

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOBRE A RECUPERAÇÃO DA CREATININA NA URINA DE BOVINOS[‡]

Samira Silveira MOREIRA¹, Jarbas Miguel da SILVA JÚNIOR*¹, Luciana Navajas RENNÓ¹, Sebastião de Campos VALADARES FILHO¹, Edenio DETMANN¹
Mario Sergio PEREIRA¹

[‡]parte da tese de Doutorado do segundo autor

*autor para correspondência: miguelreges@gmail.com

¹Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

Abstract: Aimed evaluate the recovery of creatinine in bovine urine under the effect of time and storage temperature. Experiment was carried out at Animal Science Department of the UFV. Urine samples were diluted, fractionated, stored at 24,3°C, cooled (4°C) and frozen (-20°C and -40°C), analyzed on different days after collection (1, 3, 7, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150). After collection, dilution, pH correction to values below three, the urine was analyzed giving rise to the creatinine reference value. This value was used as a divisor of the creatinine values obtained on the days of the analysis, obtaining the relative creatinine, which allows the observation of the increase or decrease of the creatinine concentration. The creatinine recovery was constant ($P>0.05$) until fifteenth day of storage, regardless of the temperature used. From the 30th day of storage there was a time and/or temperature effect ($P<0.05$). Samples stored at 24,3°C and at 4°C had an increase in the relative creatinine concentration over the days ($P<0.05$). Frozen samples maintained the constant recovery ($P>0.05$). Urine may be stored at any temperature up to 15 days after collection to determine creatinine concentration. Samples requiring storage times greater than 15 days should be frozen.

Palavras-chave: creatina, indicador, volume urinário

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

A creatinina é uma molécula formada no músculo pela remoção irreversível e não enzimática de água do fosfato de creatina, que é originada do metabolismo de aminoácidos (Wyss e Kaddurah-Dahouk, 2000). A creatinina pode ser encontrada no sangue e na urina, e estando presente no sangue não é mais utilizada pelo organismo animal, sendo excretada pelos rins através da urina.

Como a excreção de creatinina na urina é relativamente constante em função do peso corporal (Chizzotti et al., 2008), pode ser usada como um indicador da produção urinária diária (Silva Júnior, 2014).

Van Niekerk et al. (1963) avaliaram a recuperação da creatinina na urina de ovinos e observaram que há degradação da creatinina em seu pH normal (entre 8,4 a 8,7) quando armazenada à temperatura entre 27 a 30°C. No entanto, encontraram aumento na concentração urinária de creatinina quando esta é armazenada acidificada (pH 2,5 a 3,5) em temperatura de 28 e 39°C por um período de cento e cinquenta dias.

Entretanto, mesmo havendo grande importância do conhecimento da concentração de creatinina nas amostras de urina, não há dados na literatura informando a melhor forma de armazenamento das amostras. Assim, objetivou-se avaliar a recuperação da creatinina na urina de bovinos armazenadas em função do tempo e de diferentes temperaturas de armazenamento.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da UFV. Com todos os procedimentos aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da UFV (CEUAP-UFV 24/2016).

Utilizou-se amostras de urina de 20 animais. Com amostragem realizada através da coleta *spot* de urina, 40 mL de urina, por animal, foram diluídos em 160

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

mL de água e tiveram seu pH ajustado para valores abaixo de três, seguindo recomendações de Chen e Gomes (1992).

Após a amostragem, diluição, correção do pH e homogeneização, uma alíquota foi analisada, para determinar a concentração da creatinina no ato da coleta (valor de referência). Fracionou-se a amostra, onde as demais alíquotas foram armazenadas em *eppendorfs* de 2 mL, acondicionados em caixas porta-*eppendorf*. As caixas de amostras de urina foram conservadas em temperatura ambiente, sob refrigeração a 4°C, congeladas a -20°C e a -40°C. A temperatura ambiente foi verificada e anotada todos os dias, às 16h.

As alíquotas de urina foram analisadas com um, três, sete, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 e 150 dias de armazenamento após a coleta. A quantificação da creatinina foi realizada por meio do método cinético colorimétrico usando kit da Bioclin® (K067), em equipamento automático para bioquímica, marca Mindray, modelo: BS200E.

O valor da concentração de creatinina (mg dL^{-1}) no dia da análise foi dividido pelo valor referência, obtendo-se assim o valor de creatinina relativa, possibilitando a observação do aumento ou diminuição na concentração da creatinina na amostra.

Os procedimentos estatísticos foram realizados por intermédio do programa SAS 9.4, utilizando-se os procedimentos MIXED, adotando alfa de 5%.

