Estratégia Concursos

Aula 00

Conhecimentos Específicos p/ Prefeitura de Nanuque-MG (Bioquímico Farmacêutico) - Pós-Edital

Autor:
Ana Cristina dos Santos Lopes, Rafaela Gomes

04 de Setembro de 2020

Sumário

Escolha, coleta, e conservação de amostra para diagnóstico. Equipamentos: princípios e fundamentos.....6

1 - Considerações Iniciais 6

2 - Amostras diagnósticas.....7

2.1 – Anticoagulantes.....9

2.2 – Coleta venosa 17

2.3 – Hemocultura.....32

2.4 – Punção capilar 34

2.5 – Coleta arterial para gasometria 38

3 - Equipamentos de laboratório.....40

3.1 – Exemplos de equipamentos 40

4 - Métodos Laboratoriais Aplicados ao Diagnóstico 62

4.1 - Fotometria 64

4.1.1 - Colorimetria.....67

4.1.2 - Espectrofotometria 67

4.1.3 - Quimioluminescência 69

4.1.4 - Nefelometria 69

4.1.5 - Turbidimetria.....70

4.1.6 - Fotometria de chama 70

4.1.7 - Fluorimetria 70

4.2 - Citometria de fluxo.....71

4.3 - Eletroforese.....73

4.4 - Cromatografia.....73

4.5 - Eletrodo Íon Seletivo 73

4.6 - Volumetria 74

4.7 - Gravimetria 75

4.8 - Tipos de reações empregadas no laboratório clínico 76

5 – Considerações Finais 82

Questões Comentadas 83

Referências 111

Gabarito 113

APRESENTAÇÃO DO CURSO

Olá, amigos do Estratégia Concursos, sejam bem-vindos ao nosso **Curso de Conhecimentos Específicos p/ Prefeitura de Nanuque-MG (Bioquímico Farmacêutico) - Pós-Edital**.

Primeiramente, gostaria de esclarecer que os conteúdos abordados em nossas aulas são muito extensos e englobam vários subtemas. Contudo, neste curso iremos manter o foco no que realmente importa no momento: temas cobrados em provas de concurso. Afinal, o nosso objetivo é a sua aprovação!

Este curso será composto por aulas em PDF, videoaulas e fórum de dúvidas. Mas deixo claro desde já que a principal ferramenta de estudo deve ser o PDF, por ser o mais completo. As videoaulas devem ser utilizadas como material de apoio, em temas que eventualmente vocês possam ter mais dificuldades. Além disso, sempre que houver uma dúvida vocês podem entrar em contato comigo pelo fórum de dúvidas.

APRESENTAÇÃO PESSOAL

Meu nome é Ana Cristina Lopes, sou biomédica (FUMEC, 2014), Mestra em Genética (UFMG, 2017), Especialista em Análises Clínicas (UNYLEYA, 2019) e Doutoranda em Análises Clínicas e Toxicológicas (UFMG).

Para a elaboração deste curso contarei com a parceria da professora Rafaela Gomes, graduada em Farmácia Industrial (UFF, 2012), mestra e doutora em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde (UFF, 2014, 2020).

Juntas, acompanharemos vocês nesta jornada em busca da aprovação no concurso para Bioquímico-Farmacêutico da Prefeitura de Nanuque. Deixarei abaixo nossos contatos para quaisquer dúvidas ou sugestões. Será um prazer acompanhá-los nesta caminhada que se inicia.

Instagram:
https://www.instagram.com/prof.anacristinalopes/
https://www.instagram.com/profrafaelagomes/



CRONOGRAMA DE AULAS

Vejamos a distribuição das aulas do nosso curso de Conhecimentos Específicos p/ Prefeitura de Nanuque-MG (Bioquímico Farmacêutico) - Pós-Edital:

AULAS	TÓPICOS ABORDADOS	DATA
Aula 00	Métodos de coleta; Técnica empregada; Obtenção e conservação de amostras para uso em diagnóstico laboratorial; Métodos Laboratoriais.	04.09
Aula 01	Bioquímica I: Diagnóstico clínico e laboratorial; Química do sangue; Determinações bioquímicas pelos diferentes métodos (principalmente metodologia e interpretação clínica dos resultados); Fatores interferentes nas análises bioquímicas; Testes de tolerância à glicose; Provas de função renal; Dosagens bioquímicas usuais.	11.09
Aula 02	Bioquímica II: Provas de função hepática; Provas Funcionais.	18.09
Aula 03	Hematologia I: Glóbulos brancos; Glóbulos vermelhos; Hemoglobina; Plaquetas; Técnicas de coloração e preparo de lâminas para ensaios microscópicos.	25.09
Aula 04	Hematologia II: Anemias, Coagulopatias, Discrasias Plasmocitárias, Doenças Mieloproliferativas, Leucemias, Leucopenias, Trombocitopenias, Trombofilias; Realização e interpretação do hemograma; Interpretação dos exames.	02.10
Aula 05	Imunologia I: Sistema imunológico, Imunidade inata e adaptativa, processos de resposta imunológica antígeno/anticorpo; Imuno-hematologia: Grupos sanguíneos, fator RH, Doença Hemolítica Perinatal – DHPN; Imunoensaios: realização e interpretação clínica dos testes imunológicos (principalmente ensaios imunoenzimáticos); Imunofluorescência.	09.10
Aula 06	Imunologia II: Doenças autoimunes; Provas Diagnósticas em Alergia e Imunologia; Infectologia; Exames laboratoriais nas principais doenças sexualmente transmissíveis; Provas sorológicas.	16.10
Aula 07	Microbiologia Clínica I: Técnicas de coloração e preparo de lâminas para ensaios microscópicos; Meios de cultura; Provas de identificação bacteriológica; Antibiograma; Elementos de Técnica Bacteriológica; Bacteriologia; Exame do Escarro.	23.10
Aula 08	Microbiologia Clínica II: Micologia, Elementos de Técnica Micológica; Coprocultura; Hemocultura; Urocultura.	30.10
Aula 09	Urinálise: Nefrologia; Urologia; Exame de Urina; Exame do Esperma.	06.11
Aula 10	Parasitologia: Exame de Fezes; Exame Macroscópico; Exame Microscópico.	13.11
Aula 11	Genética e Biologia Molecular: Exclusão de Paternidade.	20.11
Aula 12	Controle de qualidade em análises clínicas; Biossegurança.	27.11
Aula 13	Leis e resoluções que regem o exercício da profissão - Parte I. (Profa. Rafaela)	04.12

Aula 14	Leis e resoluções que regem o exercício da profissão - Parte II. (Profa. Rafaela)	11.12

Essa é a distribuição dos assuntos ao longo do curso. Caso haja alguma alteração no cronograma acima vocês serão previamente informados, com a devida justificativa.

Contem conosco nesta jornada!

ESCOLHA, COLETA, E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRA PARA DIAGNÓSTICO. EQUIPAMENTOS: PRINCÍPIOS E FUNDAMENTOS.

1 - Considerações Iniciais

Na aula de hoje vamos abordar alguns temas iniciais sobre o estudo da **Farmácia-Bioquímica**, com foco em **amostras diagnósticas**, **equipamentos de laboratório** e **métodos laboratoriais**.

Atualmente, as análises laboratoriais são quase completamente **automatizadas**, ou seja, realizadas por máquinas, o que favorece a redução de erros na fase analítica da realização dos exames.

Os exames laboratoriais podem ser divididos em três fases, vamos revisar?

- **fase pré-analítica**: envolve tudo que ocorre **antes da análise** da amostra, como o cadastramento do paciente, a coleta da amostra biológica, a identificação dos tubos e o transporte do material coletado;
- **fase analítica**: a realização do **exame em si**, com a análise da amostra coletada. Geralmente realizada através de um método automatizado;
- **fase pós-analítica**: ocorre **após a análise** da amostra, o principal evento desta fase é a emissão do laudo.

Atualmente, a etapa mais suscetível a **erros** é a fase pré-analítica, por ser complexa (envolve diferentes procedimentos) e por sofrer grande interferência da **ação humana**, que é predominante nesta fase. Erros na fase pré-analítica comprometem todo o processo, pois não é possível a realização de uma boa análise a partir de uma amostra inadequada.

Um dos principais procedimentos da fase pré-analítica é a obtenção e processamento de amostras biológicas. Por este motivo, torna-se importante o conhecimento dos tópicos abordados nesta aula: **amostras diagnósticas**, **equipamentos de laboratório** e **métodos laboratoriais**. Além disso, apesar de ser um conhecimento básico, é cobrado de forma recorrente em concursos públicos.

2 - Amostras diagnósticas

Dentro de um laboratório clínico trabalhamos com os mais variados tipos de **amostras biológicas**. Dentre elas, podemos citar: sangue total, soro, plasma, urina, secreções (saliva, suor e sêmen), fezes e líquidos corporais e cavitários (líquor, líquido sinovial, etc). Como nesta aula iremos focar nos conhecimentos básicos, vamos tratar apenas das amostras de **sangue total**, **soro** e **plasma**, pois são amostras amplamente usadas em vários tipos de análises, logo, é um conhecimento que irá fundamentar as próximas aulas. As outras amostras serão oportunamente abordadas em aulas futuras, quando estudaremos as metodologias de análise relacionadas especificamente a elas (por exemplo, iremos falar da amostra de urina na aula de urinálise).

As amostras mais utilizadas no laboratório clínico são o **soro** e o **plasma**. É muito importante saber distinguir estes dois tipos de amostra, pois esta diferenciação é cobrada em prova. Vamos recordar?



O sangue circulante é composto por **elementos figurados** (hemácias, leucócitos e plaquetas) e **plasma**. Em relação às amostras utilizadas para análises bioquímicas, tanto o soro quanto o plasma são derivados da parte líquida do sangue e surgem após a centrifugação da amostra de sangue coletada em tubos com ou sem anticoagulante.

O **soro** é a parte aquosa do sangue que resta **após o sangue coagular** e a todas as células sanguíneas serem removidas. Ele é obtido a partir da coleta de sangue em **tubos sem anticoagulante**, que são posteriormente centrifugados, e não contém os fatores proteicos da coagulação nem fibrinogênio.

O **plasma** difere do soro por ser obtido por centrifugação do sangue **sem que a coagulação ocorra**. Esta amostra é obtida a partir da coleta de sangue em **tubos com anticoagulante** e contém os fatores proteicos da coagulação e fibrinogênio.

Dependendo do tipo de análise a ser realizada, uma ou outra amostra pode ser mais adequada.

Vejamos como estes conceitos são cobrados em prova:

HORA DE PRATICAR!

(FCC - Prefeitura de Macapá - AP - 2018) Em dois tubos de coleta de sangue (1 e 2), foram colocadas quantidades iguais de sangue humano de um mesmo paciente saudável. Após terem sido tratados diferentemente, do tubo 1 é possível obter o soro, e do tubo 2, o plasma.

Nesse caso é correto afirmar que

A) no tubo 1 não houve coagulação natural do sangue.

B) o tubo 1 foi tratado com solução salina, que removeu as plaquetas e impediu a coagulação.

C) o tubo 1 não continha anticoagulante, enquanto o tubo 2 foi tratado com anticoagulante.

D) no tubo 2 houve formação de fibrina.

E) no tubo 2 as plaquetas e hemácias formaram coágulo.

Comentários:

Letra A: errada. No tubo 1, do qual se obteve soro, houve coagulação natural do sangue, consumindo os fatores da coagulação e o fibrinogênio.

Letra B: errada. Se o soro foi obtido é porque a coagulação ocorreu, logo, as plaquetas não poderiam ter sido removidas, uma vez que desempenham papel fundamental na coagulação sanguínea.

Letra C: correta. É exatamente isso. O tubo 1 não continha anticoagulante, por isso ocorreu a coagulação e obteve-se o soro, enquanto o tubo 2 tinha anticoagulante, e ao centrifugar o sangue foi obtido o plasma. **Este é o nosso gabarito**.

Letra D: errada. Somente ocorre formação de fibrina quando ocorre coagulação, como obteve-se plasma, a coagulação não ocorreu.

Letra E: errada. Novamente, não houve formação de coágulo no tubo 2 porque não ocorreu a coagulação.

(Prefeitura de Fortaleza - CE - 2018) A diferença entre plasma e soro sanguíneos é que o soro NÃO contém:

A) cálcio.

B) fibrinogênio.

C) proteína plasmática.

D) vitamina K.

Comentários:

O soro difere do plasma por não conter **fibrinogênio**, uma vez que este foi consumido durante a coagulação. No plasma, como a coagulação não ocorreu, o fibrinogênio ainda está presente. Logo, a **alternativa B** é a correta e o gabarito da questão.

O sangue utilizado nas análises laboratoriais pode ser obtido das **veias**, das **artérias** ou ainda dos **capilares**. O sangue venoso é majoritariamente utilizado e o método para a sua obtenção se chama **venipuntura** ou **punção venosa**. A **punção arterial**, por sua vez, é usada com menos frequência, geralmente para **análise dos gases sanguíneos**, em um exame chamado **gasometria arterial**. Já a **punção de pele**, para coleta de **sangue capilar**, é mais usada em bebês e para realização de testes remotos. O método de coleta de sangue é denominado **flebotomia** e deve ser realizado por um **flebotomista** bem treinado.

No próximo tópico falaremos dos tubos utilizados na coleta de sangue e vamos entender melhor como o sangue total dá origem ao soro e ao plasma.

2.1 – Anticoagulantes

A coleta de sangue é geralmente realizada em tubos que apresentam **diferentes cores de tampa** para indicar que contêm **diferentes tipos de anticoagulantes**, para coleta de plasma; ou nenhum anticoagulante, no caso de tubos para coleta de soro. A maioria dos tubos para coleta de soro, apesar de não conter anticoagulante, possuem **ativador de coágulo**, um aditivo que acelera a coagulação sanguínea. Os principais tipos de tubos para coleta de sangue estão representados na figura e tabela abaixo:

						
Citrato de sódio	**VHS**	**Soro**	**Soro com gel separador**	**Heparina**	**EDTA**	**Fluoreto**

***Fonte**: https://www.krupalabequi.org/*

Vejamos no quadro abaixo as características de cada um dos tubos para coleta de sangue:

Cor da tampa	Anticoagulante	Mecanismo de ação	Indicação	Inversões*
Variada	Frasco para hemocultura	Meio estéril para hemocultura	Hemocultura	8
Azul clara	Citrato de sódio	Quelante de Ca^{2+}	Testes de coagulação	5-8
Preta	Citrato de sódio	Quelante de Ca^{2+}	Velocidade de hemossedimentação	
Azul royal	Sem aditivo, com EDTA ou heparina (para elementos traço)	Formação de soro ou plasma	Determinação de elementos de traços	8-10
Vermelha	Sem anticoagulante (soro)	Coagulação natural do sangue	Sorologia e Bioquímica	0
Amarela	Sem anticoagulante com gel separador	Ativador de coágulo e gel separador	Sorologia, Bioquímica, Hormônios	5-8
Verde	Heparina	Inibe os fatores II, IX, X e a trombina	Bioquímica e Imunologia	8-10
Lilás	EDTA	Quelante de cátions divalentes (Ca^2 e Mg^2)	Hemograma, Plaquetas, Biologia Molecular	8-10
Cinza	Fluoreto/EDTA, Fluoreto/Oxalato**	Inibidor glicolítico	Glicemia	8-10

*O número de inversões pode variar de acordo com o fabricante.
** O tubo de fluoreto também pode ser acrescido de heparina, nestes casos a cor da tampa é verde.



Agora vamos falar com mais detalhes sobre o mecanismo de ação e a indicação de cada tipo de tubo.

Citrato de sódio

O citrato de sódio é amplamente utilizado em estudos de **coagulação**. O seu efeito anticoagulante é a **quelação de cálcio** (Ca^{2+}), que é facilmente revertido através da adição de Ca^{2+} ao plasma. Amostras coletadas em tubos de citrato raramente são aceitas para testes de química, mas podem ser utilizadas para

isolamento de DNA genômico caso não sejam centrifugadas (lembrem que o DNA é extraído de células nucleadas, que no caso do sangue são os leucócitos).

Heparina

A heparina é o anticoagulante mais utilizado nos testes de **química**. Está disponível nas formas sódica, potássica, lítica e sais de amônia, sendo todas efetivas na inibição da coagulação. A heparina acelera a ação da antitrombina III, **neutralizando a trombina** e consequentemente **prevenindo a formação da fibrina** pelo fibrinogênio. Não se assustem com estes termos, iremos rever o mecanismo de coagulação do sangue na aula de hematologia, mas por hora basta que vocês saibam qual o mecanismo de ação dos anticoagulantes.

Este anticoagulante **inibe a ação da enzima polimerase** (que é a enzina responsável por replicar o DNA), por este motivo **não é aceita para a maioria dos testes de reação em cadeia da polimerase** (PCR). Assim sendo, apesar de ser possível extrair DNA de amostras heparinizadas, a sua amplificação será reduzida.

EDTA

O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) é o anticoagulante de escolha para **hematologia**, pois **preserva a integridade das células do sangue**. Existe em três formas: sal dissódico, dipotássico ou tripotássico. Seu mecanismo de ação é a **quelação de cátions divalentes**, como **Ca2 e Mg2**. Além do seu uso em hematologia, também é amplamente usado para **isolamento de DNA genômico** e **técnicas moleculares** para determinação qualitativa e quantitativa de vírus. Por ser quelante de cofatores metálicos, o EDTA inibe a ação de enzimas que exigem um cofator metálico, como fosfatase alcalina, CK e leucina aminopeptidase. Pelo seu mecanismo de quelação de cálcio e ferro, este anticoagulante não pode ser usado em amostras para determinação de cálcio e ferro através de técnicas fotométricas ou titrimétricas (titulação).

Fluoreto de sódio

O fluoreto de sódio é um anticoagulante fraco, sendo muitas vezes adicionado para **conservação da glicose no sangue**. É usado **em conjunto com oxalato de potássio, EDTA ou heparina**. Exerce ação conservante através da inibição das enzimas envolvidas na glicólise. Por este motivo, consegue preservar melhor a glicose no sangue coletado e é usado na obtenção do sangue para exames de glicemia.

Oxalato

O oxalato de sódio, potássio, amônio ou lítio inibe a coagulação sanguínea através da **formação de complexos insolúveis com íons cálcio**. O oxalato potássico é a forma mais comumente usada. Deve-se ter atenção ao volume de sangue no tubo, pois o oxalato em concentrações superiores a 3g por litro de sangue pode levar à **hemólise** (**rompimento da membrana das hemácias**), que por sua vez interfere na realização de vários exames.



O **EDTA** e o **citrato** são os anticoagulantes mais indicados para a realização de **testes moleculares** (como a reação em cadeia da polimerase - PCR). A **heparina não deve ser usada** para tais testes porque **inibe fortemente a enzima polimerase** (responsável pela replicação do DNA). O heme (principal componente da hemoglobina) também é capaz de inibir a PCR, por este motivo deve-se evitar o uso de material hemolisado em métodos moleculares, pois quando ocorre o rompimento da membrana da hemácia, o seu conteúdo é liberado para o meio.

Os anticoagulantes são muito cobrados em prova. Então, vamos fazer algumas questões para praticar?



(CCV-UFC - 2015) Os sistemas de coleta com vácuo são produzidos para determinados volumes de sangue, determinados pelo tamanho do tubo e seu vácuo. Muitos tubos contêm aditivos ou anticoagulantes utilizados para coletar amostras para diferentes análises. Relacione adequadamente as cores das tampas dos tubos com os aditivos e/ou anticoagulantes utilizados.

1. Vermelha.

2. Lavanda.

3. Azul.

4. Verde.

5. Cinza.

6. Royal

( ) Nenhum aditivo ou adição de heparina para a obtenção de soro ou plasma para a avaliação de metais.

( ) Adicionado de anticoagulante EDTA sódico ou potássico; obtém-se sangue total para hematologia.

( ) Sem anticoagulante; é utilizado na coleta de sangue para obtenção de soro para bioquímica e sorologia.

( ) Adicionado de oxalato de potássio (inibe a glicólise) para a obtenção de plasma para testes bioquímicos.

( ) Anticoagulante citrato de sódio para obtenção de plasma para provas de coagulação.

( ) Adicionado de heparina para obtenção de plasma para testes bioquímicos.

A sequência está correta em

A) 4, 3, 1, 6, 2, 5.

B) 4, 2, 5, 6, 1, 3.

C) 2, 1, 3, 6, 4, 5.

D) 6, 2, 1, 5, 3, 4.

Comentários:

Este é um exemplo de questão difícil, pois cobra a memorização de todos os tubos (com e sem anticoagulante). A sequência correta é 6, 2, 1, 5, 3, 4, logo o gabarito é **alternativa D**.

(Prefeitura de Fortaleza - CE - 2018) Considerando que cada teste possui uma única opção de anticoagulante, VHS, gasometria, hemoglobina e glicose, associe corretamente a coluna dos testes à coluna dos anticoagulantes e assinale a opção que preenche os parênteses de cima para baixo.

(I) VHS	**( ) EDTA**
(II) Gasometria	**( ) Fluoreto**
(III) Hemoglobina	**( ) Citrato**
(IV) Glicose	**( ) Heparina**

A) I, II, III, IV.

B) II, IV, III, I.

C) III, IV, I, II.

D) IV, III, I, II.

Comentários:

Esta questão cobra o conhecimento da indicação de cada anticoagulante. Também é uma questão que exige muita memorização. A sequência correta é III, IV, I, II, e o nosso gabarito é a **alternativa C**.

No próximo tópico vamos aprofundar um pouco mais, abordando a ordem em que os tubos devem ser utilizados na coleta de sangue. Vamos lá?

2.1.1 Sequência de tubos

No momento da coleta, durante a troca de tubos, existe uma possibilidade pequena de ocorrência de contaminação com aditivos de um tubo para outro. Por isso, uma ordem de coleta foi estabelecida pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), com uma pequena variação entre tubos de plástico e tubos de vidro.

Sequência de coleta para tubos plásticos de coleta de sangue



1. Frascos para hemocultura.

2. Tubos com citrato (tampa azul-claro).

3. Tubos para soro com ativador de coágulo, com ou sem gel separador (tampa vermelha ou amarela).

4. Tubos com heparina com ou sem gel separador de plasma (tampa verde).

5. Tubos com EDTA (tampa roxa).

6. Tubos com fluoreto (tampa cinza).

Sequência de coleta para tubos de vidro de coleta de sangue



1. Frascos para hemocultura.

2. Tubos para soro vidro-siliconizados (tampa vermelha).

3. Tubos com citrato (tampa azul-claro).

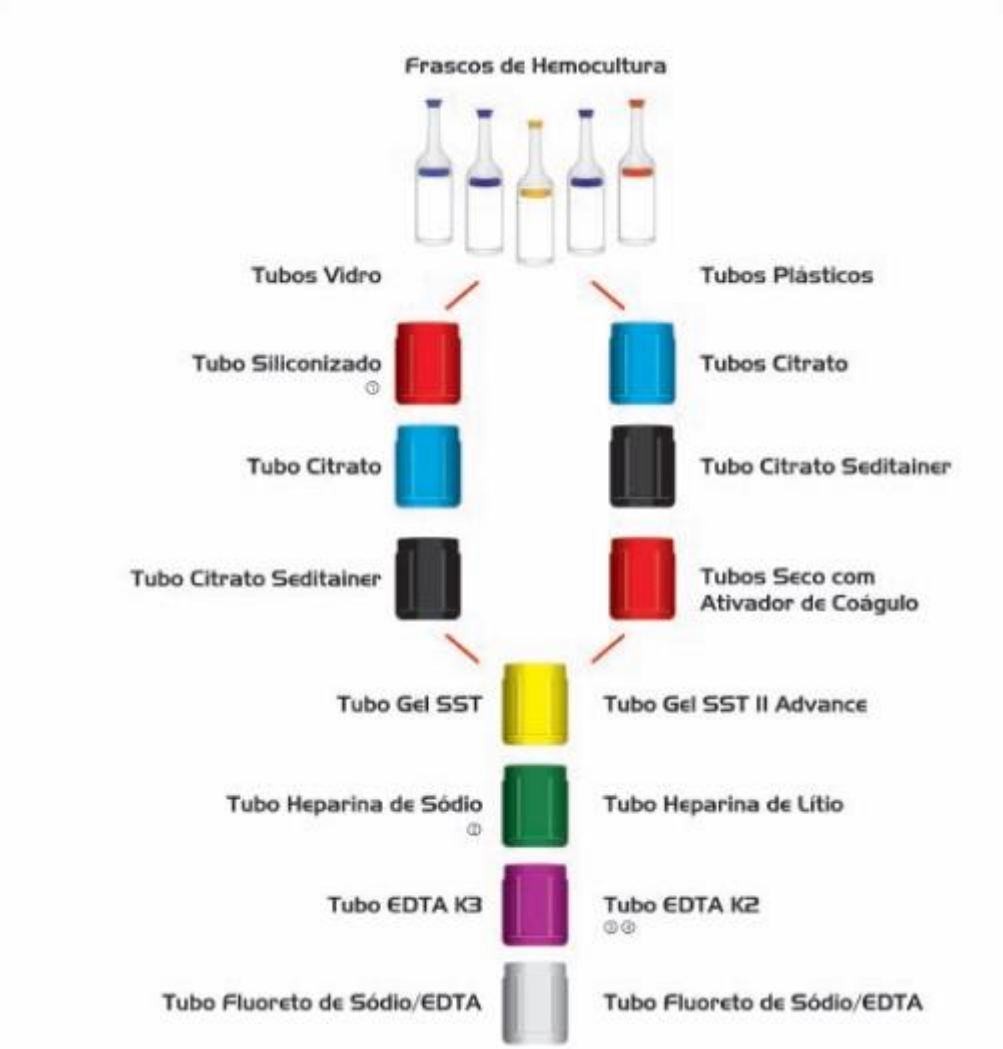
4. Tubos para soro com ativador de coágulo com gel separador (tampa amarela).

5. Tubos com heparina com ou sem gel separador de plasma (tampa verde).

6. Tubos com EDTA (tampa roxa).

7. Tubos com fluoreto (tampa cinza).

A figura abaixo ilustra ambas as sequências e pode ajudar na memorização:



***Fonte**: Recomendações da Sociedade Brasileira De Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso.*

Este tópico também é bastante abordado em provas de concurso. Vamos treinar um pouco?



(NC-UFPR - ITAIPU BINACIONAL - 2019) Quando vários exames são solicitados, pode ser necessária a coleta de mais de um tubo com finalidades específicas. Para evitar a possibilidade de contaminação com aditivos de um tubo para outro, o CLSI estabeleceu uma ordem de coleta que deve ser seguida. A partir do exposto, considere os seguintes recipientes:

1. Tubo para soro com ativador de coágulo.

2. Tubo com EDTA.

3. Tubo com fluoreto.

4. Tubo com citrato.

5. Frasco para hemocultura.

Assinale a alternativa que corresponde a ordem recomendada:

A) 1 – 4 – 3 – 2 – 5.

B) 5 – 2 – 3 – 4 – 1.

C) 2 – 5 – 1 – 4 – 3.

D) 1 – 2 – 4 – 3 – 5.

E) 5 – 4 – 1 – 2 – 3.

Comentários:

Nesta questão a banca examinadora não especificou se queria a sequência dos tubos de plástico ou de vidro, porém a única resposta possível é 5 – 4 – 1 – 2 – 3, correspondente à sequência dos tubos de plástico. O gabarito é **alternativa E**.



É de extrema importância que, imediatamente após a coleta, todos os tubos sejam **homogeneizados**, procedimento que deve ser realizado por **inversão** (uma inversão é contada após virar o tubo para baixo e retorná-lo à posição inicial). Não se deve homogeneizar tubos de citrato vigorosamente (não pode sacudir o tubo, ok?), sob o risco de ativação plaquetária e interferência nos testes de coagulação. A falha na

homogeneização adequada do sangue em tubo com anticoagulante precipita a formação de microcoágulos, pois o anticoagulante não é distribuído por toda a amostra.

Vamos agora ao próximo tópico, no qual estudaremos os procedimentos para coleta da amostra de sangue venoso.

2.2 – Coleta venosa

A **venopunção** (coleta de sangue da veia) é um procedimento complexo, que exige conhecimento e habilidade. De acordo com a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), na ocasião da coleta de uma amostra de sangue, um profissional experiente deve seguir algumas etapas:

- verificar a solicitação do médico e o cadastro do pedido;
- apresentar-se ao paciente;
- explicar ao paciente ou ao seu responsável o procedimento ao qual o paciente será submetido;
- fazer a assepsia das mãos entre o atendimento dos pacientes;
- realizar a identificação de pacientes.

Visando à diminuição da ocorrência de erros na faze pré-analítica, alguns cuidados podem ser tomados, como a confirmação da identidade do paciente e de informações como tempo de jejum e uso de medicamentos.

O **torniquete** ou **garrote** é usado para **aumentar a pressão intravascular** (pressão dentro do vaso sanguíneo), o que facilita a palpação e localização da veia e o preenchimento dos tubos de coleta de sangue ou da seringa. O uso prolongado do garrote (**aplicação por mais de 1 minuto**) pode levar a estase localizada, **hemoconcentração** e infiltração de sangue para os tecidos, o que leva a resultados falsamente aumentados para todos os analitos relacionados a dosagem de proteínas, alteração do volume celular e de outros elementos celulares.

O **uso inadequado do torniquete** pode ainda ocasionar erros diagnósticos, como a **hemólise** (que pode elevar os níveis de potássio e alterar a dosagem do cálcio, entre outras alterações). Também pode ocorrer complicações durante a coleta, como o surgimento de hematomas, formigamentos, sinal de Trousseau (espasmos carpais causados pela oclusão da artéria braquial em pacientes com hipocalcemia), etc. Portanto, caso seja feito o uso do torniquete para a escolha preliminar da veia a ser puncionada, tal procedimento deve ser realizado de forma breve enquanto o paciente mantém a mão fechada. Quando a veia for localizada o torniquete deve ser afrouxado e deve-se **esperar 2 minutos para usá-lo novamente**.



Orientações para o uso do torniquete:

- não usar o torniquete continuamente por mais de 1 minuto;
- ao garrotear, pedir ao paciente que feche a mão para evidenciar a veia;
- não apertar intensamente o torniquete, pois o fluxo arterial não deve ser interrompido. O pulso deve permanecer palpável;
- trocar o torniquete sempre que houver suspeita de contaminação.

O flebotomista deve proceder com a **higiene das mãos após o contato com cada paciente**. Dessa forma ele evita a **contaminação cruzada** (contaminação de um paciente para o outro). A higienização pode ser feita com **água e sabão** ou com **álcool gel**. Ele deve também fazer uso de **luvas descartáveis**, que devem ser desprezadas após a coleta de cada paciente. Essas luvas podem ser de látex, vinil, polietileno ou nitrila. Não se deve usar luvas de látex caso o flebotomista ou o paciente sejam alérgicos a este material, por isso é sempre importante perguntar ao paciente se ele já apresentou alergia ao látex.

A venopunção deve ser precedida pela **higienização da pele do paciente** no local que será puncionado para prevenir a contaminação por microrganismos do paciente e da amostra. A higienização deve ser realizada com gaze e antissépticos, como álcool isopropílico 70% ou álcool etílico, iodeto de povidona 1 a 10% ou gluconato de clorexidina para hemoculturas, substâncias de limpeza não-alcoólicas (como clorexidina, sabão neutro). A gaze umedecida com solução antisséptica deve ser utilizada para realizar **movimentos circulares do centro para fora** (não fazer movimento de vai-e-vem). Deve-se permitir a **secagem da região por 30 segundos** para prevenir hemólise da amostra e diminuir a sensação de ardência durante a venopunção. Não se deve soprar ou abanar para evitar contaminação. Também não se deve tocar a região a ser puncionada após a antissepsia.



Caso haja solicitação de **dosagem de álcool no sangue**, deve ser usado um antisséptico sem álcool no local da punção, pois o álcool da antissepsia pode interferir no resultado do exame.

O local mais indicado para as venopunções é a **fossa antecubital** (área anterior do braço em frente e abaixo do cotovelo), onde estão localizadas várias veias relativamente superficiais. Nesta região, as veias

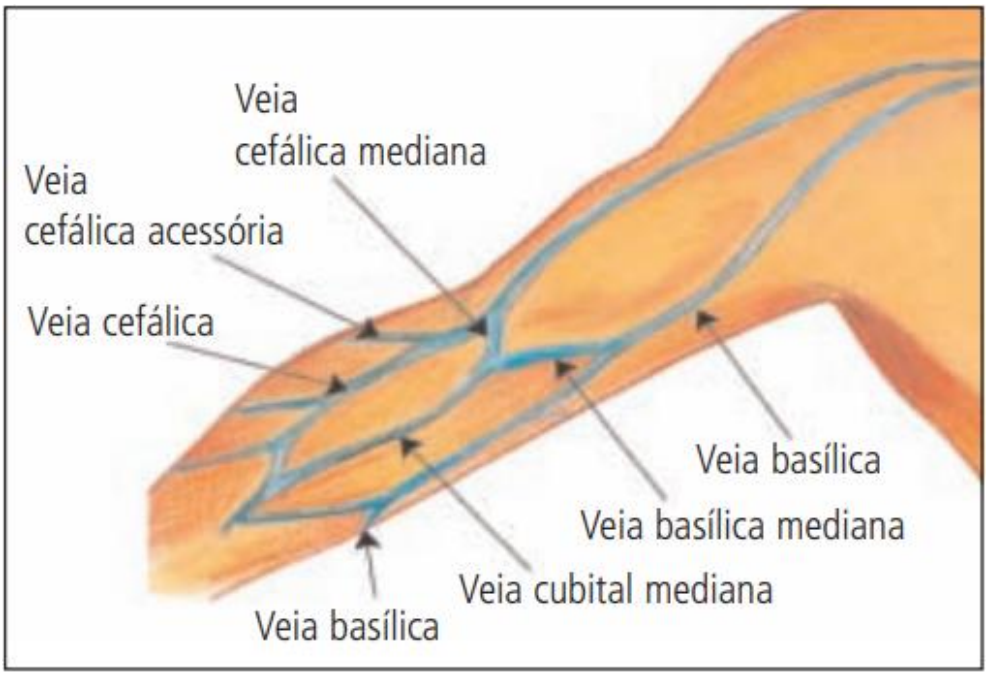
mais frequentemente utilizadas são as **veias cubital mediana**, **basílica** e **cefálica**, sendo esta última mais dolorosa a ser puncionada e mais propensa ao surgimento de hematomas.

Em situações em que as veias da fossa antecubital não estão acessíveis, pode-se usar alternativamente as **veias do dorso da mão** para a venopunção. Nessa região, o **arco venoso dorsal** é o mais recomendado, por ser mais calibroso, contudo, também pode-se puncionar a **veia dorsal do metacarpo**.

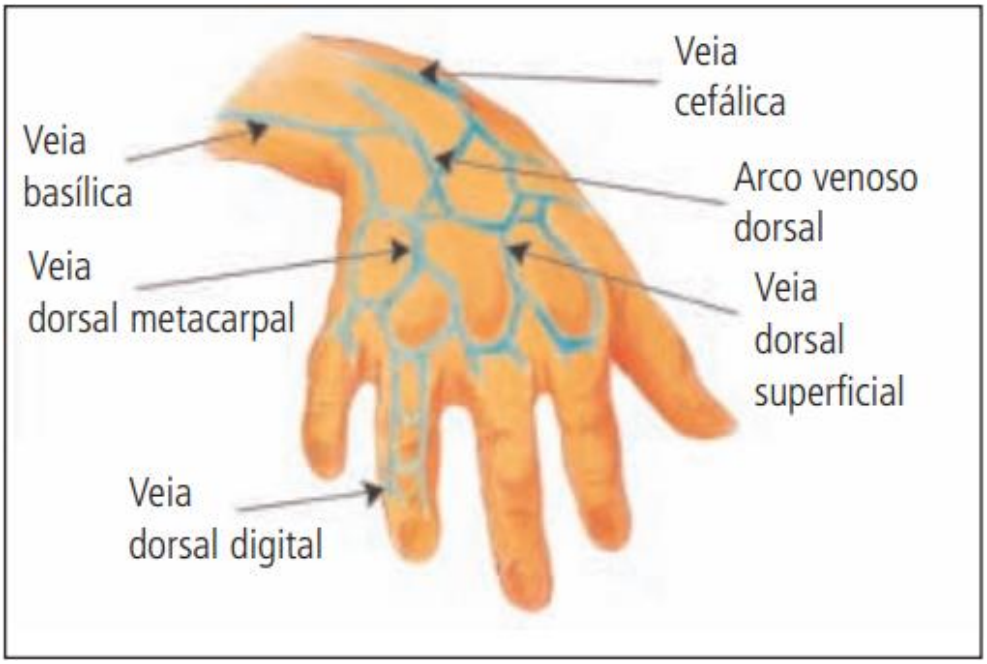


As veias utilizadas na coleta de sangue venoso são bastante cobradas em prova. Memorizem os seus nomes.

As figuras abaixo mostram as localizações das veias do braço e do dorso da mão.



Fonte: Recomendações da Sociedade Brasileira De Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso.



Fonte: Recomendações da Sociedade Brasileira De Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso.

Outros locais, tais como **tornozelos ou pés, não devem ser puncionados sem a permissão do médico**, pois apresentam potencial significativo de **complicações médicas**, tais como: flebites, tromboses ou necrose tissular.

Em pacientes que possuem **veias menos calibrosas** o acesso venoso se torna mais difícil. Tal situação costuma ocorrer em pacientes **pediátricos** e **geriátricos**. Nessas situações, é recomendado o uso de **agulhas com menor calibre, escalpes e tubos com menor volume**. Outra situação que exige o uso de agulhas de menor calibre ou escalpes é no caso de pacientes **queimados**, onde o recomendado é que se procure uma veia íntegra para a venopunção. Não sendo possível localizar uma veia íntegra, deve-se procurar o médico responsável por aquele paciente para autorização da coleta através de um cateter (geralmente presente em pacientes queimados para realização de infusão). Contudo, tal procedimento só deve ser feito por profissional qualificado. Alternativamente, pode-se realizar a **coleta por punção capilar**, usando lancetas e microtubos.

Deve-se evitar a venopunção em membros nos quais estejam instaladas terapias intravenosas, em regiões com cicatrizes de queimadura, do mesmo lado onde foi realizada uma mastectomia, regiões com hematomas, fístulas arteriovenosas, enxertos vasculares ou cânulas vasculares e em veias trombosadas.

Atualmente, o CLSI recomenda a realização da **coleta de sangue venoso a vácuo**, pelo fato de que esta técnica proporciona várias vantagens: **facilidade no manuseio, conforto do paciente, maior qualidade nos resultados dos exames, segurança do profissional e do paciente** (por se tratar de um sistema fechado).

A **coleta de sangue com seringa e agulha** continua sendo usada por ser uma prática já enraizada em algumas áreas da saúde. Porém, deve-se ressaltar que a coleta realizada com seringa pode causar

potenciais erros pré-analíticos e ainda oferecer **riscos ao profissional de saúde**. Por este motivo, de acordo com o CLSI, a venopunção por seringa e agulha deve ser evitada. Contudo, quando seringa e agulha forem utilizadas para coleta de sangue, deve-se usar um **dispositivo de transferência** para **minimizar os riscos de acidentes e contaminação**.

2.2.1 – Procedimentos de Coleta de Sangue a Vácuo

A SBPC/ML cita a seguinte sequência de procedimentos para a coleta de sangue a vácuo:



1. Verificar se a cabine da coleta está limpa e guarnecida para iniciar as coletas.

2. Solicitar ao paciente que diga seu nome completo para confirmação do pedido médico e etiquetas.

3. Conferir e ordenar todo o material a ser usado no paciente, de acordo com o pedido médico (tubo, gaze, torniquete etc.). Essa identificação dos tubos deve ser feita na frente do paciente.

4. Informar ao paciente como será o procedimento.

5. Abrir o lacre da agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo em frente ao paciente.

6. Rosquear a agulha no adaptador do sistema a vácuo

7. Higienizar as mãos.

8. Calçar as luvas.

9. Posicionar o braço do paciente, inclinando-o para baixo na altura do ombro.

10. Se o torniquete for usado para seleção preliminar da veia, pedir para que o paciente abra e feche a mão; em seguida, afrouxar o instrumento e esperar 2 minutos para utilizá-lo novamente.

11. Fazer a antissepsia.

12. Garrotear o braço do paciente.

13. Retirar a proteção que recobre a agulha de coleta múltipla de sangue a vácuo.

14. Fazer a punção numa angulação oblíqua de 30°, com o bisel da agulha voltado para cima. Se necessário, para melhor visualizar a veia, esticar a pele com a outra mão (longe do local onde foi feita a antissepsia).

15. Inserir o primeiro tubo a vácuo.

16. Quando o sangue começar a fluir para dentro do tubo, desgarrotear o braço do paciente e pedir para que abra a mão.

17. Realizar a troca dos tubos sucessivamente.

18. Homogeneizar imediatamente após a retirada de cada tubo, invertendo-o suavemente de 5 a 10 vezes.

19. Após a retirada do último tubo, remover a agulha e fazer a compressão no local da punção, com algodão ou gaze secos.

20. Exercer pressão no local, em geral, de 1 a 2 minutos, evitando-se, assim, a formação de hematomas e sangramentos. Se o paciente estiver em condições de fazê-lo, orientá-lo adequadamente para que faça a pressão até que o orifício da punção pare de sangrar (pacientes que fazem uso de anticoagulantes, como varfarina, podem demorar mais para cessar o sangramento no local puncionado).

21. Descartar a agulha imediatamente após sua remoção do braço do paciente, em recipiente próprio para materiais perfurocortantes.

22. Fazer curativo oclusivo no local da punção.

23. Orientar o paciente a não dobrar o braço, não carregar peso ou bolsa a tiracolo no mesmo lado da punção por, no mínimo, 1 hora, e não manter a manga dobrada, pois pode funcionar como torniquete.

24. Verificar se há alguma pendência, fornecendo orientações adicionais ao paciente, se for necessário.

25. Certificar-se das condições gerais do paciente, perguntando se está em condições de se locomover sozinho e, em caso afirmativo, entregar o comprovante de retirada do resultado ao paciente para, em seguida, liberá-lo.

26. Colocar as amostras em local adequado ou encaminhá-las imediatamente ao processamento. Deve-se respeitar sempre o procedimento operacional do laboratório; por exemplo, nos casos recomendados, manter em gelo os materiais necessários.

27. Caso esteja usando uma agulha com dispositivo de segurança, seguir as recomendações relativas à ordem de coleta, homogeneização etc.

2.2.2 – Procedimentos de Coleta de Sangue com Seringa e Agulha

A SBPC/ML também oferece orientações quanto à coleta de sangue com seringa e agulha:



1. Verificar se a cabine de coleta está limpa e guarnecida para início dos procedimentos.

2. Solicitar ao paciente que diga seu nome completo para confirmação do pedido médico e etiquetas.

3. Conferir e ordenar todo o material a ser usado no paciente, de acordo com o pedido médico (tubo, gaze, torniquete, etc.). A identificação dos tubos deve ser feita na frente do paciente.

4. Informar ao paciente como será realizado o procedimento.

5. Abrir a seringa na frente do paciente

6. Higienizar as mãos.

7. Calçar as luvas.

8. Posicionar o braço do paciente, inclinando-o para baixo, na altura do ombro.

9. Se o torniquete for usado para seleção preliminar da veia, pedir para que o paciente abra e feche a mão; em seguida, afrouxar o instrumento e esperar 2 minutos para utilizá-lo novamente.

10. Fazer a antissepsia.

11. Garrotear o braço do paciente.

12. Retirar a proteção da agulha hipodérmica.

13. Fazer a punção numa angulação oblíqua de 30º, com o bisel da agulha voltado para cima, se necessário, para melhor visualizar a veia, esticar a pele com a outra mão, longe do local onde foi feita a antissepsia.

14. Desgarrotear o braço do paciente assim que o sangue começar a fluir dentro da seringa.

15. Aspirar devagar o volume necessário, de acordo com a quantidade de sangue requerida na etiqueta dos tubos a serem utilizados (respeitar, ao máximo, a exigência da proporção

sangue/aditivo). Aspirar o sangue, evitando bolhas e espuma, com agilidade, pois o processo de coagulação do organismo do paciente já foi ativado no momento da punção.

16. Retirar a agulha da veia do paciente.

17. Exercer pressão no local, em geral, de 1 a 2 minutos, evitando, assim, a formação de hematomas e sangramentos. Se o paciente estiver em condições de fazê-lo, oriente-o para que faça a pressão até que o orifício da punção pare de sangrar.

18. Tenha cuidado com a agulha para evitar acidentes perfurocortantes.

19. Descartar a agulha imediatamente após sua remoção do braço do paciente, em recipiente adequado, sem a utilização das mãos (de acordo com a normatização nacional – não desconectar a agulha – **não reencapar**). Caso esteja usando agulha com dispositivo de segurança, ativar o dispositivo e descartar a agulha no descartador para objetos perfurocortantes, de acordo com a NR32.

Obs: É totalmente contraindicado perfurar a rolha do tubo, pois esse procedimento pode causar a punção acidental, além da possibilidade de hemólise.

20. De acordo com o CLSI, deve-se utilizar, após a coleta com seringa e agulha, um dispositivo de transferência de amostra.

21. Conectar o dispositivo de transferência na seringa, introduzir os tubos a vácuo e aguardar o sangue parar de fluir em direção ao interior do tubo. Realizar a troca dos tubos sucessivamente.

22. Homogeneizar o conteúdo imediatamente após a retirada de cada tubo, invertendo-o suavemente de 5 a 10 vezes.

23. Descartar o dispositivo de transferência de amostra (*transfer device*) e a seringa.

24. Fazer curativo oclusivo no local da punção.

25. Orientar o paciente a não dobrar o braço, não carregar peso ou bolsa a tiracolo no mesmo lado da punção por, no mínimo, 1 hora, e não manter a manga dobrada, pois pode funcionar como torniquete.

26. Verificar se há alguma pendência, dando orientações adicionais ao paciente, se necessário.

27. Certificar-se das condições gerais do paciente perguntando se está em condições de se locomover sozinho. Em caso afirmativo, entregar o comprovante de retirada do resultado ao paciente para, em seguida, liberá-lo.

28. Colocar as amostras em local adequado ou encaminhá-las imediatamente para processamento. Deve-se respeitar sempre o procedimento operacional do laboratório; por exemplo, nos casos indicados manter em gelo os materiais necessários.

Vamos resolver algumas questões para praticar?



(CEPS-UFPA - 2015) Uma das principais amostras biológicas coletadas, para diversos tipos de exame, é o sangue venoso. Na coleta de sangue, deve-se considerar as seguintes orientações:

A) Antes de sua coleta, fazer a assepsia local com álcool a 70º GL, lavar as mãos, colocar luvas, encaixar a agulha na seringa com o auxílio de uma pinça, inspecionar a ponta da agulha (deve estar torta para facilitar sua entrada) e mover o êmbolo da seringa.

B) Depois de fazer a assepsia local, colocar as luvas e preparar a seringa e os tubos com identificação do paciente, inspecionar as veias cuidadosamente, verificar a mais adequada para a punção e colocar o torniquete para que as veias fiquem mais salientes. Procede-se com a coleta, mantendo-se o torniquete.

C) Fazer a assepsia do local com algodão embebido em álcool 70º GL; em seguida, colocar o torniquete, para que as veias fiquem mais salientes. Após verificar a veia mais adequada, puncionar e coletar o sangue, sem a retirada do torniquete.

D) Após os procedimentos iniciais (lavar as mãos, colocar luvas, preparar seringa, agulha, identificar tubos), colocar o torniquete, e verificar a veia mais apropriada. Fazer a assepsia local com álcool 700 GL. Puncionar a veia, retirar o torniquete e proceder com a coleta.

E) Após os procedimentos iniciais (lavar as mãos, colocar luvas, preparar seringa, agulha, identificar tubos), colocar o torniquete e verificar a veia mais apropriada. Fazer a assepsia local com álcool 700 GL. Retirar o torniquete, com a agulha na direção da veia selecionada, e rapidamente proceder com sua punção e coleta do sangue.

Comentários:

Letra A: errada. Não se usa pinça para encaixar a agulha. Também não faz parte dos procedimentos de coleta o uso de uma agulha torta. A agulha deve ser reta e introduzida com o bisel voltado para cima.

Letra B: errada. O torniquete não deve ser mantido durante a coleta, mas deve ser afrouxado assim que o sangue começar a fluir para dentro do tubo de coleta ou da seringa.

Letra C: errada. A alternativa está errada pelo mesmo motivo da alternativa B.

Letra D: correta. Esta é a única alternativa que descreve os procedimentos de coleta de forma correta e na ordem correta. **Este é o nosso gabarito**.

Letra E: errada. Está errada pois não se pode retirar o torniquete antes de introduzir a agulha e ter certeza de que o sangue está fluindo.

(INSTITUTO AOCP - EBSERH - 2016) Um paciente entra em uma sala de coleta de sangue de um laboratório e o profissional que está coletando o sangue tem dificuldades em visualizar as veias do braço do paciente. Uma alternativa é a coleta das veias da mão, sendo que, nesse caso, as veias de mais fácil acesso são

A) cava superior e jugular profunda.

B) basílica, cefálica e metacarpianas dorsais.

C) braquial superior e femural profunda.

D) porta medial e cubital medial.

E) safena e palmar.

Comentários:

Letra A: errada. As veias citadas não estão localizadas na mão, mas no tórax e pescoço.

Letra B: correta. Basílica, cefálica e metacarpianas dorsais são as veias de mais fácil acesso no dorso da mão, devendo ser puncionadas em alternativa às veias da fossa antecubital. **Este é o nosso gabarito**.

Letra C: errada. A veia braquial se localiza na porção proximal do membro superior. A veia femoral se localiza na porção proximal do membro inferior.

Letra D: errada. A veia porta faz parte do sistema venoso porta hepático. A veia cubital localiza-se no braço.

Letra E: errada. A veia safena localiza-se na perna. A veia palmar localiza-se na mão, mas não está entre as veias indicadas para venopunção.

Vamos seguir em frente e falar um pouco sobre os procedimentos pós-coleta.

2.2.3 – Processamento, transporte e conservação da amostra

O soro ou plasma deve ser separado dos elementos celulares do sangue através da **centrifugação dentro de no máximo 2 horas após a coleta**. As amostras colhidas com anticoagulante nas quais serão realizados exames em **sangue total** devem ser mantidas sob refrigeração (**de 4 a 8ºC**) até o momento da análise.

No caso do **soro**, o tubo com sangue deve ser deixado para coagular por um período de **30 a 60 minutos**. Caso o tubo contenha **gel separador com ativador de coágulo**, o tempo de espera é de **30 a 45 minutos**. Após decorrido este tempo, procede-se com a centrifugação do tubo e separação da parte líquida, o soro.

Em relação ao **transporte**, as amostras podem ser deslocadas em **caixa de isopor com gelo reciclável**, calçado com flocos de isopor ou papel jornal, para que as amostras **não tenham direto com o gelo** e a **hemólise** seja evitada.

2.2.4 – Interferentes

Vários fatores podem influenciar nos resultados dos exames. No momento do cadastro, ou da coleta da amostra, o paciente deve ser questionado sobre estes fatores e as informações devem estar disponíveis em sua ficha ou cadastro. Dentre os fatores que exercem influência nos resultados de exames podemos citar fatores intrínsecos do indivíduo (idade, sexo, raça); gestação ou lactação; dieta; hábitos de vida (tabagismo, etilismo, prática de atividade física); uso de medicamentos variados; uso de drogas de abuso; doenças crônicas pré-existentes (diabetes, hipertensão); condições de saúde atuais ou recentes (diarreia, vômitos) e até mesmo irregularidades na amostra coletada, como **hemólise**, **icterícia** (**excesso de bilirrubina**), **lipemia** (**excesso de triglicerídeos**), garroteamento prolongado, entre outros fatores.

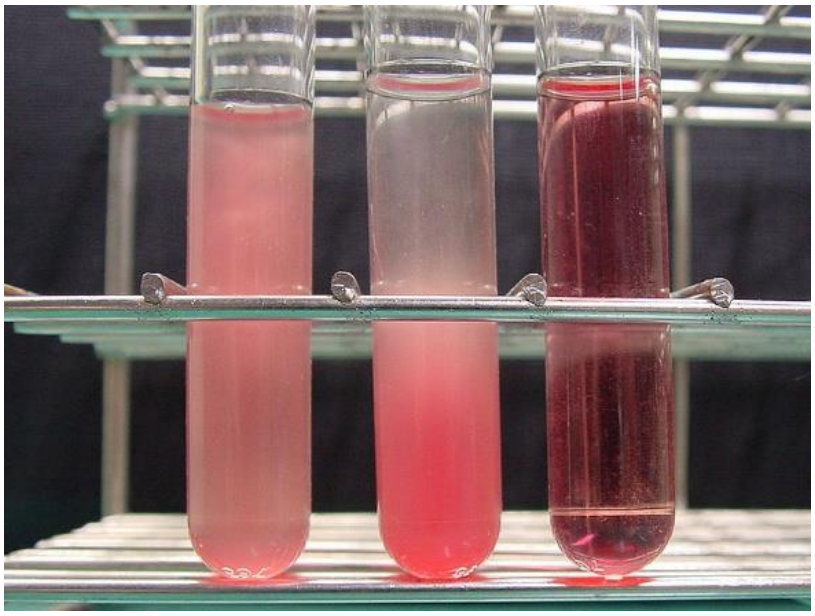
É esperado, contudo, que haja alguma variação entre os resultados obtidos de amostras de pacientes diferentes, devido à **variabilidade biológica** (ou **fisiológica**), que Kroll define como uma "*variação natural, de ocorrência fisiológica, própria do indivíduo, independente das variáveis pré-analíticas*". Dentre os fatores que compõem a variação biológica, podemos citar: idade, sexo, puberdade, ciclo menstrual, menarca, menopausa, gestação, puerpério, lactação, etilismo, tabagismo, consumo de café, prática de atividades físicas, estresse, exposição à luz, permanência no leito, frio, jejum, dieta vegetariana, deficiências nutricionais, deficiências vitamínicas, xenobióticos, pressão sanguínea, polimorfismos genéticos, fatores étnicos e variações geográficas.

A prática de **atividades físicas** é capaz de promover alterações transitórias em alguns componentes sanguíneos. O esforço físico pode causar **aumento da atividade sérica de algumas enzimas**, como a **creatinaquinase (CK)**, a **aldolase** e a **asparato aminotransferase (AST)**, que pode persistir por 12 a 24 horas após a realização do exercício. Exercícios moderados podem **elevar os níveis de cálcio ionizado**, devido à diminuição do pH e do bicarbonato, além do **aumento do lactato**, **albumina** e **cálcio total** durante os exercícios.

A **hemólise** (**rompimento da membrana das hemácias que resulta na liberação de hemoglobina**) pode ocorrer *in vivo* (dentro do corpo dos indivíduos), como consequência de eventos intravasculares, ou *in vitro* (fora do corpo), durante ou após a coleta do sangue. Dentre as causas de hemólise *in vitro*, Tietz cita: álcool deixado na pele, uso de agulhas de pequeno calibre, desordens da hemácia, temperaturas elevadas durante o transporte e outras causas.

Um indicativo de que ocorreu a hemólise é quando **o soro ou plasma aparece vermelho após a centrifugação**, coloração causada pela hemoglobina liberada pela ruptura das hemácias. Como consequência, ocorre a **elevação plasmática de lactato desidrogenase, potássio, magnésio e fosfato**. De uma forma geral, a hemólise interfere em quase todos os testes bioquímicos, não sendo recomendado o uso de amostras hemolisadas para as análises.

A figura a seguir apresenta exemplos de amostras hemolisadas:



Fonte: https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Hemolysis.jpg

Fatores interferentes também podem ser oriundos da lise de plaquetas e granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos). Isso geralmente ocorre quando o sangue é armazenado em baixas temperaturas, e não em temperatura de congelamento.

A SBPC/ML orienta quanto às **boas práticas de pré-coleta** para prevenção de hemólise:

TOME NOTA!

Deixar o álcool secar antes de iniciar a punção.

Evitar usar agulhas de menor calibre. Usar esse tipo de material somente quando a veia do paciente for fina ou em casos especiais.

Evitar colher o sangue de área com hematoma.

Em coletas a vácuo, puncionar a veia do paciente com o bisel voltado para cima. Perfure a veia com a agulha a um ângulo oblíquo de inserção de 30 graus ou menos. Assim, evita-se que o sangue se choque com força na parede do tubo, hemolisando a amostra, e previne-se também o refluxo do sangue do tubo para a veia do paciente.

Tubos com volume de sangue insuficiente ou em excesso alteram a proporção correta de sangue/aditivo, levando à hemólise e a resultados incorretos.

Em coletas com seringa e agulha, verificar se a agulha está bem adaptada à seringa, para evitar a formação de espuma.

Não puxar o êmbolo da seringa com muita força.

Ainda em coletas com seringa, descartar a agulha e passar o sangue deslizando-o cuidadosamente pela parede do tubo, cuidando para que não haja contaminação da extremidade da seringa com o anticoagulante ou com o ativador de coágulo contido no tubo.

Não executar o procedimento de espetar a agulha na tampa de borracha do tubo para a transferência do sangue da seringa para o tubo, pois poderá criar uma pressão positiva, o que provoca, além da hemólise, o deslocamento da rolha do tubo, levando à quebra da probe de equipamentos.

A SBPC também orienta quanto às **boas práticas de pós-coleta** para prevenção de hemólise:



Homogeneizar a amostra suavemente por inversão de 5 a 10 vezes, de acordo com as instruções do fabricante; não chacoalhar o tubo.

Não deixar o sangue em contato direto com gelo, quando o analito a ser dosado necessitar desta conservação.

Embalar e transportar o material de acordo com as determinações da Vigilância Sanitária local, das instruções de uso do fabricante de tubos e do fabricante do conjunto diagnóstico a ser analisado.

Usar, de preferência, um tubo primário; evitar a transferência de um tubo para outro.

Não deixar o sangue armazenado por muito tempo refrigerado antes de fazer os exames. Verificar as recomendações do fabricante do kit do teste.

Não centrifugar a amostra de sangue em tubo para obtenção de soro antes do término da retração do coágulo, pois a formação do coágulo ainda não está completa, o que pode levar à ruptura celular.

Quando utilizar um tubo primário (com gel separador), a centrifugação e a separação do soro devem ser realizadas dentro de, no mínimo, 30 minutos e, no máximo, 2 horas após a coleta.

Não usar o freio da centrífuga com o intuito de interromper a centrifugação dos tubos. Essa brusca interrupção pode provocar hemólise.

Vamos resolver mais algumas questões para fixar bem este conteúdo.



(UFSM - 2015) No intuito de prevenir a hemólise (liberação dos constituintes intracelulares para o plasma ou soro) durante a coleta de sangue, deve-se

A) retirar a agulha da seringa e transferir a amostra para o tubo, deslizando a amostra cuidadosamente pela parede do tubo.

B) executar o procedimento de espetar a agulha na tampa de borracha do tubo para a transferência do sangue da seringa para o tubo.

C) usar agulhas de menor calibre possível.

D) movimentar o tubo por inversão, chacoalhando o rapidamente para homogeinizar a amostra.

E) encher de sangue os tubos com anticoagulante para evitar que falte material no momento da análise.

Comentários:

Letra A: correta. Este é um dos procedimentos preconizados pela SBPC/ML para prevenção de hemólise.

Letra B: errada. Este é um dos procedimentos que levam a ocorrência de hemólise e, portanto, deve ser evitado.

Letra C: errada. Só se deve usar agulhas de pequeno calibre quando a veia do paciente for muito fina ou em situações nas quais não seja possível utilizar uma mais calibrosa.

Letra D: errada. Jamais devemos chacoalhar um tubo de amostra, pois isto leva à hemólise.

Letra E: errada. Tubos com volume de sangue insuficiente ou em excesso alteram a proporção correta de sangue/aditivo, levando à hemólise e a resultados incorretos.

(Prefeitura de Fortaleza - CE - 2016) Ao se preparar um paciente para flebotomia deve-se ter em mente vários cuidados. A aplicação incorreta do garrote do exercício de punho pode resultar em valor elevado, em razão da hemoconcentração. Identifique dentre as opções abaixo a que contém somente analitos afetados pelo uso prolongado de garrote.

A) Cálcio, Proteínas e Lactato.

B) Ureia, Creatinina e Glicose.

C) Albumina, Ureia e Fosfato.

D) Glicose, Albumina e Cálcio Iônico.

Comentários:

A alternativa que cita apenas analitos afetados pelo uso prolongado do garrote é a alternativa **A: cálcio, proteínas e lactato**.

(Prefeitura de Fortaleza - CE - 2018) Durante a coleta de sangue o tempo prolongado de garroteamento provoca:

A) hemoconcentração e diminuição da glicemia.

B) hemoconcentração e plaquetopenia.

C) hemodiluição e aumento da glicemia.

D) hemólise e diminuição do potássio.

Comentários:

Letra A: errada. O uso prolongado do garrote causa hemoconcentração, mas não leva à diminuição da glicemia.

Letra B: correta. O garroteamento prolongado pode levar à hemoconcentração e plaquetopenia.

Letra C: errada. Não ocorre hemodiluição, mas sim hemoconcentração. Alternativa errada.

Letra D: errada. A hemólise pode ocorrer, mas o potássio aumenta em situações de prolongamento do garroteamento.

(IBFC - EBSERH - 2016) Assinale a alternativa que apresenta uma das causas de hemólise de amostra de sangue *in vitro*:

A) Falta de homogeneização do tubo de coleta

B) Transporte da amostra em temperatura ambiente

C) Coleta do sangue com seringa e agulha

D) Coleta traumática e demorada

E) Coleta em tubo de plástico

Comentários:

Letra A: errada. A falta de homogeneização do tubo de coleta prejudica a atuação do anticoagulante, mas não incorre em hemólise.

Letra B: errada. A hemólise ocorre quando a amostra é mantida em temperaturas elevadas, mas se o transporte for realizado em condições e tempo adequados, não haverá hemólise.

Letra C: errada. A coleta com seringa e agulha, quando feita de forma correta, não leva à hemólise.

Letra D: correta. Coleta traumática e demorada é um dos fatores que pode causar hemólise na amostra. **Este é o nosso gabarito**.

Letra E: errada. A coleta em tubo de plástico não se associa à ocorrência de hemólise.

Vamos prosseguir!

2.3 – Hemocultura

A **hemocultura** é uma técnica microbiológica para **cultura de sangue**. É utilizada quando há suspeita de que há uma infecção na corrente sanguínea (**bacteremia**, **fungemia**, **sepse**). A coleta de sangue para a realização de hemocultura apresenta algumas particularidades.

O **volume de sangue** coletado é muito importante para a detecção de bacteriemia e/ou fungemia. Em pacientes **adultos**, recomenda-se a coleta de **20 a 30 mL** por amostra. Para **crianças**, recomenda-se coletar não mais do que **1% do volume total de sangue** (calculado a partir do peso da criança).

Atualmente, o CLSI recomenda a coleta do par de garrafas aeróbio/anaeróbio. Quando o volume coletado for inferior ao recomendado, o sangue deve ser inoculado primeiramente na garrafa aeróbica e o que restar deve ser inoculado na garrafa anaeróbica.

Após a realização da coleta, as amostras devem ser **transportadas para o laboratório em, no máximo, duas horas**. Garrafas de hemoculturas **nunca devem ser refrigeradas ou congeladas**, uma vez que temperaturas baixas podem inviabilizar alguns microrganismos. O recomendado é realizar o transporte das amostras à temperatura ambiente.

De acordo com o manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para o controle de infecção hospitalar da ANVISA, os **fatores que influenciam os resultados de hemocultura** são o **volume de sangue coletado** no frasco e o **método de antissepsia**. O **volume ideal corresponde a 10% do volume total do frasco** de coleta.

2.3.1 Procedimento para coleta de hemoculturas

Vários antissépticos são usados previamente à coleta de hemoculturas, incluindo álcool 70%, tintura de iodo, povidine e clorexidina. Contudo, a **tintura de iodo** e **clorexidina** possuem atividade antisséptica superior aos demais.

A coleta fechada de hemocultura, com o uso de escalpe e adaptador para coleta de sangue a vácuo, torna o procedimento mais seguro e diminui os riscos de acidente com perfurocortantes. A SBPC preconiza o seguinte passo a passo para a coleta fechada de hemocultura:



Antes da coleta da hemocultura: inspecionar todas as garrafas e descartar aquelas que apresentarem evidência de contaminação, danos ou deterioração.

Preparar o sítio de punção: realizar a antissepsia adequada (álcool 70% seguido de PVPI, clorexidina ou outra etapa com álcool 70% em pacientes alérgicos), com movimentos circulares, do centro para a periferia; esperar secar naturalmente; não tocar a área; não apalpar; não esfregar; não assoprar.

Preparar as garrafas: remover as tampas das garrafas; limpar as tampas de borracha das garrafas com álcool 70% e permitir a secagem natural; marcar na etiqueta o nível de preenchimento de sangue.

Coletar o sangue: preparar o kit de coleta de sangue; abrir a embalagem e remover o escalpe; rosquear o escalpe no adaptador; assegurar-se de que todos os ajustes estão seguros; remover o plástico que cobre a agulha; realizar a punção segurando as abas do escalpe.

Selecionar a garrafa aeróbia em primeiro lugar; manter a garrafa na posição vertical; ajustar e pressionar o adaptador sobre a tampa de borracha da garrafa para perfurá-la; coletar o volume necessário de sangue; monitorar o volume e o fluxo de sangue.

Remover o adaptador da garrafa; imediatamente ajustar e pressionar o adaptador na segunda garrafa; coletar o volume de sangue desejado na segunda garrafa; remover o adaptador da garrafa; assim que o último frasco ou tubo for preenchido, retirar a agulha do braço do paciente; cobrir o sítio da punção com gaze e pressionar levemente; ativar o dispositivo de segurança do escalpe.

Identificação dos frascos: identificar todas as garrafas com as informações do paciente; não escrever ou colar etiquetas sobre o código de barras que é utilizado como instrumento para reconhecer a garrafa; não colar etiquetas na garrafa.

Descarte: descartar o kit de coleta com segurança, de acordo com regulamentações locais.

Culturas adicionais podem ser colhidas do mesmo modo; locais de punção diferentes devem ser utilizados para cada hemocultura coletada.

Vamos fixar este conhecimento a partir da resolução de algumas questões.



(Prefeitura de Fortaleza - CE - 2016) As amostras de sangue coletadas para hemocultura devem ser coletadas seguindo-se as precauções do padrão de biossegurança. A solução mais adequada para finalizar assepsia da pele é:

A) clorexidina alcoólica.

B) álcool a 70%.

C) tintura de iodo a 50%.

D) cloreto de sódio a 9%.

Comentários:

Todas as alternativas apresentam soluções com potencial antisséptico. Porém, a mais adequada para assepsia final da pele para coletas de hemocultura é a **clorexidina alcoólica**. **Gabarito: alternativa A**.

(CESPE - EBSERH - 2018) Com referência à microbiologia, julgue o item subsequente.

Frasco de hemocultura, garrote, seringa e agulha de coleta, gaze, luva esterilizada, álcool etílico ou isopropílico a 70% são materiais necessários para a coleta de sangue destinado à hemocultura.

Certo

Errado

Comentários:

O enunciado apresenta corretamente a relação de materiais necessários para a coleta de sangue para hemocultura. **Gabarito: certo**.

Agora vamos prosseguir para outra técnica de coleta diferente da venopunção, vamos falar de punção capilar.

2.4 – Punção capilar

A **punção capilar** ou **punção da pele** ou ainda **punção transcutânea** é uma técnica de **coleta de sangue aberta na qual a pele é perfurada por uma lanceta** e um volume pequeno de sangue é coletado em um microtubo ou diretamente no papel de filtro. O sangue na punção da pele é uma mistura de sangue de arteríolas, vênulas capilares e dos fluidos intersticial e intracelular, assemelhando-se mais ao sangue arterial do que ao sangue venoso.

Este tipo de coleta é realizado nas seguintes situações: volume de amostra limitado (**coleta pediátrica**), punções venosas repetidas (com **danos graves causados às veias**), pacientes **queimados** ou **enfaixados** (sem veias disponíveis para a venopunção), pacientes com **tendências trombóticas**, pacientes com **veias superficiais frágeis** ou de difícil acesso (idosos ou não), ou quando a amostra será testada em um dispositivo que usa filtro de papel.

Os locais utilizados para a punção são a **ponta do dedo médio ou anular**, o **lóbulo da orelha** e o **calcanhar**. O local da punção deve ser limpo com solução aquosa de isopropanol (70% v/v). Após a assepsia, deve-se aguardar a evaporação completa do álcool, para evitar hemólise.

A SBPC/ML apresenta o passo a passo da punção transcutânea em adultos:

TOME NOTA!

1. Confirmar a identificação do paciente.

2. Posicionar o paciente.

3. Verificar restrições, como dieta e medicamentos.

4. Lavar as mãos e calçar luvas.

5. Selecionar o material de coleta (lanceta descartável, tubos capilares ou recipientes apropriados para armazenar amostras obtidas na coleta).

6. Escolher o local da punção e aquecer, se necessário.

7. Fazer assepsia do local da punção com isopropanol a 70% e aguardar a secagem natural.

8. Preparar a lanceta de punção.

9. Explicar ao paciente como será a punção.

10. Puncionar a pele e descartar a lanceta de acordo com os procedimentos de biossegurança.

11. Limpar a primeira gota de sangue com gaze seca e coletar o sangue. Se necessário, colocar em recipiente apropriado, homogeneizar o recipiente com anticoagulante ou estabilizador e fechar o recipiente quando indicado.

12. Pressionar o local da punção com algodão ou gaze e elevar ligeiramente a extremidade puncionada acima do nível do coração para interromper a saída de sangue.

13. Identificar os recipientes com a amostra conforme procedimento e verificar se a quantidade de sangue é suficiente para os exames solicitados; caso não seja, realizar nova punção em outro local.

14. Descalçar as luvas e lavar as mãos.

Assim como em adultos, em **crianças maiores de 1 ano de idade**, a punção capilar deve ser realizada na **superfície palmar da falange distal** (extremidade) dos dedos médio ou anular. Já em **crianças menores de 1 ano de idade** a punção deve ser realizada na **superfície plantar lateral ou medial do calcanhar** (área de menor risco), que são as regiões marcadas de vermelho na imagem abaixo.



Fonte: Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Coleta e Preparo da Amostra Biológica.

A SBPC/ML também preconiza os procedimentos de punção capilar na região do calcanhar para crianças menores de 1 ano:

TOME NOTA!

Segura-se o calcanhar firmemente com o dedo indicador no arco do pé e o polegar abaixo do local a ser puncionado.

Realiza-se a punção com um movimento contínuo, firme e perpendicular ao local da punção.

A pressão do polegar deve ser liberada à medida que as gotas de sangue se formam transferidas para os recipientes apropriados.

A realização de massagem na área não é indicada, pois provoca hemólise e a mistura de sangue com os líquidos intersticial e intracelular.

Em crianças menores de 1 ano de idade, as seguintes áreas não devem ser puncionadas: curvatura posterior do calcanhar; área central do pé (área do arco); falange distal dos dedos; lóbulo das orelhas.

A punção transcutânea não deve ser mais profunda que 2 mm.

Em nenhuma hipótese a punção deve ser realizada com agulha, em razão do enorme risco de provocar lesão óssea.

Na falange distal, a distância entre a superfície da pele e o osso em crianças menores de 1 ano de idade varia de 1,2 a 1,5 mm. Portanto, o osso pode ser atingido com lancetas, e complicações, como gangrena ou infecção local, podem ocorrer.

O choro excessivo do paciente pode afetar adversamente a concentração de alguns constituintes (contagem de leucócitos e gases capilares).

Hora de praticar. Vamos resolver uma questão.



(Prefeitura de Fortaleza - CE - 2016) Para todos os recém-nascidos e lactentes, a melhor opção para obtenção de sangue é por meio da microcoleta por punção capilar. Em que outras situações essa via também pode ser utilizada?

A) Mulheres grávidas.

B) Pacientes em coma.

C) Pacientes com queimaduras extensas.

D) Crianças acima de 1 (um) ano de idade.

Comentários:

Letra A: errada. Não há indicação para mulheres gestantes realizarem coleta por punção capilar.

Letra B: errada. Na ausência de outras complicações que prejudiquem o acesso venoso, a coleta de pacientes em coma pode ser realizada por venopunção.

Letra C: correta. Em casos de pacientes com queimaduras extensas é indicada a punção capilar para coleta de sangue, pois o acesso venoso é muito difícil. **Este é o nosso gabarito**.

Letra D: errada. Na ausência de outras complicações, o sangue de crianças pode ser coletado através da venopunção. Em caso de veias de pequenos calibres, pode-se usar o escalpe.

Agora vamos tratar do último tópico relacionado a amostras, vamos falar sobre coleta arterial para realização de gasometria.

2.5 – Coleta arterial para gasometria

A coleta de sangue por **punção arterial** (coleta de sangue de artérias) é utilizada principalmente para a análise de **gasometria arterial ácido-base**. É um tipo de coleta que exige muita habilidade do profissional, que deve ser altamente treinado para executá-la. Os principais locais para punção arterial são, em ordem de preferência: a **artéria radial** no pulso, a **artéria braquial** no cotovelo e a **artéria femoral** na virilha. Em recém-nascidos, pode-se proceder a coleta das artérias do couro cabeludo ou artérias umbilicais, durante as primeiras 24 a 48 horas de vida. Apesar de a coleta arterial ser mais comum, **também é possível realizar o exame de gasometria com sangue venoso**.

O CLSI recomenda o uso de **seringas de plástico** previamente preparadas com anticoagulante apropriado, sendo preferencialmente a heparina liofilizada (50 UI de **heparina lítica** balanceada com cálcio por mL de sangue total). Após a coleta, a seringa pode ser mantida em **temperatura ambiente por no máximo 30 minutos** e a **refrigeração não é indicada**. Em situações nas quais possa ocorrer um atraso superior a 30 minutos para a análise da amostra, é recomendado que se realize a coleta em seringas de vidro que deverão ser conservadas em gelo e água. Tal recomendação se deve ao fato de que o vidro preserva melhor os gases presentes na amostra de sangue em comparação com o plástico.

Ao retirar a agulha, deve-se **comprimir imediatamente o local da punção por 5 minutos** (o local da punção arterial demora mais tempo para parar de sangrar do que sítios de punção venosa). Após a obtenção da amostra arterial ou venosa para gasometria, despreza-se a agulha, esgota-se o ar residual, veda-se a ponta da seringa com o dispositivo oclusor e homogeneíza-se suavemente, rolando a seringa entre as mãos em posição vertical.

Em seguida, o material deve ser encaminhado imediatamente ao laboratório. Durante o **transporte**, a posição preferencial da seringa é a **horizontal**, pois facilita a homogeneização da amostra antes da análise e minimiza a sedimentação das hemácias.

Para finalizar este tópico, vamos resolver a algumas questões sobre coleta arterial.



(Prefeitura de Fortaleza - CE - 2016) Assinale a alternativa correta no que se refere ao único anticoagulante que deve ser utilizado na coleta de sangue arterial para determinação de pH e gases sanguíneos.

A) Fluoreto de sódio.

B) Citrato de sódio.

C) EDTA.

D) Heparina.

Comentários:

O anticoagulante de escolha para a coleta de sangue arterial para determinação do pH e dos gases sanguíneos é a **heparina**. Nenhum dos outros anticoagulantes citados devem ser usados. **Gabarito: alternativa D**.

(NC-UFPR - ITAIPU BINACIONAL - 2019) A coleta de sangue arterial ou venoso para análise de gases sanguíneos requer cuidados na escolha do material a ser utilizado na coleta, na conservação da amostra e no transporte ao laboratório. Sobre a gasometria arterial, assinale a alternativa correta.

A) A seringa pode ser mantida à temperatura ambiente após a coleta, desde que o tempo entre a coleta e a análise não ultrapasse 2 horas.

B) O anticoagulante mais indicado é a heparina de sódio líquida, que não interfere nas dosagens de íons.

C) O local de punção deve ser comprimido por aproximadamente 1 minuto após a coleta, para evitar hematomas.

D) Após a obtenção da amostra, despreza-se a agulha e esgota-se o ar residual antes de se vedar a ponta da seringa.

E) O transporte deve ser realizado em gelo, com a seringa na posição vertical.

Comentários:

Letra A: errada. Após a coleta de sangue para realização de gasometria arterial a seringa pode ficar em temperatura ambiente por no máximo 30 minutos.

Letra B: errada. O anticoagulante indicado é a heparina lítica. A heparina sódica interfere na dosagem de sódio, que é um dos parâmetros avaliados na gasometria.

Letra C: errada. O local onde se realizou a punção arterial deve ser comprimido por 5 minutos.

Letra D: correta. O procedimento apresentado nesta alternativa está correto. **Portanto, este é o nosso gabarito**.

Letra E: errada. Durante o transporte, a posição preferencial da seringa é a horizontal, pois facilita a homogeneização da amostra antes da análise e minimiza a sedimentação das hemácias.

Finalizamos aqui o nosso estudo introdutório sobre amostras de sangue. Ao final deste material eu separei mais algumas questões sobre o tema. Não se esqueçam de praticar bastante.

3 - Equipamentos de laboratório

Dentro de um laboratório clínico existe uma vasta gama de equipamentos com as mais variadas funções. Mas assim como fizemos com o tópico anterior, aqui também vamos focar nos equipamentos de uso geral, deixando as explicações mais detalhadas e a apresentação dos equipamentos mais específicos para as aulas nas quais estudaremos as metodologias nas quais eles são empregados. Vamos começar?

3.1 – Exemplos de equipamentos

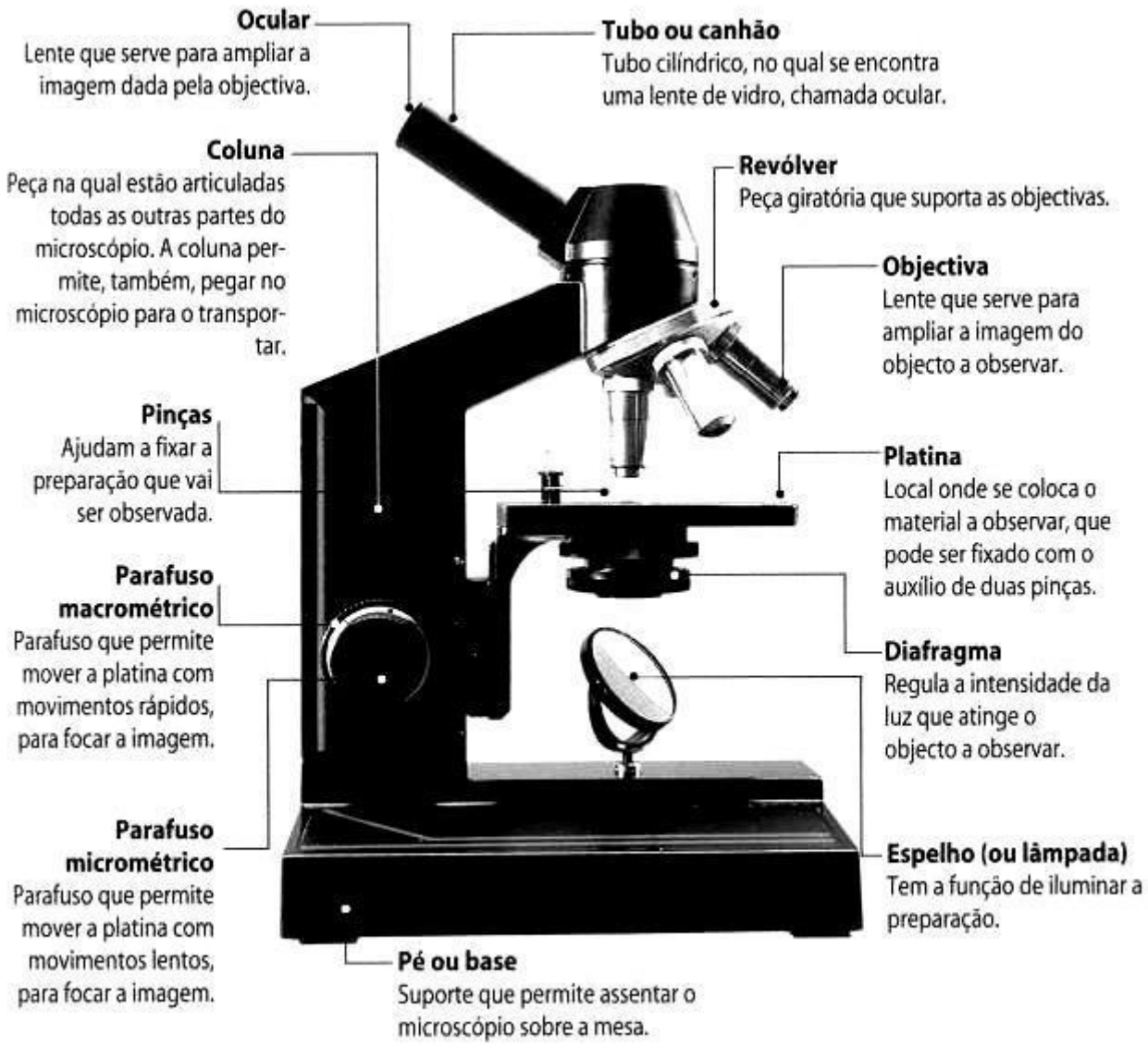
Microscópio óptico



Fonte: https://www.publicdomainpictures.net/pt/view-image.php?image=55603&picture=microscopio

O microscópio óptico, também chamado de microscópio de luz, é um tipo de microscópio que usa luz visível e um sistema de lentes para ampliar imagens de objetos pequenos. A imagem abaixo ilustra as partes de um microscópio óptico:

Vamos conhecer as partes do microscópio?



Fonte: https://pt.m.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Microsc%C3%B3pio_%C3%93ptico.png

Oculares

A ocular, ou lente ocular, é um cilindro que contém duas ou mais lentes inseridas na extremidade superior do tubo do corpo. Sua função é **focar a imagem no olho**. Os valores mais comuns de ampliação para oculares são 5 × e 10 ×.

Tubo

Estrutura que dá **suporte** ao sistema de lentes oculares.

Revólver

O revólver é uma parte giratória que contém o conjunto de lentes objetivas. Permite ao usuário **alternar entre as lentes objetivas**.

Objetivas

Na extremidade inferior de um microscópio óptico existem uma ou mais lentes objetivas (normalmente três) que permitem **ampliar a imagem** do objeto 10x, 40x, 50x, 90x ou 100x. Elas são parafusadas em um revólver circular que pode ser girado para selecionar a lente objetiva necessária. **A objetiva de 100x é denominada objetiva de imersão**, pois é necessário adicionar uma gota de óleo de imersão para observar a amostra através dela.

Platina

A platina é uma plataforma abaixo da lente objetiva que suporta a amostra sendo visualizada. No centro da platina há um orifício através do qual a luz passa para iluminar a amostra.

Macrométrio e micrométrio

Os parafusos de ajuste movem a platina para cima e para baixo para um **ajuste de foco grosseiro** (**macrométrio**) e **fino** (**micrométrio**).

Fonte de luz (lâmpada)

A maioria dos microscópios possui sua própria fonte de luz ajustável e controlável (geralmente uma lâmpada de halogênio), embora a iluminação usando LEDs e lasers esteja se tornando mais comum.

Condensador

O condensador é uma lente projetada para **focalizar a luz** da fonte de iluminação na amostra. O condensador também pode incluir outros recursos, como **diafragma** e/ou filtros, para gerenciar a qualidade e a intensidade da iluminação.

Charriot

Peça acoplada à platina que permite a **movimentação da lâmina**. Não está demonstrado na figura porque está localizado do outro lado.

Braço (coluna)

É um elemento fixo à base do microscópio e tem como função dar **suporte** aos outros elementos.

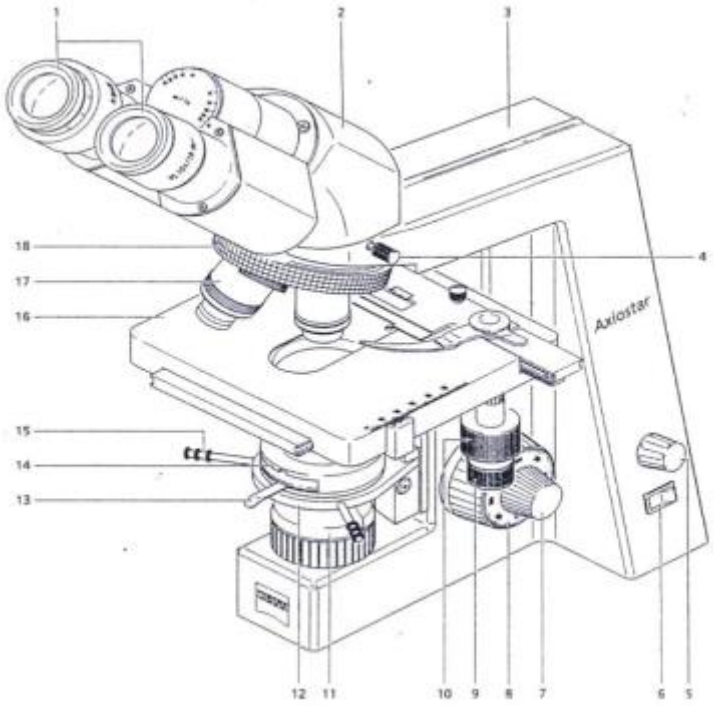
Botão liga/desliga

Botão que permite ligar e desligar a lâmpada. Geralmente se localiza na base do microscópio.

Vamos agora fazer uma questão para fixar o que aprendemos.



(IF-MS - 2019) A imagem abaixo representa um microscópio de luz, que é composto por uma parte mecânica, que serve de suporte; uma parte óptica, que amplia o objeto visualizado, e uma fonte de iluminação, que consiste na luz comum, o que justifica o seu nome.



Fonte: Montanari, 2016.

As seguintes estruturas: braço, interruptor, parafuso macrométrico, lente condensadora (ou condensador), objetivas e revólver correspondem, respectivamente, à seguinte numeração apresentada na imagem:

A) 3, 6, 8, 14, 17 e 18.

B) 2, 5, 7, 13, 4 e 16.

C) 4, 5, 9, 11, 13 e 14.

D) 2, 7, 10, 1, 14 e 16.

E) 16, 5, 10, 15, 1 e 12.

Comentários:

A sequência correta é **3, 6, 8, 14, 17 e 18**. Logo, o gabarito é a **alternativa A**.

(INSTITUTO AOCP - EBSERH - 2017) O condensador é uma peça do microscópio

A) que possibilita o movimento da platina para melhor focalização da lâmina.

B) responsável por dar suporte às lentes oculares.

C) responsável pela troca de objetiva a ser utilizada.

D) responsável pela focalização da imagem.

E) responsável pelo ajuste de luminosidade e pela projeção de um cone de luz em um espelho, passando pela lâmina até chegar nas objetivas

Comentários:

Letra A: errada. As estruturas que possibilitam o movimento da platina são os parafusos macrométrio e micrométrio.

Letra B: errada. A peça que dá suporte às lentes oculares é o tubo.

Letra C: errada. A troca das objetivas é realizada pela movimentação do revólver.

Letra D: errada. O foco da imagem é obtido pelo ajuste dos parafusos macrométrio e micrométrio, as objetivas permitem a ampliação da imagem e a visualização é feita através das lentes oculares, que também contribuem para a ampliação.

Letra E: correta. Esta é a função do condensador. **Este é o nosso gabarito**.

Segue abaixo um passo a passo sobre como manusear o microscópio:



1. Selecionar a objetiva de menor aumento e baixar a platina completamente. Se o microscópio foi utilizado corretamente anteriormente, deve estar nesta posição.

2. Colocar a lâmina com o objeto a ser visualizado sobre a platina e travar com a pinça.

3. Começar a visualização com a objetiva de menor aumento.

4. Realização do enfoque.

a. Aproximar o máximo possível a lente do objeto a ser visualizado através do ajuste macrométrico. Esse deve ser feito sem olhar diretamente pela ocular, para evitar possíveis danos ao objeto ou à própria lente.

b. Olhando através da ocular, comece a aproximar a amostra da objetiva até que consiga ter uma visualização nítida, com o ajuste micrométrico realizar o enfoque fino.

5. Mude para objetiva seguinte. A imagem deve estar quase focada, se necessário gire o micrométrico para melhorar o enfoque fino. Se ao trocar de objetiva o objeto sumir completamente, é preferível voltar a objetiva anterior e refazer os passos do item 3. A objetiva de 40X enfoca muito próximo da amostra e com isso pode vir a causar acidentes: como contaminar a lente com a amostra em análise se negligenciadas as precauções anteriores ou manchar a lente com o óleo de imersão se a objetiva de 100X já foi utilizada.

6. Utilizar a objetiva com óleo de imersão:

A. Baixe totalmente a platina.

B. Suba totalmente o condensador para visualizar o círculo de luz que indica a zona que irá visualizar e onde irá colocar o óleo de imersão.

C. Gire o revólver até a objetiva de imersão deixando entre a objetiva de 40X e 100X.

D. Coloque uma gota de óleo de imersão sobre o círculo de luz.

E. Termine de girar o revólver, suavemente, até a objetiva de imersão (100X).

F. Olhando diretamente na objetiva, suba a platina lentamente até que a gota de óleo toque a lente. Neste momento é possível notar a gota cobrindo a lente.

G. Com auxílio do ajuste micrométrico, enfocar a amostra cuidadosamente. A distância de trabalho entre a objetiva e a lâmina é mínimo, menor que a distância da objetiva de 40X, por isso o risco de acidente é muito grande.

H. Uma vez colocado o óleo de imersão sobre a amostra, não pode retornar a objetiva de 40X, pois a lente pode vir a ficar manchada. Portanto, se deseja focar outra área é necessário baixar a platina e repetir o processo desde o passo 3.

I. Uma vez finalizada a visualização da amostra deve-se baixar a platina e colocar o revólver na posição da menor objetiva. Neste momento já pode retirar a lâmina da platina. Nunca retire a lâmina com a objetiva de imersão em posição de observação.

J. Limpar a objetiva com cuidado e fazendo uso de um papel especial para limpeza óptica, fazendo uso de álcool-éter ou éter-clorofórmio.

Fonte: https://kasvi.com.br/manuseio-microscopio/

Vamos praticar resolvendo à questão que se segue.



(Prefeitura de Fortaleza - CE - 2018) Após uso do microscópio, obrigatoriamente, deve-se efetuar a limpeza das lentes (objetivas e oculares) preferencialmente com as soluções:

A) água-éter ou água-clorofórmio.

B) álcool-éter ou éter-clorofórmio.

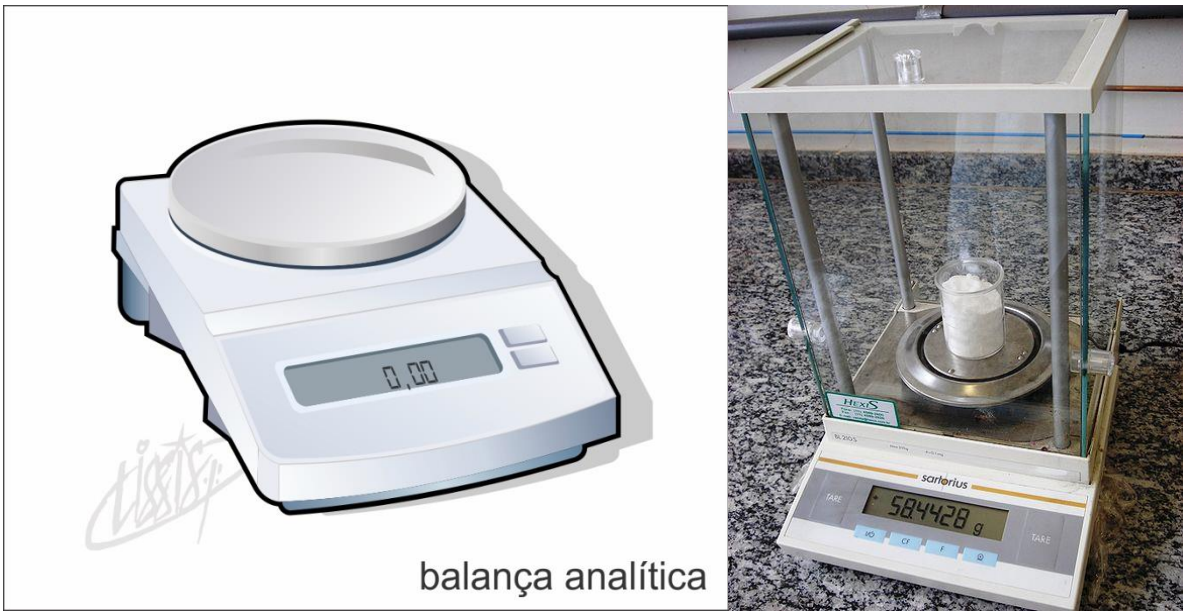
C) álcool-clorofórmio ou ácido acético 1%.

D) água destilada ou água deionizada.

Comentários:

As soluções mais indicadas para a limpeza das lentes do microscópio são o álcool-éter ou o éter-clorofórmio.
Gabartio: alternativa B.

Balança



Fontes: http://www.vidrariadelaboratorio.com.br/wp-content/uploads/2012/11/vidrarias-e-equipamentos-balanca-analitica.jpg
https://pt.m.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Balance-NaCl-1mol.jpg

É um equipamento usado no laboratório para **determinar o peso ou a massa** de uma amostra. Pode ou não conter uma cabine (demonstrada na figura à direita).

Como a balança é muito sensível, antes de usá-la, deve-se conferir se não há nenhum fluxo de ar no laboratório, pois o **vento pode interferir na pesagem**. A balança deve ser nivelada e **tarada** (**zerada**) antes de se pesar o objeto ou substância em questão. Se for necessário o uso de um recipiente para acomodar a substância a ser pesada, este recipiente deve ser colocado na balança antes de se apertar o botão "tara". Após se concluir a pesagem, deve-se retirar o recipiente com a substância, zerar a balança novamente e, em seguida, desligá-la.

HORA DE PRATICAR!

(UFSC - 2019) Analise as afirmativas abaixo sobre o uso da balança analítica e assinale a alternativa correta.

I. O nivelamento da balança não altera a precisão dos valores encontrados.

II. Os produtos aferidos na balança não devem ser transferidos com os dedos, mas sim com o auxílio de espátulas ou instrumentos similares.

III. O botão "tara" da balança permite maior precisão, pois o número de casas decimais na unidade de medida será aumentado.

A) Somente a afirmativa III está correta.

B) Somente a afirmativa II está correta.

C) Somente as afirmativas I e II estão corretas.

D) Somente as afirmativas I e III estão corretas.

E) Somente as afirmativas II e III estão corretas.

Comentários:

I: errada. O nivelamento da balança altera a precisão dos valores encontrados.

II: certa. Deve-se transferir produtos para a balança com o auxílio de uma espátula.

III: errada. A função "tara" é usada para zerar a balança, não altera o número de casas decimais.

Logo, somente a afirmativa II está correta.

Gabarito: alternativa B.

Capela de fluxo laminar





Fontes: http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1186&evento=6
https://en.wikipedia.org/wiki/File:Laminar_flow_hood_2.jpg

É uma plataforma fechada, projetada para **evitar a contaminação de amostras biológicas, reagentes ou soluções** que estão sendo manipuladas em seu interior. O ar é aspirado através de um filtro de ar modelo HEPA (*High Efficiency Particulate Arrestance*) e soprado em um fluxo laminar suave em direção ao usuário. Devido à direção do fluxo de ar, **a amostra é protegida do usuário, mas o usuário não é protegido da amostra**.

Antes de usar a capela de fluxo laminar, deve-se descontaminar a sua superfície interior com gaze estéril embebida em álcool etílico ou isopropílico a 70% e ligar a cabine e a luz UV em torno de 10 a 15 minutos. É importante o uso de equipamentos de proteção individual (como jaleco e luvas) ao manipular amostras ou produtos dentro da capela.



(UFSC - 2019) Analise os procedimentos de uso, cuidados e manutenção de capelas de fluxo laminar listados abaixo e assinale a alternativa correta.

I. Descontaminar a superfície interior com gaze estéril embebida em álcool etílico ou isopropílico a 70%.

II. Ligar a cabine e a luz UV em torno de 10 a 15 minutos antes de iniciar o seu uso.

III. Usar a chama do bico de Bunsen dentro da capela, esterilizando os equipamentos e acessórios utilizados nos procedimentos.

IV. Não utilizar jaleco de manga longa e luvas, pois são desnecessários nos procedimentos realizados na capela de fluxo laminar.

A) Somente os itens III e IV estão corretos.

B) Somente os itens I e IV estão corretos.

C) Somente os itens I e II estão corretos.

D) Somente os itens I, II e III estão corretos.

E) Somente o item III está correto.

Comentários:

I: certa. Antes de usar a capela de fluxo laminar, deve-se descontaminar a sua superfície interior com gaze estéril embebida em álcool etílico ou isopropílico a 70%.

II: certa. Antes de usar a capela de fluxo laminar, deve-se ligar a cabine e a luz UV em torno de 10 a 15 minutos.

III: errada. Não se deve usar bico de Bunsen na capela de fluxo laminar, pois tal prática pode acarretar em danos ao filtro HEPA e mal funcionamento do fluxo laminar de ar.

IV: errada: É importante o uso de equipamentos de proteção individual (como jaleco e luvas) ao manipular amostras ou produtos dentro da capela.

Logo, somente os itens I e II estão corretos.

Gabarito: alternativa C.

Centrífuga



Fontes: https://pixabay.com/es/photos/centrifugadora-medico-prp-3291253/
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Laboratory_centrifuge.jpg



Fontes: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Centrifuga_Hermle_1.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Centrifuga_Hermle_2.jpg

Aparelho acionado por motor, que **gira amostras líquidas em alta velocidade**. As centrífugas funcionam de acordo com o princípio da **sedimentação**, onde a aceleração centrípeta é usada para separar

substâncias de maior e menor densidade. As centrífugas podem ter diversos tamanhos e capacidades de acomodação de amostras.

Autoclave





Fontes: http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1167&evento=6
https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Autoclave(1).JPG

Uma **autoclave** é uma câmara de pressão usada para executar processos industriais e científicos que exigem temperatura e pressão elevadas, diferentes da pressão do ar ambiente. O **calor úmido** e a **pressão elevada** no interior das autoclaves são os fatores que promovem a **esterilização** (eliminação de microrganismos). Por este motivo, o processo realizado em uma autoclave é denominado de **esterilização por calor úmido**.

A autoclave é composta pelos seguintes **componentes básicos**:

- **Cilindro metálico resistente**, que pode ser vertical ou horizontal. A resistência que realiza o processo de aquecimento da água geralmente é encontrada neste cilindro;
- **Tampa com parafusos de orelhas**, que permite que a autoclave seja fechada hermeticamente;
- **Válvulas de ar e de segurança**;
- **Chave de comando**, que permite o controle da temperatura;
- **Registro** indicador da pressão e da temperatura.

HORA DE PRATICAR!

(MACHADO DE ASSIS - Pref. Caxias/MA – 2018) Marque V(verdadeiro) ou F(falso) e assinale a alternativa correspondente.

Os componentes básicos de uma autoclave são:

( ) Cilindro metálico resistente

( ) Tampa com parafusos de orelhas

( ) Válvulas de ar e de segurança

( ) Chave de comando

( ) Registro indicador de pressão e temperatura

A) V – F – F – V – V

B) V – F –V – V – F

C) V – V –V – F – V

D) V – V –V – V – V

Comentários:

A questão cobra o conhecimento sobre um equipamento de laboratório chamado autoclave, que é utilizado para realizar esterilização por calor úmido.

A autoclave é composta pelos seguintes componentes básicos:

- Cilindro metálico resistente;
- Tampa com parafusos de orelhas;
- Válvulas de ar e de segurança;
- Chave de comando;
- Registro indicador da pressão e da temperatura.

Logo, todas as afirmativas são verdadeiras, e a sequência correta da resposta é **V–V–V–V–V**.

Gabarito: Letra D.

Estufa de esterilização







Fontes: http://www.vidrariadelaboratorio.com.br/wp-content/uploads/2012/11/vidrarias-e-equipamentos-estufa.jpg
https://www.flickr.com/photos/northcoastoutfitters/8291519767/
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Autoclave_de_laboratorio.jpg

A função da **estufa de esterilização** é promover a eliminação de microrganismos nos objetos colocados em seu interior, através do calor seco, que promove a eliminação dos microrganismos por meio da oxidação e desidratação das células. O processo que ocorre na estufa de esterilização é denominado **esterilização por calor seco**.

HORA DE PRATICAR!

(IBFC - Prefeitura de Divinópolis - MG - 2018) O uso correto de equipamentos laboratoriais proporciona maior segurança ao técnico durante a realização das técnicas de diagnóstico. Relacione corretamente os itens I, II, III e IV com os itens A, B C e D.

I. Equipamento que acelera o processo de sedimentação.

II. Equipamento usado para a manipulação de agentes biológicos, produção de diluentes e imunobiológicos, meios de cultura e diversos materiais que precisam ser processados em ambiente estéril.

III. Equipamento utilizado para esterilizar objetos através de calor úmido combinado com pressão.

IV. Equipamento utilizado para a observação morfológica de células.

A. Microscópio.

B. Centrífuga.

C. Fluxo laminar.

D. Autoclave.

Assinale a alternativa que relaciona corretamente os itens.

A) I-A; II-B; III-C; IV-D

B) I-B; II-D; III-C; IV-A

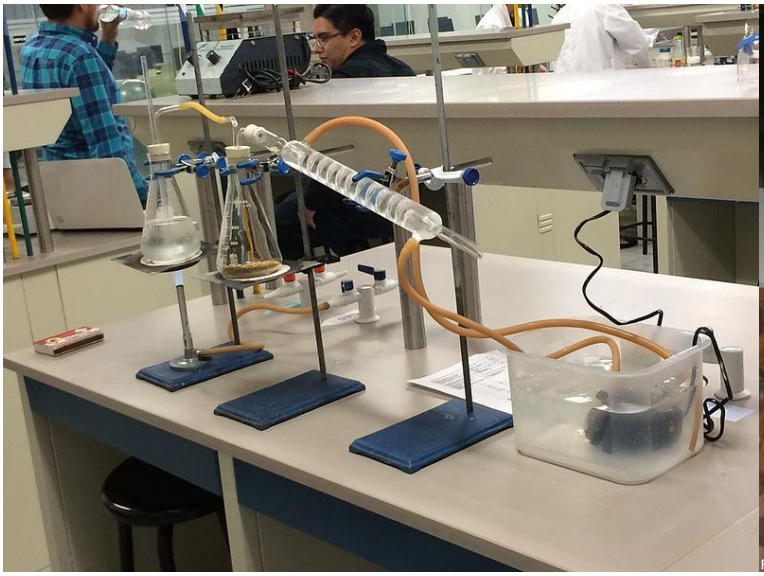
C) I-B; II-C; III-D; IV-A

D) I-C; II-D; III-B; IV-A

Comentários:

A sequência correta é I-B; II-C; III-D; IV-A. **Gabarito: alternativa C**.

Destilador de água







Fontes: https://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Extracci%C3%B3n_de_aceite_de_Neem_por_arrastre_de_vapor.jpg
http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1204&evento=6
http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1205&evento=6

Água destilada é a **água que foi fervida em vapor e condensada novamente em líquido em um recipiente separado**. As impurezas na água original que não fervem abaixo ou perto do ponto de ebulição da água permanecem no recipiente original. Assim, a destilação é um tipo de processo de purificação da água. A água destilada é pura, é praticamente livre de microrganismos e matéria orgânica e possui pH próximo de 7.

A imagem à esquerda representa um destilador clássico, do tipo que vemos nos laboratórios de química das escolas e também nos livros didáticos. Os destiladores à direita são os tipos mais usados nos laboratórios clínicos e se denominam **destiladores de água do tipo Pilsen**.

Deionizador de água



Fontes: http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1197&evento=6
http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1198&evento=6

A **deionização** é um processo que **remove quase todos os íons minerais da água** (partículas carregadas eletricamente), como **cátions** (**partículas com carga positiva**) como sódio, cálcio, ferro e cobre, e **ânions** (**partículas com carga negativa**) como cloreto e sulfato. Como resultado, obtém-se uma água quimicamente pura com baixa condutividade (similar à água bidestilada).

Osmose reversa



Fontes: http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1162&evento=6
http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1163&evento=6

Osmose reversa é um processo de **purificação de água** que utiliza uma membrana parcialmente permeável para remover íons, moléculas indesejadas e partículas maiores da água potável. O funcionamento destes equipamentos se dá através da aplicação de uma pressão maior que a pressão osmótica, o que **força o solvente (água) a passar do meio hipertônico (mais concentrado) para o meio hipotônico (menos concentrado)**. Este movimento da água é oposto ao que ocorre na osmose, por este motivo o processo se chama osmose reversa.



Filtração

Além da destilação, da deionização e da osmose reversa, a **filtração** também é um processo empregado na **purificação da água**, utilizada não só em laboratórios, como também em estações de tratamento de água e até em residências. Trata-se de um **método físico** para separar sólidos dispersos em líquidos ou gases (misturas heterogêneas). A filtração pode ser de dois tipos: **simples** ou **a vácuo**.

A **filtração simples** geralmente é realizada com um **papel filtro** encaixado em um funil (semelhante ao processo de fazer café). No entanto, outros materiais também podem ser usados no processo de filtração, como a **areia** e o **carvão ativado**, que realiza **adsorção orgânica** (por ser poroso, o carvão retém as impurezas da solução em seu interior).

