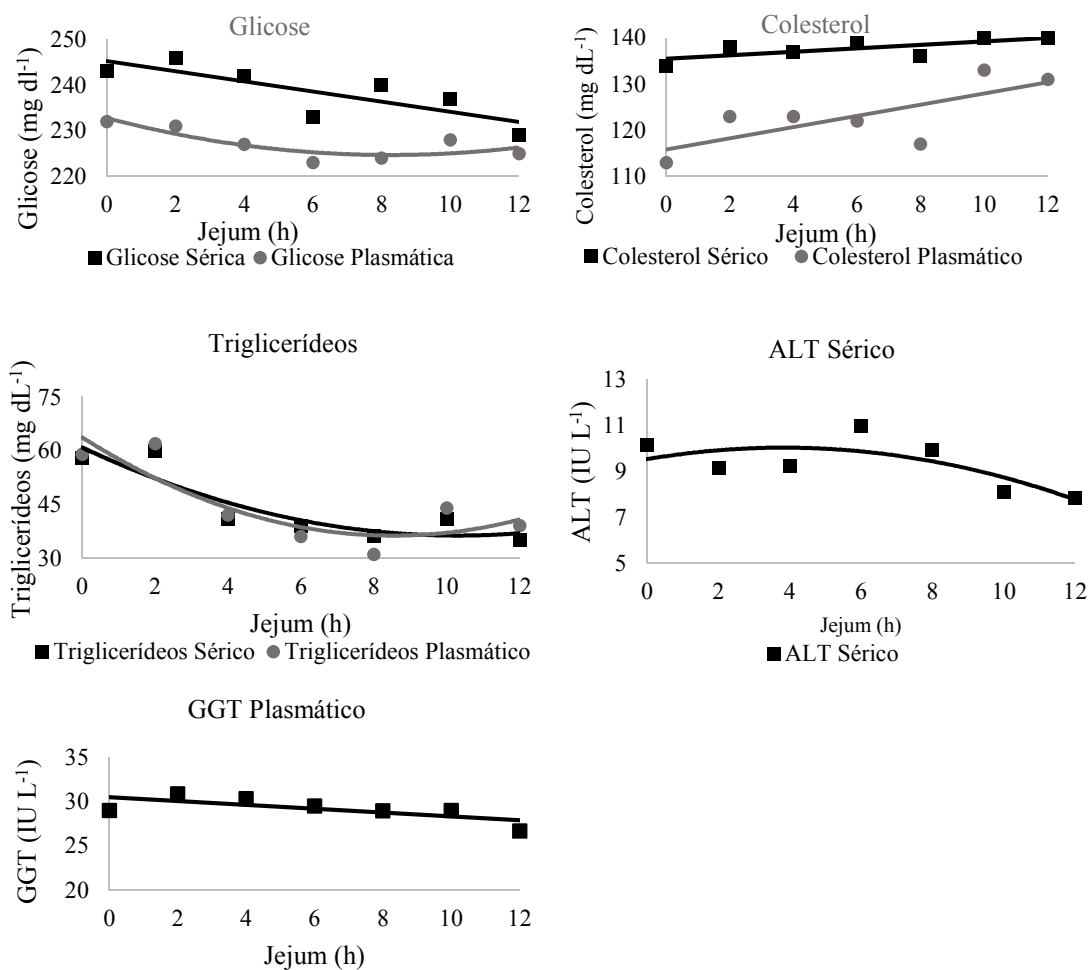


Figura 2. Concentrações séricas e/ou plasmáticas de glicose, colesterol, triglicerídeos, atividade de alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes tempos de jejum

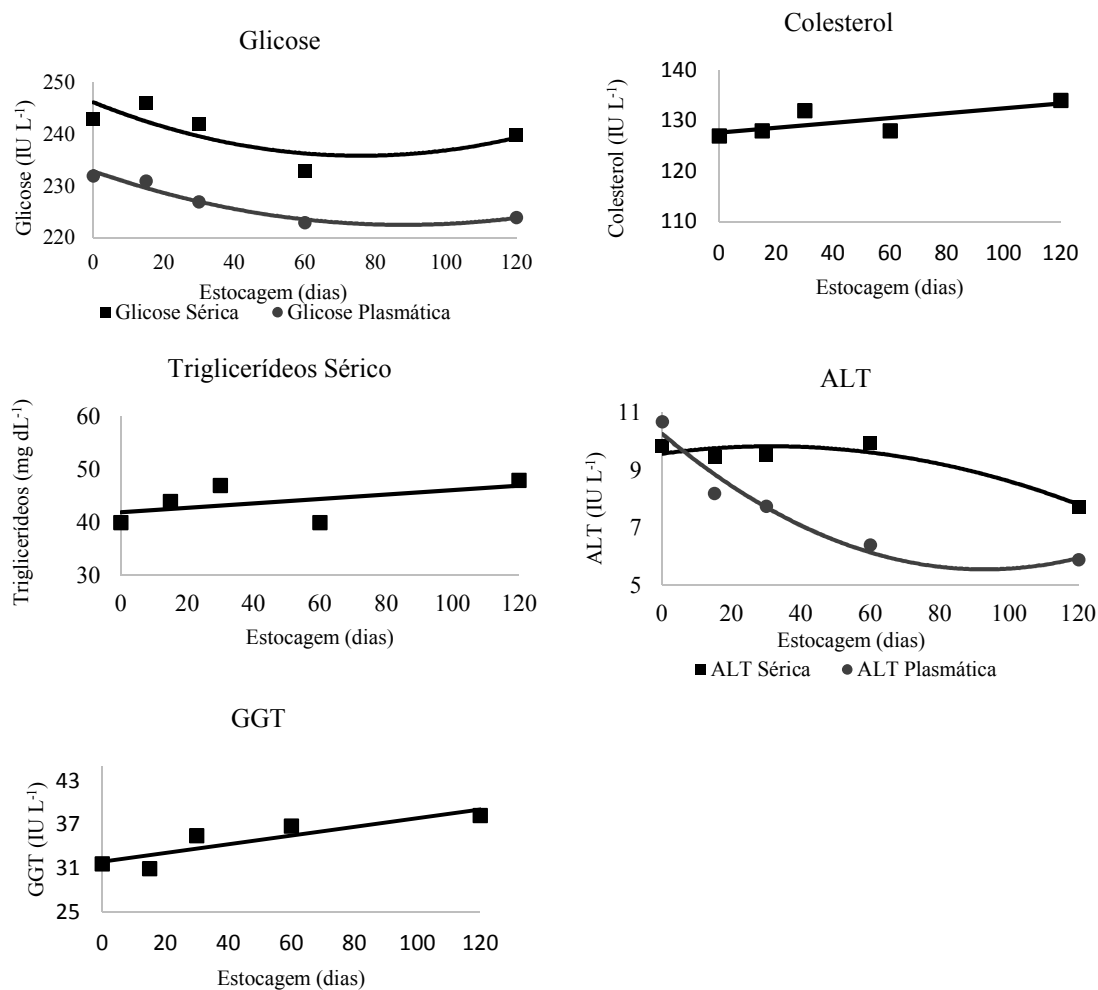


Figura 3. Concentrações de glicose, colesterol, triglicerídeos, e atividade de alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT) de amostras de soro e/ou plasma de frangos de corte aos 45 dias submetidos a diferentes períodos de estocagem

#### 4.4 Discussão

A diminuição nas concentrações de glicose sérica e a diminuição inicial nos teores de glicose plasmática podem estar relacionadas ao relatado por Rodrigues et al. (2017), que observaram que o jejum reduziu a concentração de glicose circulante, devido ao glicogênio não ser suficiente para manter as concentrações de glicose circulantes, o que fez com que as concentrações de glicose sanguínea diminuíssem.

O aumento linear nas concentrações circulantes de colesterol e triglicerídeos acontece devido ao fato de que o animal se encontra sob estado de jejum, ocorrendo assim mobilização dos triglicerídeos do tecido adiposo, sendo direcionados para a circulação sanguínea, ocorrendo assim o transporte através das lipoproteínas de densidade intermediária (VLDL), as quais representam uma fração de colesterol (LUMEIJ, 2008).

O efeito do jejum na atividade de AST e a presença de ponto de máxima por volta de 4 horas de jejum para a atividade de ALT seguem os padrões do relatado por Veiga et al. (1978) que observaram aumento das enzimas AST e ALT correspondentes ao aumento do tempo de jejum submetido a frangos de corte.

Neste estudo ocorreu aumento linear da atividade de GGT, o qual ocorre em frangos em jejum devido ao aumento do catabolismo proteico e consequente aumento do transporte sanguíneo de aminoácidos vindos ao encontro da principal função da GGT que, de acordo com Yu e Long (2016), é de atuar no meio extracelular realizando a catálise e conversão da glutathiona (GSH) em glutamato ou cisteína.

O fato de a glicose ter suas concentrações diminuídas com posterior ponto de mínima aos 92 dias de estocagem para soro e a 75 dias para o plasma se deve ao fato da estocagem a  $-20^{\circ}\text{C}$  não ter sido suficiente para manter o analito estável. Fato esse que repete o encontrado por Cuhadar et al. (2013) em estudo com tempos de estocagem de soro e Clark et al. (1990) com plasma em fluoreto de sódio, ambos de humanos, bem como tiveram as concentrações de glicose diminuídas ao longo do período de estocagem.

As concentrações de colesterol tiveram um aumento linear relacionado ao período de estocagem sob congelamento a  $-20^{\circ}\text{C}$ , o que é relatado por Pini et al. (1990) como resultado de alterações nas composições lipoprotéicas circulantes ocorridas por motivos térmicos, fazendo com que os valores do analito sejam aumentados de acordo com o tempo de estocagem a  $-20^{\circ}\text{C}$  no qual as amostras são submetidas,. Isso porque o método enzimático colorimétrico, em torno do qual o presente estudo organizou-se, determinou as concentrações de colesterol e, segundo o mesmo trabalho, costuma subestimar ainda

as concentrações de colesterol em amostras que não passam pelo processo de congelamento.

A resposta linear crescente apresentada pelas concentrações de triglicerídeos perante os períodos de estocagem se deve a ocorrência de redistribuição de lipídeos descrito por Evans et al. (1995) através de ruptura física de lipoproteínas e redistribuição lipídica. Variações nas concentrações desse analito também são descritas em estudo com humanos (CUHADAR et al., 2013).

Como foi relatado anteriormente, a atividade AST no presente estudo não difere ( $P > 0,05$ ) entre os períodos de congelamento, o que já era esperado pois Kaneko et al. (2008) relata que a atividade dessa enzima não sofre alterações quando ocorre o congelamento e permanece geralmente estável. Assim se observa a mesma resposta em estudos com outras espécies como ratos (CRAY et al., 2009), cães (THORESEN et al., 1995), ovinos (OLIVEIRA et al., 2011) e humanos (CUHADAR et al., 2013), assim os pesquisadores também relataram estabilidade da AST perante a estocagem.

O fato de a atividade de ALT sérico apresentar ponto de máxima a cerca de 30 dias de estocagem e de as concentrações desse metabolito no plasma apresentarem rápida queda e ponto de mínima por volta de 90 dias, explica-se pelo fato relatado por Kaneko et al. (2008), quando relatam que em humanos e suínos, quando as amostras para determinação desta enzima são submetidas a congelamento, tendem a diminuir as concentrações obtidas do analito.

As concentrações de glicose, colesterol e atividade das enzimas AST, ALT e GGT foram maiores no soro do que no plasma, resultado que, segundo Alper et al. (1974), deve-se aos anticoagulantes de baixo peso molecular como o fluoreto de sódio, que exercem efeito osmótico, transferindo grande quantidade de água dos eritrócitos para o plasma. Ainda segundo Grande et al. (1964), isso pode ocasionar diluição dos constituintes plasmáticos, resultando em concentrações de metabólitos de amostras plasmáticas mais baixas no plasma em relação ao soro.

Outro fator a ser considerado é de que as amostras de plasma em fluoreto de sódio apresentam normalmente índices de hemólise maiores que as de soro (FERNANDEZ, et al., 2013; BONETTI et al., 2015; AL-KHARUSI et al., 2014), o que, de acordo com Sabater e Forbes (2015), provoca alterações nas concentrações dos analitos bioquímicos sanguíneos analisados.

O fato das aves submetidas à maior intensidade luminosa (20 lux) terem as concentrações de glicose e colesterol superiores às aves submetidas à menor intensidade

(5 lux) pode estar relacionado ao bem-estar das aves pois, de acordo com Puvadolpirod e Thaxton (2000), o aumento nas concentrações de glicose e triglicérides circulantes pode ser considerado como indicativo de maior estresse em frangos de corte. Esse efeito vem a encontro de um dos objetivos da utilização de menor intensidade luminosa adotado em grande parte pelas granjas de frangos de corte que, segundo Fidan et al. (2017), é diminuir o estresse.

O aumento da glicose circulante pode ocorrer devido ao aumento de atividade física que se sabe que ocorre em aves expostas à intensidade de luz de maior brilho (20 lux) com aumento de mobilização de energia para manutenção e consequente redução de produtividade (OLANREWAJU et al., 2010).

O aumento nas atividades enzimáticas de AST e ALT nas aves expostas à maior intensidade luminosa pode estar associado ao estresse mais elevado a que as aves possam estar sendo expostas. Em estudo semelhante, Hosseini-Vashan et al. (2015) relatam que o estresse faz com que as concentrações destas enzimas hepáticas aumentem em frangos de corte. A resposta sobre a AST segue o encontrado por Fidan et al. (2017), os quais, em estudo com intensidade luminosa, observaram aumento nas concentrações dessa enzima em aves expostas à intensidade luminosa.

#### 4.5 Conclusões

Amostras para análise de AST podem ser estocadas em até 120 dias a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  sem que ocorra alteração nas concentrações desse metabólito.

As concentrações de colesterol, triglicerídeos séricos e atividades de GGT aumentam conforme o tempo de estocagem a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ao qual as amostras são submetidas.

As análises de triglicerídeos podem ser realizadas tanto no soro quanto no plasma sem que sofram variação.

Indica-se a utilização preferencial de amostras de soro para a realização de análises de glicose, colesterol, triglicerídeos, AST, ALT e GGT, evitando o congelamento, com jejum de 6 horas e, ao transcrever os resultados, recomenda-se especificar a intensidade luminosa a qual as aves estão expostas.

Para aves de 45 dias, as concentrações de glicose no soro apresentam valores médios de  $238 \pm 15$  e no plasma de  $227 \pm 15\text{ mg dL}^{-1}$ ; o colesterol no soro possui valores médios de  $138 \pm 13$  e no plasma de  $123 \pm 14\text{ mg dL}^{-1}$ ; os triglicerídeos no soro têm valores médios de  $44 \pm 15$  e no plasma de  $44 \pm 16\text{ mg dL}^{-1}$ ; a atividade de AST no soro apresenta valores médios de  $368 \pm 110$  e no plasma de  $327 \pm 119\text{ mg IU L}^{-1}$ ; a ALT no soro pode apresentar médias de  $9,31 \pm 3,30$  e no plasma de  $7,73 \pm 3,51\text{ IU L}^{-1}$ ; a GGT sérica apresenta valores médios de  $29,19 \pm 8,33$  e no plasma de  $39,50 \pm 15,04\text{ IU L}^{-1}$ .

## REFERÊNCIAS

- AL-KHARUSI, A.; AL-LAWATI, N.; AL-KINDI, M.; MULA-ABED, W. A. Are tubes containing sodium fluoride still needed for the measurement of blood glucose in hospital laboratory practice?. **Oman Medical Journal**, v. 29, n. 6, p. 404-409, 2014.
- ALLAIN, C. C.; POON, L. S.; CHAN, C. S.; RICHMOND, W. F. P. C.; FU, P. C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical chemistry**, v. 20, n. 4, p. 470-475, 1974.
- ALPER, C. **Specimen collection and preservation**. In: HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKELMAN, J. W. *Clinical Chemistry, Principles and Techniques*. 11 ed. New York: Harper and Row Publishers, p. 373-388, 1974.
- ANDRADE, T. S.; NUNES, R. V.; SILVA, I. M.; WACHHOLZ, L.; FASCINA, V. B. Performance and physiological parameters in broilers fed different enzyme complexes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p. 2765-2774, 2017.
- BEHBOUDI, H.; ESMAEILPOUR, O.; MIRMAHMOUDI, R.; MAZHARI, M. The Influence of drinking water containing lemon juice and thyme supplemented diet on performance and some blood parameters of broilers under heat stress. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 6, n. 1, p. 169-174, 2016.
- BONETTI, G.; CANCELLI, V.; COCCOLI, G.; PICCINELLI, G.; BRUGNONI, D.; CAIMI, L.; CARTA, M. Which sample tube should be used for routine glucose determination?. **Primary Care Diabetes**, v. 10, n. 3, p. 227-232, 2016.
- BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. **Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book**. Amsterdam: Elsevier Health Sciences, 2012. 1088p.
- CLARK, M. L.; HUMPHREYS, S. M.; FRAYN, K. N. Stability of plasma glucose during storage. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 27, n. 4, p. 373-377, 1990.
- CÓRDOVA-NOBOA, H. A., OVIEDO-RONDÓN, E. O., SARSOOR, A. H., BARNES, J., SAPCOTA, D., LÓPEZ, D., GROSS, L.; RADEMACHER-HEILSHORN, M.; BRAUN, U. Effect of guanidinoacetic acid supplementation on live performance, meat quality, pectoral myopathies and blood parameters of male broilers fed corn-based diets with or without poultry by-products. **Poultry Science**, v. 97, n. 7, p. 2494-2505, 2018.
- CRAY, C.; RODRIGUEZ, M.; ZAIAS, J.; ALTAIAN, N. H. Effects of storage temperature and time on clinical biochemical parameters from rat serum. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 48, n. 2, p. 202-204, 2009.
- CUHADAR, S.; KOSEOGLU, M.; ATAY, A.; DIRICAN, A. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. **Biochemia medica**, v. 23, n.1, p. 70-77, 2013.

- DIVYA, P. D.; JAYAVARDHANAN, K. K. Effect of temperature and storage time on hepatobiliary enzyme activities in goat serum. **Veterinary World**, v. 3, n. 6, p. 277, 2010.
- EVANS, K.; MITCHESON, J.; LAKER, M. F. Effect of storage at 4 degrees C and -20 degrees C on lipid, lipoprotein, and apolipoprotein concentrations. **Clinical Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 392-396, 1995.
- FERNANDEZ, L.; JEE, P.; KLEIN, M. J.; FISCHER, P.; PERKINS, S. L.; BROOKS, S. P. A comparison of glucose concentration in paired specimens collected in serum separator and fluoride/potassium oxalate blood collection tubes under survey 'field' conditions. **Clinical Biochemistry**, v. 46, n. 4-5, p. 285-288, 2013.
- FIDAN, E. D.; NAZLIGÜL, A.; TÜRKYILMAZ, M. K.; AYPAK, S. Ü.; KILIMCI, F. S.; KARAARSLAN, S.; KAYA, M. Effect of photoperiod length and light intensity on some welfare criteria, carcass, and meat quality characteristics in broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 3, p. 202-210, 2017.
- FOSSATI, P., PRENCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. **Clinical chemistry**, v. 28, n. 10, p. 2077-2080, 1982.
- GRANDE, F.; AMATUZZIO, D. S.; WADA, S., Cholesterol measurement in serum and in plasma. **Clinical Chemistry**, v. 10, p. 619-626, 1964.
- GILANI, S. M. H.; ZEHRA, S.; GALANI, S.; ASHRAF, A. Effect of natural growth promoters on immunity, and biochemical and haematological parameters of broiler chickens. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 4, p. 627-633, 2018.
- HOSSEINI-VASHAN, S. J.; GOLIAN, A.; YAGHOB FAR, A. Growth, immune, antioxidant, and bone responses of heat stress-exposed broilers fed diets supplemented with tomato pomace. **International journal of biometeorology**, v.60, n.8, p.1183-1192, 2015.
- ISLAM, S. K. M. A.; ALAUDDIN, M.; HASSAN, M. M.; KHAN, S. A.; ALAM, M. R.; HOSSAIN, M. B.; AHASAN, A. S. M. L.; SAIFUDDIN, A. K. M.; SULTANA, S.; TUN, H. M.; SHAIKAT, A. H.; DEBNATH, N. C.; HOQUE, M. A. Biochemical analysis on blood and crop contents of household chickens along with their production and health status in Bangladesh. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 32, n. 4, p. 575-578, 2012.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Waltham: Academic Press, 2008. p 839-872.
- KIM, J. H.; CHOI, H. S., GOO, D.; PARK, G. H.; HAN, G. P.; DELOS REYES, J.; KIL, D. Y. Effect of dietary melamine concentrations on growth performance, excreta characteristics, plasma measurements, and melamine residue in the tissue of male and female broiler chickens. **Poultry Science**, v. 98, p. 8, p. 3204-3211, 2019.