Resultados e Discussão

A temperatura ambiente observada na sala de armazenamento das amostras de urina foi de $24,3 \pm 2,8^\circ\text{C}$. Do primeiro ao 15º dia, não houve diferença ($P > 0,05$) na concentração de creatinina relativa nas amostras (Tabela 1), não havendo assim aumento ou diminuição na sua concentração, o que possibilita inferir que a amostra de urina diluída e com pH ajustado para valores abaixo de três podem ser armazenadas em qualquer uma das temperaturas que foram testadas.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Tabela 1 - Médias, nível de significância (valores P) e erro padrão da média (EPM) obtidos para creatinina relativa em função de tempo (dias) e temperatura de armazenamento em amostras de urina de bovinos

Dias	Temperatura de Conservação				Valor P ^a
	24,3°C	4°C	-20°C	-40°C	
1	1,037	1,015	0,975	1,001	0,376
3	1,039	1,015	1,045	1,012	0,759
7	1,054	1,013	0,998	1,003	0,441
10	1,067	1,027	1,017	1,028	0,527
15	1,092	1,009	1,011	1,021	0,067
30	1,168	0,995	0,980	0,958	<0,001
45	1,248	1,065	1,022	1,014	<0,001
60	1,250	1,074	1,023	1,015	<0,001
90	1,304	1,109	1,043	0,997	<0,001
120	1,369	1,117	1,050	1,044	<0,001
150	1,329	1,070	1,041	1,037	<0,001
Valor P ^b	<0,001	0,002	0,409	0,560	EPM=0,0449 ^c

^aEfeito de tratamento dentro de dia; ^bEfeito de tratamento ao longo do tempo (dias); ^cPara n=20.

A partir do 30º até o 150º dia de armazenamento houve efeito ($P < 0,05$) de tempo e/ou temperatura de armazenamento sobre a concentração de creatinina. A urina armazenada em temperatura ambiente e a 4°C sofreu influência ($P < 0,05$) do tempo de armazenamento, ocorrendo aumento na concentração da creatinina relativa. Esse aumento nas concentrações de creatinina relativa na urina de bovinos é devido possivelmente à presença de creatina na urina que é convertida em creatinina, sendo favorecida essa reação, *in vitro*, em elevadas temperaturas (acima de 28°C) e meio ácido (pH de 2,5 a 3,5) (Lempert, 1959, Van Niekerk et al., 1963).

Não foi observada degradação da creatinina ($P > 0,05$) nas amostras de urina, demonstrando que a diluição e correção do pH para valores abaixo de três inibem a degradação de sua molécula. Wyss e Kaddurah-Daouk (2000) relatam que enzimas específicas provenientes de microrganismos que podem se desenvolver na urina degradam a creatinina a ácido acético e metilguanidina.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

As amostras de urina de bovinos quando armazenadas a temperaturas que promoveram o congelamento da urina (-20°C e -40°C) não sofreram influência ($P>0,05$) de tempo e tão pouco de temperatura, demonstrando serem as melhores formas de armazenamento da urina por tempos maiores que 15 dias de conservação.

Conclusão

Amostras de urina de bovinos podem ser armazenadas em qualquer temperatura até quinze dias após a coleta para determinação da concentração de creatinina. Amostras que necessitem tempos de armazenamentos superiores a quinze dias devem ser congeladas a -20°C ou -40°C.

Agradecimentos (Opcional)

Os autores gostariam de agradecer a CAPES, CNPq, INCT-Ciência Animal e FAPEMIG pelo financiamento parcial deste projeto de pesquisa.

Referências

- Chen, X. B. and Gomes M.J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. Buscksburnd: Rowett Research Institute. International Feed Resources Unit. (Occasional publication).
- Chizzotti, M. L., Valadares Filho, S. C., Valadares, R. F. D. et al. 2008. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Livestock Science*, 113:218-225.
- Lempert, C. 1959. The chemistry of the glycoyamidines. *Chemical Reviews* 59:667-736.
- Silva Júnior, J. M. 2014. Excreção urinária de derivados de purinas e de compostos nitrogenados de zebuínos em pastejo. Dissertação (M.Sc.). Universidade Federal
- Van Niekerk, B. D. H.; Bensadoun, A.; Paladines, O. L.; Reid, J. T. 1963. A study of the conditions affecting the rate of excretion and stability of creatinine in sheep urine. *Journal of Nutrition*. 79:373-380.
- Wyss, M. and Kaddurah-Daouk, R. 2000. Creatine and creatinine metabolism. *Physiological Reviews* 80:1107-1213.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:

