

# LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA



*Professora Msc.  
Melissa Kayser*

- **Ramo do laboratório clínico no qual os métodos químicos e bioquímicos são aplicados para pesquisa de uma doença.**
- **Compreendem mais de 1/3 de todas as investigações laboratoriais de um hospital.**
- **Analitos testados:**
  - **sangue;**
  - **urina;**
  - **aspirado do suco gástrico;**
  - **Líquor.**

# PROCEDIMENTOS

- **PRÉ-ANALÍTICOS:**
  - POP da coleta;
  - Orientações ao paciente;
  - Obtenção da amostra;
  - Tipos de amostra;
  - Processamento da amostra;
  - Armazenamento da amostra;
  - Transporte da amostra.

- **ANALÍTICOS:**

- Equipamentos;
- Metodologia.

- **PÓS-ANALÍTICOS:**

- Cálculos corretos;
- Linearidade do método;
- Valores dos controles;
- Resultados x quadro clínico paciente;
- Liberação do resultado.

## TIPOS DE AMOSTRAS

### PUNÇÃO VENOSA

#### ● SORO:

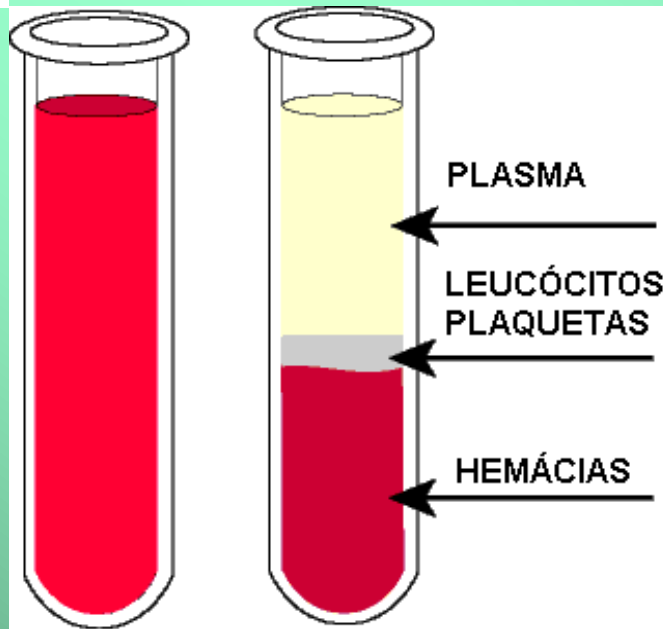
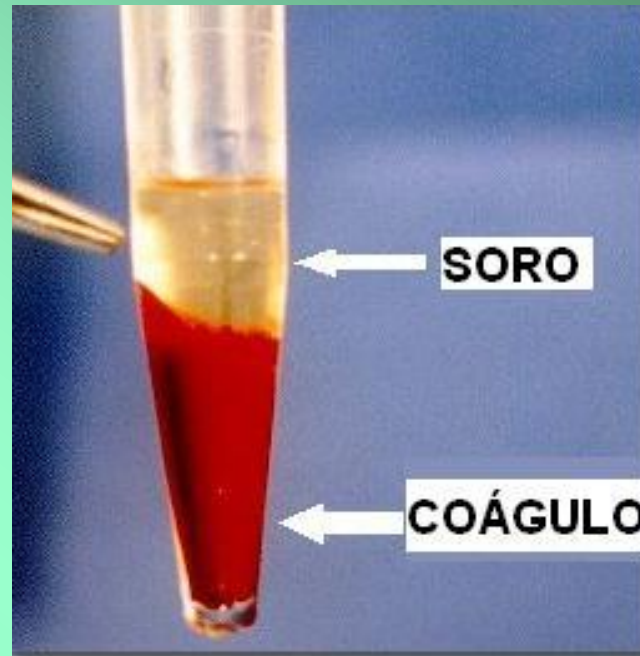
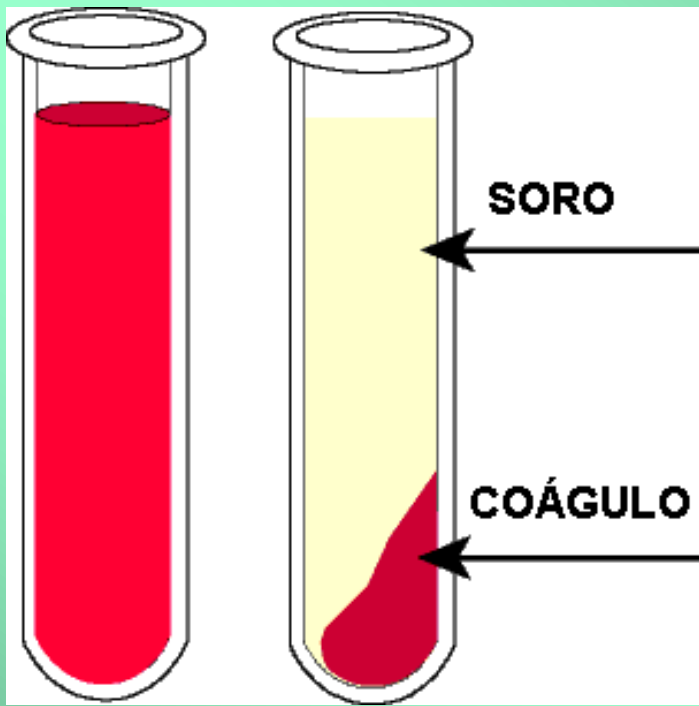
- Parte líquida do sangue;
- Coletar sem anticoagulante;
- Centrifugar após a coagulação.

#### ● PLASMA:

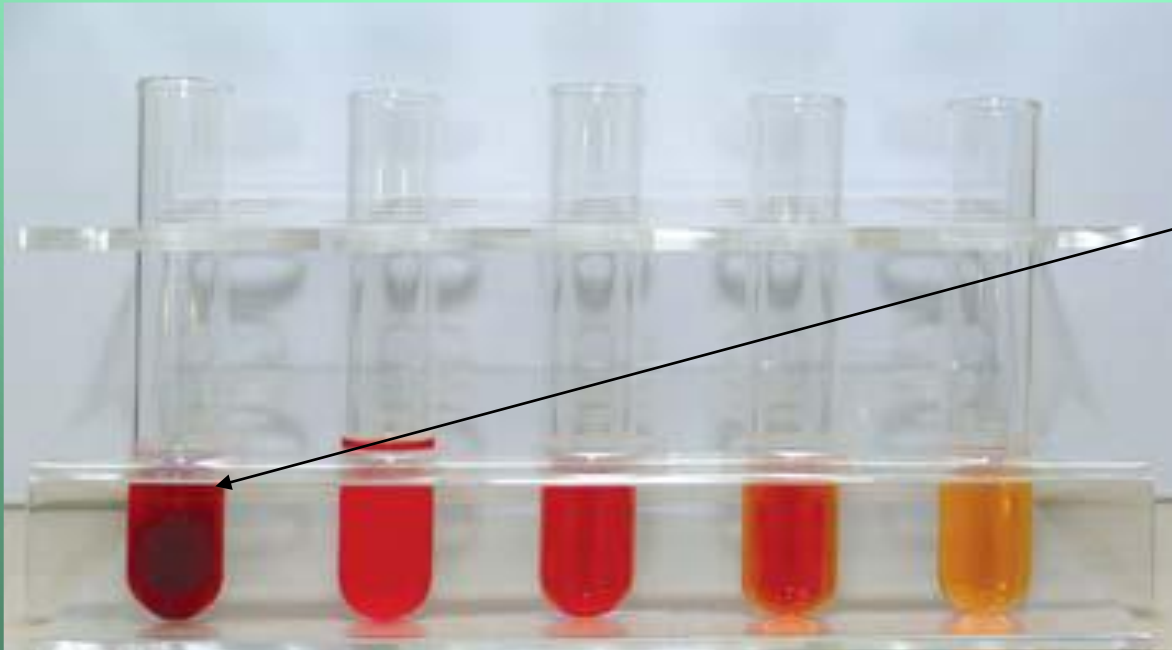
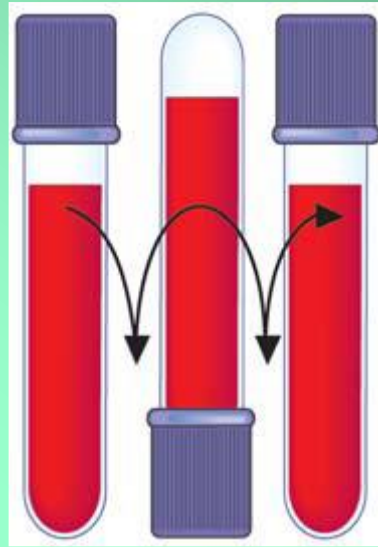
- Parte líquida do sangue;
- Coletar com anticoagulante (usar uma gota de EDTA 6g/dL para 3 mL de sangue).
- Obtido após centrifugação.
- Para dosar glicose coletar com anticoagulante inibidor de glicólise (usar uma gota de fluoreto de potássio - KF 12g/dL - para 3 mL de sangue).

#### ● SANGUE TOTAL:

- Hemoglobina glicada e hemograma (usar um gota de EDTA 10g/dL - ácido etilenodiaminotretacético - para 5 mL de sangue).







**Hemólise**



## ARMAZENAMENTO, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE

- Possibilitar a manutenção da integridade dos elementos;
- Contribuir para estabilidade das substâncias químicas;
- Tempo máximo 1 hora até o laboratório;
- Refrigeração 2-8°C;
- Atividade enzimática na amostra é estável por 4 dias entre 2 a 8°C;
- Turbulência excessiva leva a hemólise;
- Evitar evaporação de amostras.



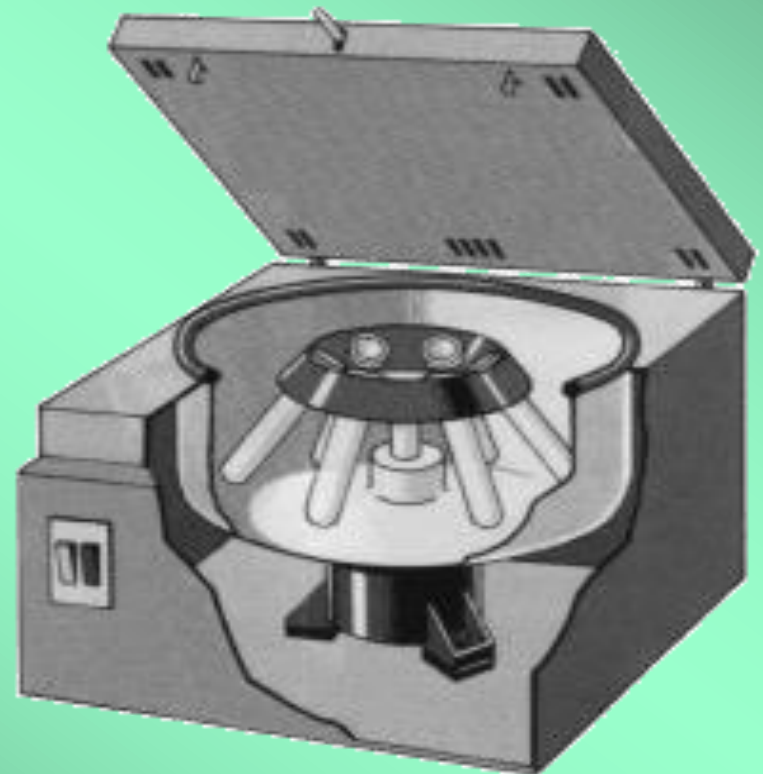
# PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

## EQUIPAMENTOS:

- Centrífuga;
- Espectrofotômetro;
- Densitômetro para eletroforese;
- Deionizador;
- Banho-maria;
- Estufa para secagem.

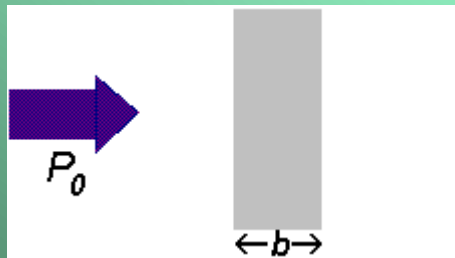
## ● CENTRIFUGAÇÃO:

- Após repouso de 20-30 minutos para coagulação;
- Centrifugação suave;
- Tempo determinado para o analito (3500rpm/10min);
- Retirar o coágulo rapidamente.

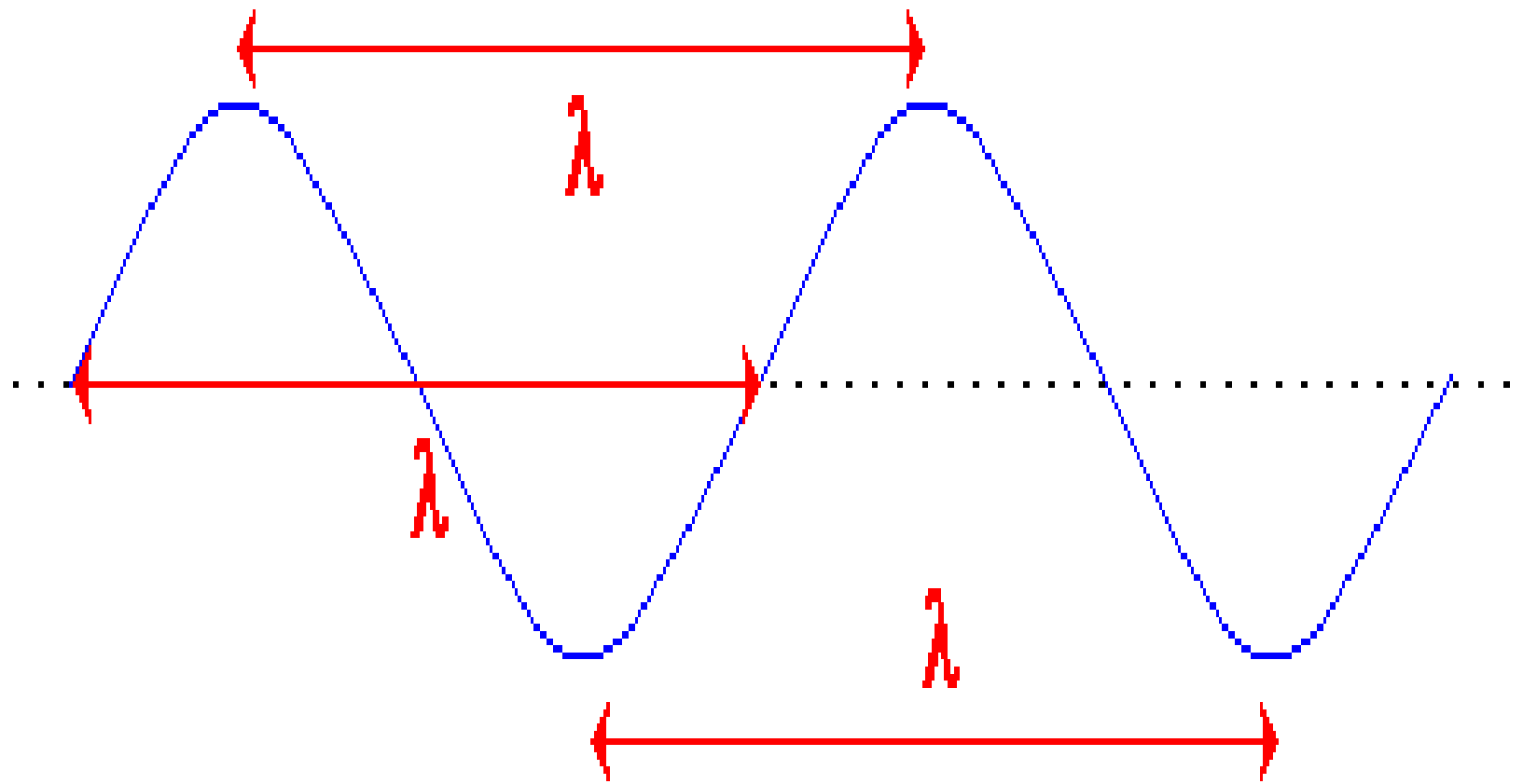


# ● ESPECTROFOTÔMETRO

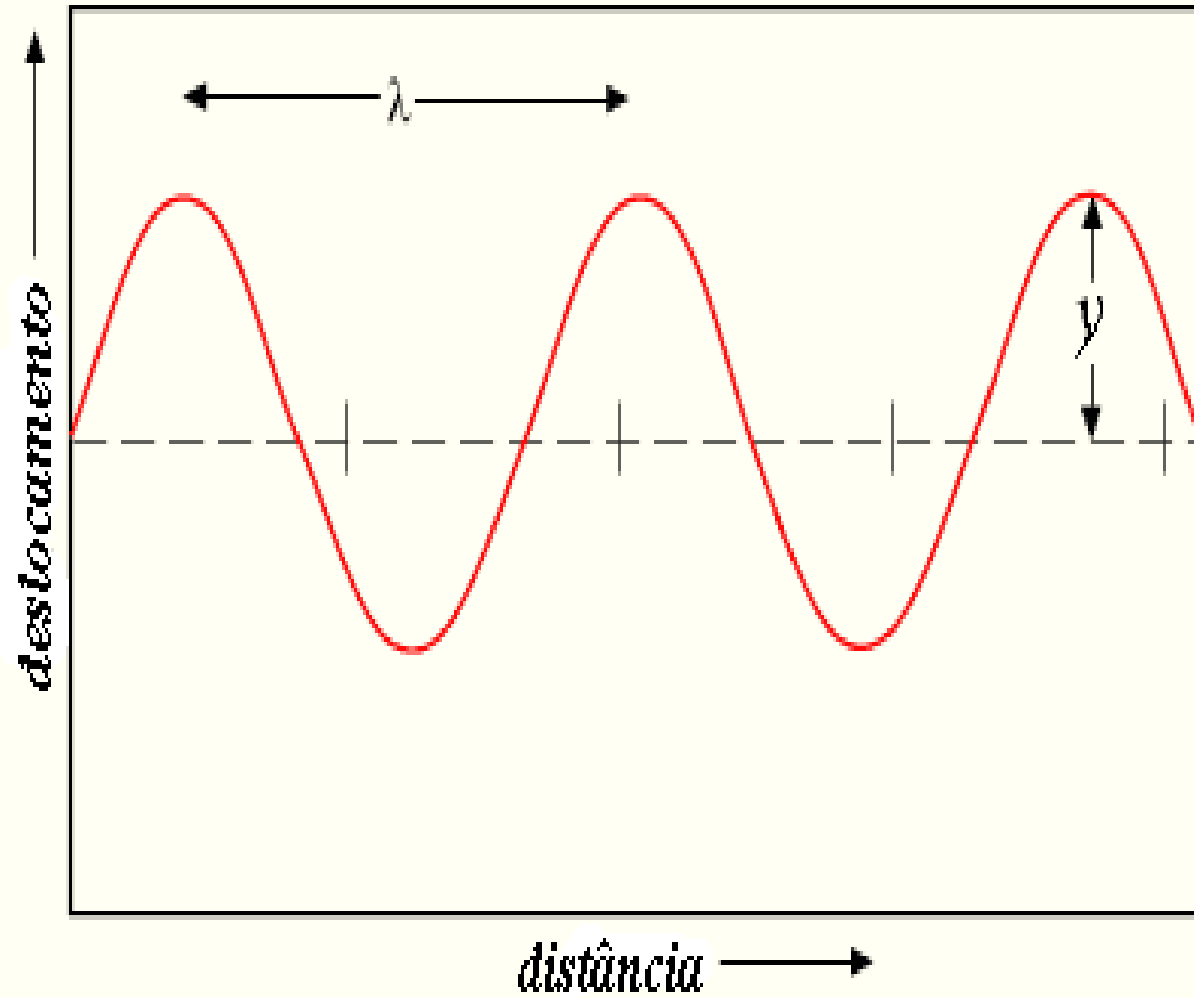
- A espectrofotometria baseia-se na absorção da radiação nos comprimentos de onda entre o ultravioleta e o infravermelho;
- Quando luz passa através de uma amostra ou quando ela é refletida de uma amostra, a quantidade de luz absorvida é a diferença entre a radiação incidente ( $I^0$ ) e a radiação transmitida ( $I$ ). A quantidade de luz absorvida é expressa tanto como transmitância ou absorbância.



# As 3 maneiras de se medir o comprimento de onda = LAMBDA



## Onda



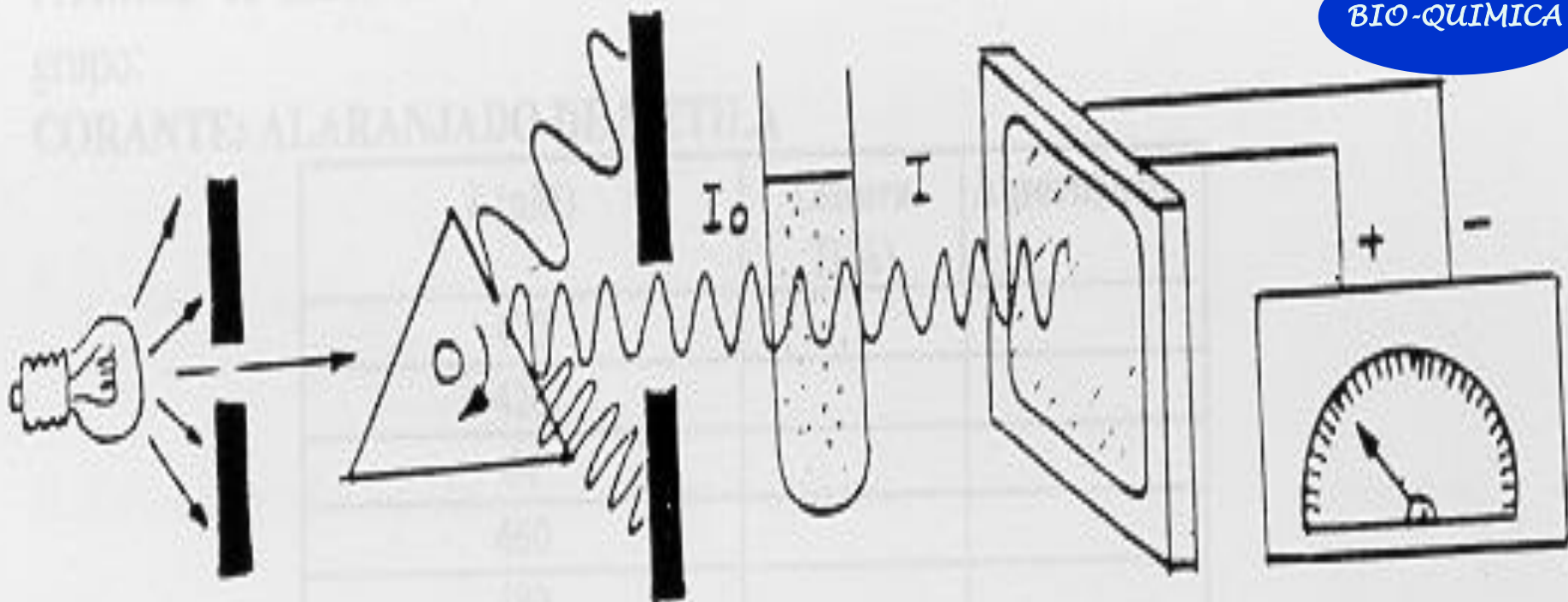
$\lambda$  = comprimento de onda

$y$  = amplitude

# COMPONENTES BÁSICOS DA FOTOMETRIA

- Fonte de energia elétrica
- Fonte de energia radiante
  - Lâmpada de Tungstênio – UV próximo e visível
  - Lâmpada de Hidrogênio – região do UV
- Monocromador
- Porta Cubetas
  - Quadradas
  - Redondas
- Detectores:  $E^\circ$  radiante transmitida em  $E^\circ$  elétrica
- Circuito medidor:  $E^\circ$  elétrica emitida e medido em A e/ou T





Fonte de luz  
branca

Monocromador:  
a. filtro (colorimetro)  
b. prisma ou grade de difração (espectrofotômetro)

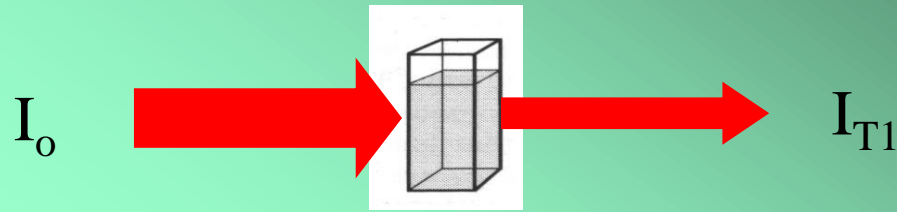
cubeta com amostra

célula foto-elétrica  
ou fototubo

galvanômetro

Isolar a faixa de comprimento de onda requerida

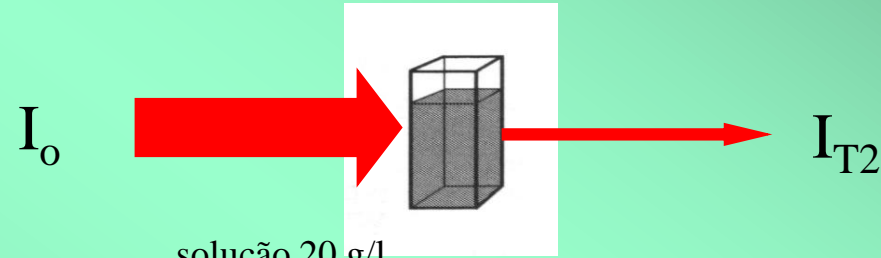
feixe de luz de intensidade  $I_0$



solução 10 g/l

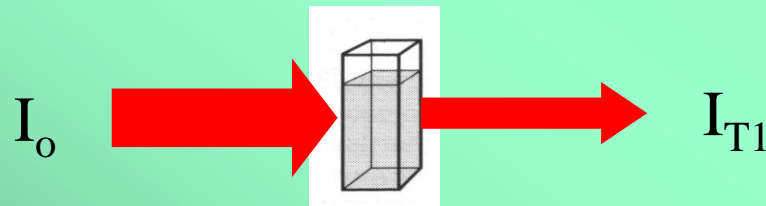
A absorção da luz é tanto maior quanto mais concentrada for a solução por ela atravessada

(LEI DE BEER)



solução 20 g/l

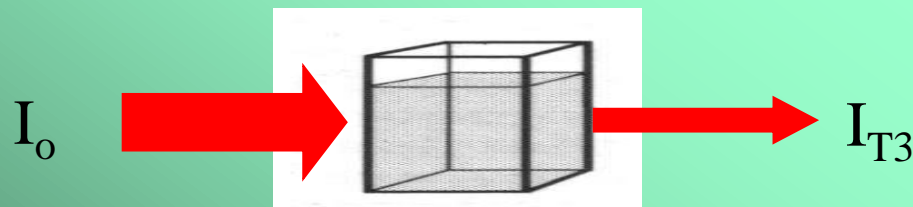
feixe de luz de intensidade  $I_0$



1 cm

A absorção da luz é tanto maior quanto maior for a distância percorrida pelo feixe luminoso através das amostras

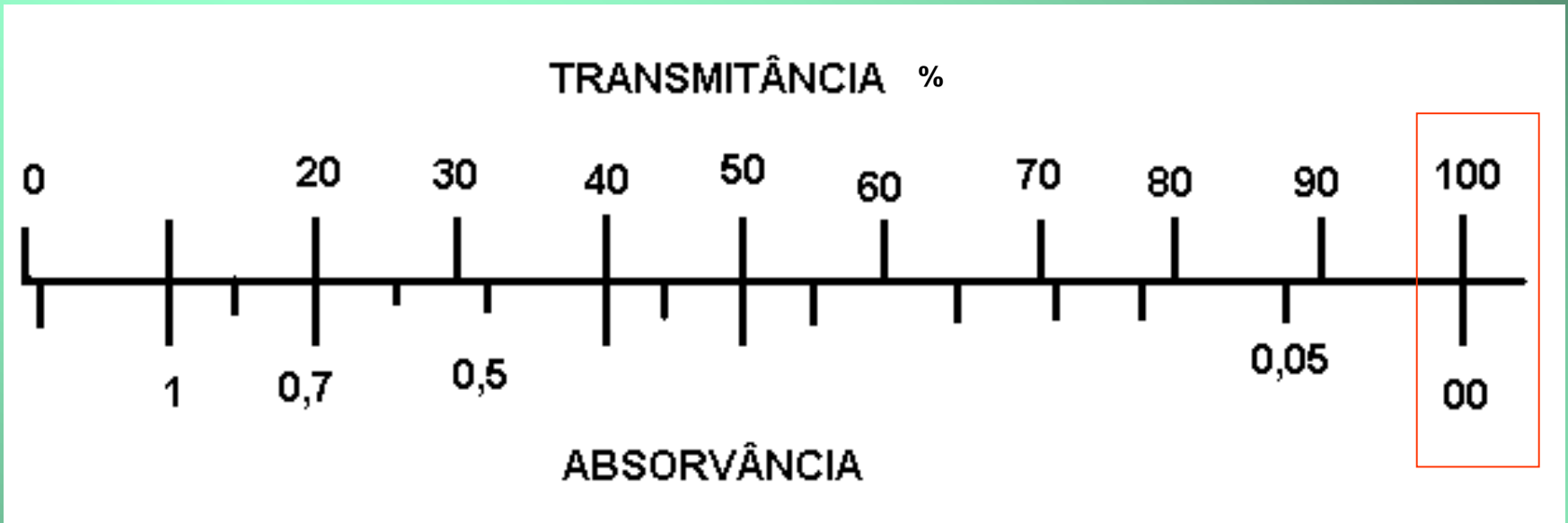
(LEI DE LAMBERT)



3 cm

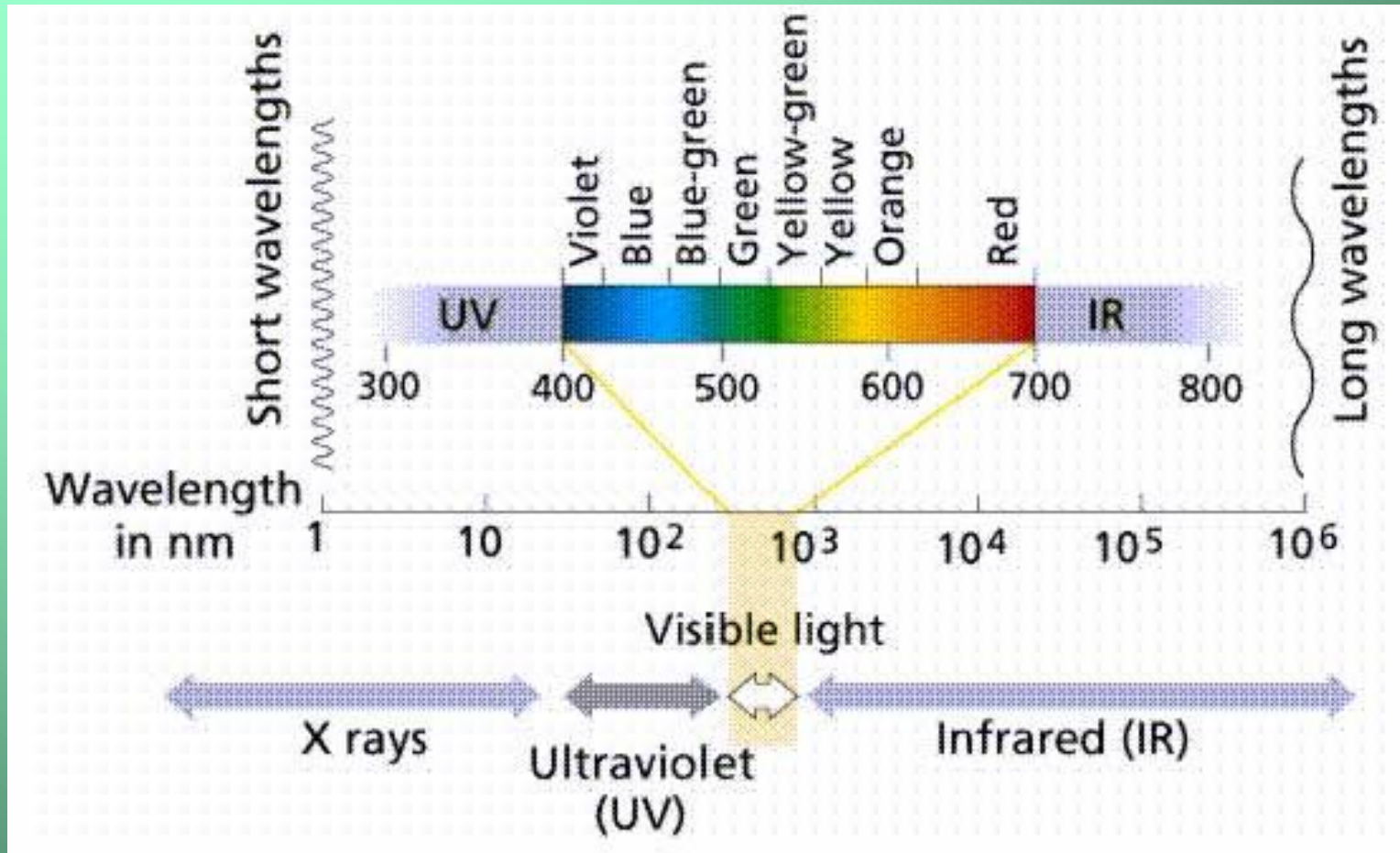
- ☺ Logo: Quando a  $E^\circ$  radiante atravessa uma solução, a quantidade de  $E^\circ$  transmitida  $\downarrow$  com:
- $\uparrow$  espessura atravessada (LEI DE LAMBERT);
  - $\uparrow$  da concentração ou intensidade da cor da solução (LEI DE BEER);

*“LEI DE LAMBERT-BEER”*



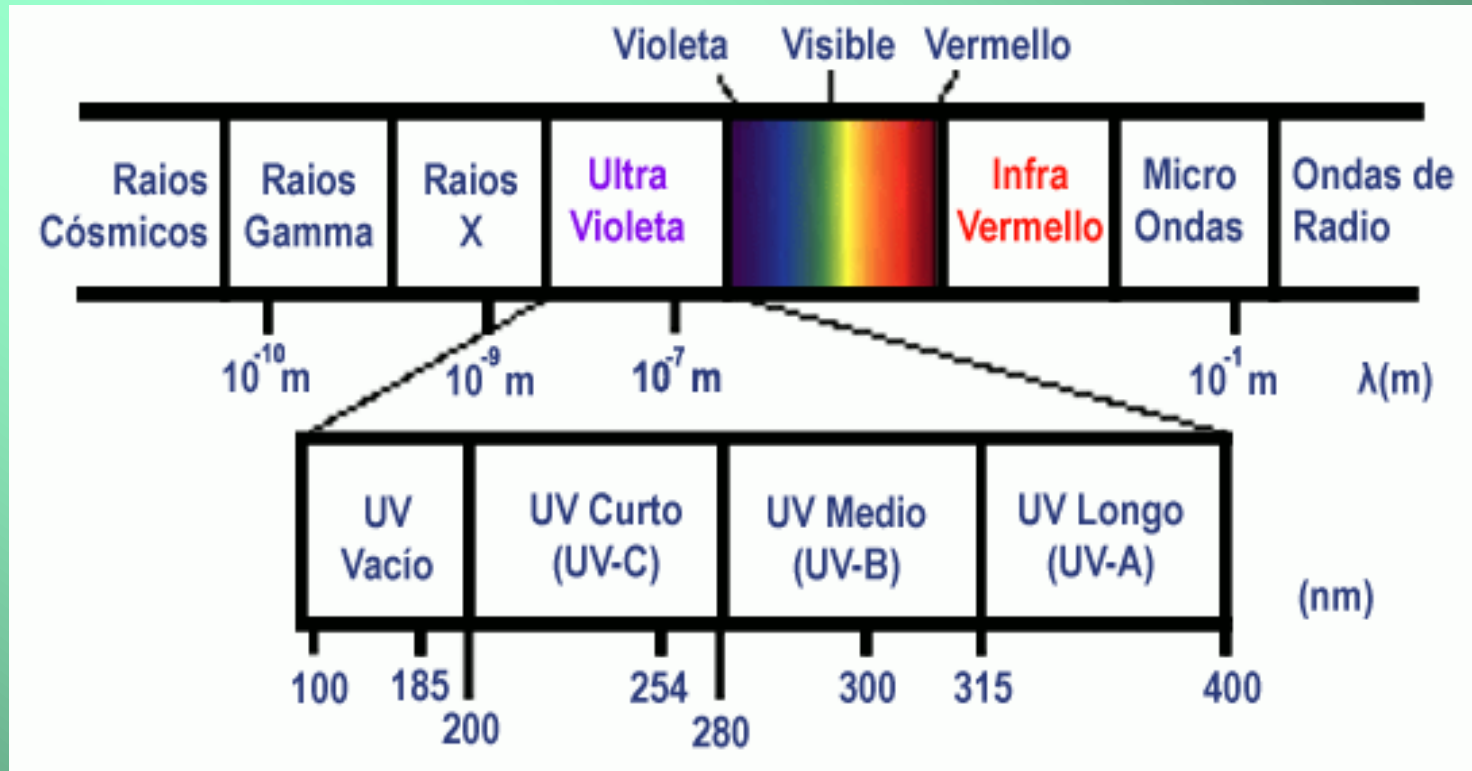
*Se a luz passa em uma solução onde não há absorção nenhuma, a absorbância será zero e a transmitância será 100.*

# ESPECTRO VISÍVEL



Na faixa de leitura entre 400 – 700 nm

# ESPECTRO UV



O espectro UV esta dividido em 3 partes:  
 UVC (< 280nm), UVB (280–315nm), UVA (315–400nm).



- **UVA – Luz Negra – 315:400 nm**
  - **Bronzeado;**
  - **Formação da catarata;**
  
- **UVB – Região do eritema – 280:315nm**
  - **Região potencialmente carcinogênica;**
  - **Protetores solares;**
  
- **UVC – Bactericida e Germicida - < 280 nm**
  - **Protegidos pela camada de ozônio;**
  - **Lâmpadas de vidro bloqueiam completamente esses raios.**

Eritema: Coloração avermelhada da pele ocasionada por vasodilatação capilar.



- OU SEJA:

“Uma solução AZUL absorve o VERMELHO com maior intensidade e portanto deve-se escolher a porção vermelha para medida da solução azul”

- OBJETIVO:

“Utilizar uma faixa no espectro na qual a  $E^\circ$  radiante seja absorvida ao máximo ou aproximadamente”

## ● BANHO MARIA

**Aquecimento lento e uniforme sem exceder  $100^{\circ}\text{C}$ ;**

**Acima de  $100^{\circ}\text{C}$ , o calor transferido à água é transformado em energia cinética, formando vapor.**



## Problemas analíticos:

- **Calibração equipamento;**
- **Limpeza do instrumento;**
- **Qualidade dos reagentes;**
- **Controle de qualidade do equipamento;**
- **Manutenção de peças do equipamento.**

# LIMPEZA MATERIAL LABORATÓRIO

A vidraria e as ponteiros logo após o uso devem ser imersas em solução de hipoclorito de sódio a 1% (24 horas).

## ● VIDRARIA

- Deve ser imersa, logo após o hipoclorito, em uma solução de detergente neutro a 1,0%, por mínimo 1 hora;
- Enxaguados exaustivamente com água de torneira e lavados no mínimo 2 x com água destilada ou deionizada;
- Secar em estufa a 80°C.



## ● PONTEIRAS:

- Colocadas após o hipoclorito , submersas em frasco de boca larga contendo solução de detergente neutro a 1,0% ou de NaOH a 1%;
- Agitar vigorosamente por cerca de 30 minutos e enxaguar exaustivamente com água de torneira e com água destilada;
- Secar em estufa a 37°C.

## ● CUBETAS:

- Lavadas após o uso com água deionizada.

# PROCEDIMENTOS PÓS - ANALÍTICOS

1. Cálculos corretos.
2. O resultado está dentro da **linearidade** do método?
3. Valores dos **controles** estão dentro dos limites estabelecidos?
4. Valores de referência?
5. Comparar os **resultados** com o **quadro clínico do paciente**, para confirmação de resultados fora da **faixa de referência**.
6. Liberação do resultado para o clínico que requisitou o exame.

**Classificação das**  
**CAUSAS DE ERROS**  
**nas dosagens bioquímicas**



## ERROS INADMISSÍVEIS

- **ENGANOS:**

- Troca de rótulo;
- Troca de amostras durante o processamento;
- Troca de amostras ou reagentes durante a pipetagem;
- Leitura incorreta de instrumentos;
- Cálculos errados;
- Erro na transcrição de resultados.



## ERROS OCASIONAIS

### ● ACIDENTAIS:

- Presença de substâncias interferentes na amostra;
- Tubos ou pipetas contaminadas;
- Diferentes técnicos.



## ERROS SISTEMÁTICOS

### ● REPETITIVOS:

- Técnicas de baixa precisão e exatidão;
- Reagentes deteriorados ou de má qualidade;
- Perda de precisão da vidraria e equipamentos;
- Curva ou fator de calibração errados.



# Conceitos importantes em Análises Clínicas

- **Diagnóstico Laboratorial:** é o resultado de uma análise ou conjunto de análises que fornece subsídios ao clínico para o estabelecimento de um quadro patológico ou esclarecimento de determinadas suspeitas clínicas de um paciente. Deve sempre estar associado ao diagnóstico clínico, servindo como **auxílio**, **complemento** ou **confirmação**.
- **Controle de qualidade:** conjunto de normas e procedimentos que visam garantir a confiabilidade dos resultados das análises.
- **Calibração:** é o ato de aferir um aparelho ou instrumento para que o mesmo funcione com precisão e exatidão.

# Conceitos importantes em Análises Clínicas

- **Exatidão:** refere-se à proximidade de um resultado analítico com o valor real.
- **Precisão:** refere-se à reprodutividade de resultados, ou a proximidade dos valores obtidos entre si. Um método pode ser preciso e não ser exato.

# Conceitos importantes em Análises Clínicas

- **Especificidade:** capacidade de um método de avaliar exclusivamente uma única substância.
- **Sensibilidade:** capacidade de um método avaliar quantidades reduzidas de uma substância.
- **Valores de referências:** é o conjunto de valores de um determinado parâmetro avaliado que reflete o intervalo observado em determinada população considerada saudável.

# Conceitos, outra visão

## Sensibilidade:

Uréia e creatinina são testes de pouca sensibilidade, porque só é detectada quando 50% da função renal está comprometida.

## Especificidade:

Creatinina não é específico para função renal. Geralmente se analisa mais de um analito.

## Linearidade:

Valor limite que pode expressar a quantidade de analito.

# Exercícios

- 1 – Cite e comente os cuidados que devem ser tomados nos procedimentos que antecedem a análise do sangue?
- 2 – Por que as vidrarias devem ser lavadas com sabão neutro e água deionizada? Que problemas teremos se não forem lavadas corretamente?
- 3 – Você centrifugou um sangue e observou que o soro está hemolisado. Qual etapa do procedimento poderá ter ocasionado o rompimento dos glóbulos vermelhos? Explique?



MUITO OBRIGADA PELA ATENÇÃO!!!