- LUMEIJ, J. T. **Avian clinical biochemistry**. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6 ed. Waltham: Academic Press, 2008. p 839-872.
- OKE, E.; LADOKUN, A. O.; DARAMOLA, J. O.; ONAGBESAN, O. M. Haematology and Serum Biochemical Profile of Laying Chickens Reared on Deep Litter System with or without Access to Grass or Legume Pasture under Humid Tropical Climate. **World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering**, v. 11, n.2, p. 91-96, 2017.
- OLIVEIRA, F. S.; FALBO, M. K.; SANDINI, I. E.; ISHIY, L. E. Efeito do congelamento e do tempo de armazenamento do soro sanguíneo de cordeiros na determinação de parâmetros bioquímicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 717-722, 2011.
- OLANREWAJU, H. A.; PURSWELL, J. L.; COLLIER, S. D.; BRANTON, S. L. Effect of ambient temperature and light intensity on physiological reactions of heavy broiler chickens. **Poultry Science**, v. 89, n. 12, p. 2668-2677, 2010.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Esalq, 2009. 477p.
- PINI, C.; SOMMARIVA, D.; BRANCHI, A. SCANDIANI, L.; FASOLI, A. Effects of serum storage on the determination of cholesterol. **La Ricerca in Clinica e in Laboratorio**, v. 20, n. 1, p. 37-44, 1990.
- PUVADOLPIROD, S.; THAXTON, J. P. Model of physiological stress in chickens 1. Response parameters. **Poultry Science**, v. 79, n. 3, p. 363-369, 2000.
- RODRIGUES, D. R.; CAFÉ, M. B.; JARDIM FILHO, R. M.; OLIVEIRA, E.; TRENTIN, T. C.; MARTINS, D. B.; MINAFRA, C. S. Metabolism of broilers subjected to different lairage times at the abattoir and its relationship with broiler meat quality. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 3, p.7 33-741, 2017.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; BRITO, C. O. **Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa: Departamento de Zootecnia-UFV, 2017, 488p.
- SADEGHI, A. A.; MOHAMADI-SAEI, M.; AHMADVAND, H. The efficacy of dietary savory essential oil on reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 20, n. 4, p. 481-486, 2014.
- SAS Institute INC. **SAS University Edition: Installation Guide for Windows**. Cary: SAS Institute, 2014. 23p.
- SABATER, M.; FORBES, N. Avian haematology and biochemistry 2. **Biochemistry. In Practice**, v. 37, n. 3, p. 139-142, 2015.

- SCHUMANN, G.; BONORA, R.; CERIOTTI, F.; FÉRARD, G.; FERRERO, C. A.; FRANCK, P. F.; GELLA, F. J.; HOELZE, W.; JORGENSEN, P. J.; KANNO, T.; KESSNER, A.; KLAUKE, R.; KRISTIANSEN, N.; LESSINGER, J. M.; LINSINGER, T. P. J.; MISAKI, H.; PANTEGHINI, M.; PAUWELS, J.; SCHIELE, F.; SCHIMMEL, H. G.; WEIDEMANN, G.; SIEKMANN, L. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of aspartate-aminotransferase [L-aspartate: 2-oxoglutarate-aminotransferase (AST), EC 2.6.1.1]. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 40, n. 7, p. 725-733, 2002a.
- SCHUMANN, G.; BONORA, R.; CERIOTTI, F.; FÉRARD, G.; FERRERO, C. A.; FRANCK, P. F.; GELLA, F. J.; HOELZE, W.; JORGENSEN, P. J.; KANNO, T.; KESSNER, A.; KLAUKE, R.; KRISTIANSEN, N.; LESSINGER, J. M.; LINSINGER, T. P. J.; MISAKI, H.; PANTEGHINI, M.; PAUWELS, J.; SCHIELE, F.; SCHIMMEL, H. G.; WEIDEMANN, G.; SIEKMANN, L. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of alanine aminotransferase [L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase (ALT), EC 2.6.1.2]. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 40, n. 7, p. 718-724, 2002b.
- SCHUMANN, G.; BONORA, R.; CERIOTTI, F.; FÉRARD, G.; FERRERO, C. A.; FRANCK, P. F.; GELLA, F. J.; HOELZE, W.; JORGENSEN, P. J.; KANNO, T.; KESSNER, A.; KLAUKE, R.; KRISTIANSEN, N.; LESSINGER, J. M.; LINSINGER, T. P. J.; MISAKI, H.; PANTEGHINI, M.; PAUWELS, J.; SCHIELE, F.; SCHIMMEL, H. G.; WEIDEMANN, G.; SIEKMANN, L. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 6. Reference procedure for the measurement of catalytic activity concentration of  $\gamma$ -glutamyltransferase [( $\gamma$ -glutamyl)-peptide: amino acid  $\gamma$ -glutamyltransferase (GGT), EC 2.3.2.2]. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 40, n. 7, p. 734-738, 2002c.
- SILVA, B. R.; MAREZE, M.; FALBO, M. K.; SANDINI, I. E.; GROFF, P. M. Bioquímico plasmático de cães: efeitos dos diferentes anticoagulantes em comparação com o soro. **Colloquium Agrariae**, v. 11, n. 1, p. 33-41, 2015.
- SILVA, E. P.; TORRES, M. M.; CRUZ, T. P. P. S.; MENDONÇA, A. J. Influência da temperatura e do tempo de armazenamento sobre amostras de soro e plasma caninos na análise da enzima alanina aminotransferase (ALT). **Ciência Animal Brasileira**, v. 18, p. 1-5, 2017.
- SILVA, I. M.; BROCH, J.; WACHHOLZ, L.; SOUZA, C.; DALOLIO, F. S.; TEIXEIRA, L. V.; EYNG, C.; NUNES, R. V. Dry Residue of Cassava Associated With Carbohydrases in Diets for Broiler Chickens. **The Journal of Applied Poultry Research**. p. 1-13, 2019.
- SPINELLI, M. O.; CRUZ, R. J.; GODOY, C. M. D. S. C.; MOTTA, M. C. Efeito da temperatura e tempo no armazenamento de metabolitos no plasma de ratos Wistar

- recém desmamados. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 1, n. 4, p. 317-321, 2012.
- SWARNA, C. L.; RAO, S. V.; SRINIVAS, G.; REDDY, V. R. Effect of Unsaturated to Saturated Fatty Acids Ratio of Supplemental Fat in the Diet with or without L-Carnitine on Performance of Broiler Chicken. **Indian Journal of Animal Nutrition**, v. 35, n. 1, p. 90-96, 2018.
- SUBHANI, Z.; SHAHID, M.; HUSSAIN, F.; KHAN, J. A. Efficacy of *Chlorella pyrenoidosa* to Ameliorate the Hepatotoxic Effects of Aflatoxin B1 in Broiler Chickens. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 8, n. 1, p. 13-18, 2018.
- THORESEN, S. I.; TVERDAL, A.; HAVRE, G.; MORBERG, H. Effects of storage time and freezing temperature on clinical chemical parameters from canine serum and heparinized plasma. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 24, n. 4, p. 129-133, 1995.
- TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Annals of clinical Biochemistry**, v. 6, n. 1, p. 24-27, 1969.
- VEIGA, J. A.; ROSELINO, E. S.; MIGLIORINI, R. H. Fasting, adrenalectomy, and gluconeogenesis in the chicken and a carnivorous bird. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 234, n. 3, p. 115-121, 1978.
- WANG, Y.; GUO, Y.; NING, D.; PENG, Y.; CAI, H.; TAN, J.; YING, Y.; LIU, D. Changes of hepatic biochemical parameters and proteomics in broilers with cold-induced ascites. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 2-9, 2012.
- YANG, J. Y.; ZHANG, H. J.; WANG, J.; WU, S. G.; YUE, H. Y.; JIANG, X. R.; QI, G. H. Effects of dietary grape proanthocyanidins on the growth performance, jejunum morphology and plasma biochemical indices of broiler chicks. **Animal**, v. 11, n. 5, p. 762-770, 2017.
- YU, X.; LONG, Y. C. Crosstalk between cystine and glutathione is critical for the regulation of amino acid signaling pathways and ferroptosis. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-10, 2016.
- ZAKARIA, H. A.; JALAL, M.; AL-TITI, H.H.; SOUAD, A. Effect of Sources and Levels of Dietary Zinc on the Performance, Carcass Traits and Blood Parameters of Broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 19, n. 3, p. 519-526, 2017.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Amostras para a realização de análise de AST podem ser armazenadas por até 120 dias a -20° C.

Ao realizar uma coleta para a realização de análise dos parâmetros estudados no geral, recomenda-se utilizar o tempo de 6 horas de jejum, coletar de preferência soro e proceder a leitura das amostras logo após a coleta.

Recomenda-se aos pesquisadores na área de avicultura, detalhar a metodologia utilizada, em especial a fração da amostra, se foi soro e, caso seja plasma, especificar também o anticoagulante, detalhar o tempo de estocagem, a temperatura utilizada, tempo de jejum utilizado e sob qual intensidade luminosa as aves foram alojadas.

Indica-se a realização de estudos com outros anticoagulantes.