Na **filtração a vácuo**, a diferença é que é aplicada uma **baixa pressão** no interior do recipiente que irá coletar a solução após a filtração, este vácuo promove uma sucção que faz com que o processo ocorra mais rapidamente.

Banho-maria





Fontes: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Circulating_water_bath_2015.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Shaking_water_bath_2015.JPG

O **banho-maria** tem a função de **aquecer de forma lenta e uniforme** substâncias líquidas e sólidas colocadas em um recipiente em seu interior.

Capela de exaustão de gases







Fontes: https://en.wikipedia.org/wiki/Fume_hood#/media/File:Ducted_Fume_Hood.jpg
http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1185&evento=6
http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1184&evento=6

A principal função da **capela de exaustão de gases** é a **eliminação de gases e vapores**, mas ela também funciona como uma **barreira física entre o laboratório e as reações químicas** que ocorrem em seu interior. Dessa forma, este equipamento promove a **proteção dos usuários** a gases nocivos, derramamento de produtos tóxicos e fogo.

Agitador magnético






Fontes: http://www.vidrariadelaboratorio.com.br/wp-content/uploads/2012/11/vidrarias-e-equipamentos-agitador-magnetico3.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/File:Heidolph_Hei-End_Hotplate.jpeg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:RCT_basic_IKAMAG%C2%AE_safety_control_magnetic_stirrer.jpg

Através da agitação, o **agitador magnético** promove a **mistura e homogeneização de soluções líquidas**.

Agitador vórtex



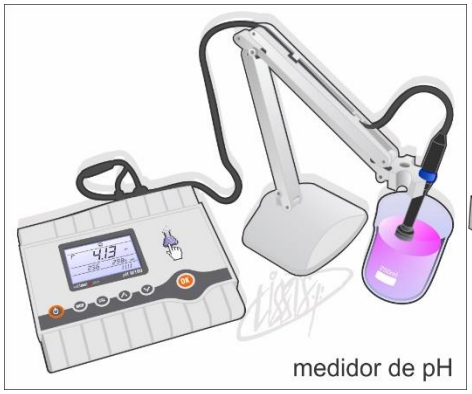


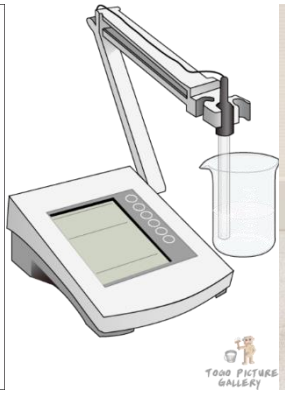


Fontes: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Vortex_mixer.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Vortex_biologie.JPG
https://www.flickr.com/photos/cdepaz/2421003687

O **agitador do tipo vórtex** tem a função de **homogeneizar líquidos** contidos em tubos de ensaio, frascos pequenos e microplacas.

Potenciômetro/pHmetro








Fontes: http://www.vidrariadelaboratorio.com.br/wp-content/uploads/2012/11/vidrarias-e-equipamentos-medidor-de-pH.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:PH_meter_togopic.png
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:PH_Meter.jpg
http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1254&evento=6

Equipamento que mede a atividade de íons hidrogênio em soluções líquidas, **indicando sua acidez ou alcalinidade, expressa como pH**.

Citômetro de fluxo




Fontes: https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:FACS-toestel.JPG
http://www.icb.usp.br/~imunoicb/?page_id=295

O citômetro de fluxo é utilizado para realização de **citometria de fluxo**, que é uma **técnica usada para detectar e medir características físicas e químicas de uma população de células ou partículas**, o que auxilia na identificação destas células.

Espectrofotômetro





Fontes: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thermo_Nicolet_iS10_FT-IR_spectrophotometer.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Spectrophotometer_Model_1.JPG
https://www.flickr.com/photos/gtzecosan/4369784099

O espectrofotômetro é utilizado para a realização da **espectrofotometria**, que é uma **metodologia de análise óptica** amplamente utilizada no laboratório clínico para a investigação de amostras biológicas e físico químicas. A metodologia tem como base a **medida quantitativa da luz que é absorvida pelas soluções**, sendo a **concentração de determinada substância na solução proporcional à quantidade de luz absorvida**. Estudaremos essa técnica mais a fundo mais adiante nesta aula.

Termociclador





Fontes: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thermal_cycler.png
https://de.m.wikipedia.org/wiki/Datei:Biometra_TAdvanced.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Wiki21039727.jpg

O **termociclador** é um aparelho utilizado para **amplificar segmentos de DNA via reação em cadeia da polimerase (PCR)**, uma técnica de **Biologia Molecular**. Ele funciona através da repetição de ciclos de alteração da temperatura.



(CESPE - EBSERH - 2018/adaptada) No que tange a procedimentos e a diversos equipamentos utilizados em laboratórios clínicos, julgue os itens seguintes.

I. O espectrofotômetro é um equipamento utilizado para realizar a quantificação da fluorescência absorvida ou transmitida por uma amostra laboratorial.

II. O termociclador é um equipamento imprescindível para a amplificação do DNA pela reação em cadeia da polimerase (PCR), pois controla precisamente a temperatura, o tempo em que ocorrem as etapas e o número de ciclos.

A) Ambas as alternativas estão corretas.

B) Ambas as alternativas estão erradas.

C) Apenas a alternativa I está correta.

D) Apenas a alternativa II está correta.

Comentários:

I: errada. O espectrofotômetro realiza a quantificação de substâncias a partir da absorção da luz pela solução, e não através de fluorescência.

II: correta. A descrição do funcionamento do termociclador está correta.

Logo, apenas a alternativa II está correta.

Gabarito: alternativa D.

Terminamos de estudar os principais equipamentos usados no laboratório. No próximo tópico iremos estudar as principais metodologias empregadas no laboratório clínico.

4 - Métodos Laboratoriais Aplicados ao Diagnóstico

Os principais métodos laboratoriais são testes químicos usados para auxiliar no estabelecimento de diagnósticos e acompanhamento de patologias. Assim sendo, são de extrema importância para a medicina hospitalar, que irá usar os resultados destes testes para direcionar a escolha do tratamento mais adequado para cada paciente.

Dentre as **técnicas** mais utilizadas no laboratório clínico, pode-se citar a espectrofotometria, a quimioluminescência, a eletroforese, a turbidimetria, a fotometria de chama e o eletrodo de íon seletivo.

Como já vimos anteriormente nesta aula, a amostra mais utilizada no laboratório clínico é o **soro**, seguido do **plasma**, mas outros fluidos biológicos também podem ser analisados, como o sangue total, a urina, as secreções (saliva, suor e sêmen), as fezes e os líquidos corporais e cavitários (líquor, líquido sinovial, etc).

Antes de iniciarmos o estudo dos métodos analíticos propriamente ditos, é importante revisar alguns conceitos que devem estar bem sedimentados, pois frequentemente são cobrados em prova.



Amostra - Fração de tecido ou líquido coletado para realização de exame, estudo ou análise. Ex: amostra de sangue, amostra de urina, etc.

Analito - Um soluto dissolvido em uma solução que é medida em um laboratório, também chamado de mensurando. Trata-se da substância que é analisada em um procedimento analítico. Ex: glicose, albumina, etc.

Branco - Uma solução usada na fotometria/espectrofotometria que é idêntica às soluções calibradoras ou desconhecidas, exceto pela substância a ser medida.

Branco de amostra - Utilizado para descontar a cor inicial da amostra na fotometria/espectrofotometria.

Branco da reação - Utilizado para zerar a cor inicial do reagente na fotometria/espectrofotometria.

Solução padrão - Solução cuja concentração é conhecida.

Soro controle - Produto composto de soro humano liofilizado contendo vários analitos, cujas concentrações foram ajustadas para níveis normais. Tem a finalidade de servir como amostra controle no controle interno de qualidade laboratorial.

Água destilada - Água que foi fervida em vapor e condensada novamente em líquido em um recipiente separado. As impurezas na água original que não fervem abaixo ou perto do ponto de ebulição da água permanecem no recipiente original. Assim, a água destilada é um tipo de água purificada.

Água grau reagente tipo I - A água com a melhor qualidade possível de ser obtida com a tecnologia atual de tratamento e purificação de água (água de qualidade ideal). Usada em métodos de análise que requeiram mínima interferência e máximas precisão e exatidão, preparação de soluções-padrão e de soluções tampão, processos onde a presença de microrganismos deve ser mínima.

Reagente - Substância química utilizada em muitas aplicações de alta pureza.

Calibração - Em relação aos métodos analíticos, uma função que descreve a relação entre o sinal do instrumento e a concentração do analito.

Exatidão - É a proximidade de concordância entre o resultado de uma medição e a verdadeira concentração do analito.

Precisão - É a proximidade de concordância entre resultados independentes de medições obtidas sob condições estipuladas.

Linearidade - Relação entre valores medidos e esperados no decorrer da faixa de medidas analíticas.

Sensibilidade clínica - A proporção de indivíduos com a doença que possuem resultados de teste positivo.

Especificidade clínica - A proporção de indivíduos sem a doença que possuem resultados de teste negativos.

Sensibilidade analítica - Habilidade de um método analítico de avaliar pequenas variações na concentração do analito.

Especificidade analítica - Habilidade de um procedimento de ensaio determinar especificamente a concentração do analito-alvo na presença de substâncias ou fatores potencialmente interferentes na matriz amostral.

Intervalo de referência - Uma série de valores normalmente definidos por um limite de referência superior e um limite de referência inferior, representando uma proporção definida da população de referência; em geral, são os principais 95% dos valores da população de referência.

Fonte: Tietz, 2016

Após esta breve introdução, vamos discutir sobre os métodos laboratoriais que mais são cobrados em provas de concurso e vamos praticar com a resolução de muitas questões.

4.1 - Fotometria

A **fotometria** é o estudo do fenômeno de **absorção de luz** por moléculas em solução. A especificidade de um composto para absorver a luz em um comprimento de onda específico é útil em medições quantitativas. Quando um feixe de luz de comprimento de onda específico é passado através de uma solução, uma certa **quantidade de luz é absorvida pela solução** (**absorbância** ou **absorvância**) e, consequentemente, a **intensidade da luz que sai da solução** (**transmitância**) diminui.

O fenômeno da absorção da luz por uma solução segue a **lei de Lambert-Beer**. A lei da **Beer** declara que a **quantidade de luz transmitida diminui exponencialmente com o aumento da concentração** do meio absorvente. A lei de **Lambert** afirma que a **quantidade de luz transmitida diminui exponencialmente com o aumento da espessura** do meio absorvente. Em outras palavras, quanto mais concentrado ou quanto mais espesso for o meio absorvente, maior será a absorbância (mais luz será absorvida) e menor será a transmitância (menos luz será transmitida).

A fotometria é a técnica analítica mais comum usada no laboratório clínico, sobretudo no setor de bioquímica. Ela foi projetada para **medir a intensidade de um feixe de luz**. Os princípios fotométricos são aplicados aos vários tipos de técnicas analíticas onde a luz **emitida**, **absorvida** ou **transmitida** é medida. Exemplos de técnicas fotométricas são: colorimetria, espectrofotometria, quimioluminescência, nefelometria, turbidometria e fotometria de chama.

O grau de absorção da luz por um soluto de concentração desconhecida é proporcional ao grau de absorção da luz pelo mesmo soluto em uma solução de concentração conhecida (solução padrão ou soro controle). A substância de concentração desconhecida é medida comparando-se com a mesma substância em outra solução de concentração conhecida.



Quando a luz incide sobre uma solução, parte dessa luz será absorvida, parte será transmitida e parte será refletida. A **absorbância** (ou **absorvância**) é a **capacidade da solução de absorver a luz**, correspondente à fração luminosa que será absorvida por determinada solução ou material. A **transmitância** pode ser definida como a **capacidade de transmitir luz** e corresponde à a fração da energia luminosa que consegue atravessar uma determinada espessura de um material ou solução, sem ser absorvida.

De acordo com a **lei de Lambert-Beer**, a intensidade da luz absorvida aumenta exponencialmente à medida que a espessura do meio absorvente aumenta aritmeticamente. Em outras palavras, **quanto maior a distância que a luz percorrer, mais luz será absorvida**.

Além disso, a transmissão é inversamente proporcional à concentração da solução e inversamente proporcional ao caminho ótico percorrido pela radiação. Ou seja, **a transmissão diminui quando a concentração da solução e/ou o caminho ótico percorrido aumentam**.

A lei de Lambert-Beer deve obedecer a alguns requisitos, a saber:

1. As partículas presentes na amostra devem absorver a luz de forma independente entre si.

2. O meio absorvente deve ser homogêneo e não dispersar a radiação

3. A radiação incidente precisa estar na forma colimada (raios paralelos entre si) e deve atravessar a mesma distância enquanto interage com as partículas presentes na solução.

4. A radiação precisa ser do tipo monocromática, ou seja, deve ser composta por um único comprimento de onda, que geralmente corresponde ao comprimento de onda para o qual a absorbância da espécie em estudo é máxima.

5. O fluxo de radiação incidente não deve promover a desestabilização dos átomos, moléculas ou íons, como a excitação eletrônica que origina fluorescência ou fosforescência.

Fonte: Lima, 2013

Vejamos como este conteúdo é cobrado nas provas.



(COMPERVE/UFRN - Pref. Natal/RN - 2018) No laboratório clínico são utilizados diversos equipamentos que usam a medida da energia eletromagnética como princípio físico para detecção e quantificação de substâncias em solução. A Lei de Lambert-Beer estabelece uma relação entre a absorbância de uma solução e a sua concentração, quando atravessada por uma radiação luminosa monocromática colimada. A Lei de Lambert-Beer determina que

A) a absorção é diretamente proporcional ao caminho ótico percorrido pela radiação aplicada na amostra.

B) a transmissão é inversamente proporcional à concentração da solução e diretamente proporcional ao caminho ótico percorrido pela radiação.

C) o meio absorvente deve ser homogêneo, dispersar a radiação, e as partículas presentes na amostra devem absorver a luz de forma independente entre si.

D) o fluxo de radiação incidente deve promover a desestabilização dos átomos, moléculas ou íons, originando a fluorescência da amostra.

Comentários:

Letra A: correta. Exatamente! Quanto maior a distância percorrida pela radiação, maior a absorção, e vice-versa. **Este é o nosso gabarito**.

Letra B: errada. A transmissão é inversamente proporcional à concentração da solução e **INVERSAMENTE proporcional** ao caminho ótico percorrido pela radiação. Quanto maior a concentração da solução e o caminho ótico percorrido, menor a transmissão.

Letra C: errada. O meio absorvente deve ser homogêneo, **NÃO dispersar a radiação**, e as partículas presentes na amostra devem absorver a luz de forma independente entre si.

Letra D: errada. O fluxo de radiação incidente **NÃO deve promover a desestabilização dos átomos**, moléculas ou íons, como a excitação eletrônica que origina fluorescência ou fosforescência da amostra.

(COMPERVE/UFRN - Pref. Natal/RN - 2018) A dosagem de glicose no sangue ou glicemia é um dos exames usados para a triagem de diabetes mellitus. A técnica mais comum para dosagem de glicose é o método enzimático. Nesta reação, a glicose oxidase catalisa a molécula de glicose gerando ácido glicônico e H_2O_2. Este último reage com 4-aminoantipirina e o fenol, formando um complexo de cor vermelha cuja absorbância medida em 500 nm é diretamente proporcional à concentração de glicose na amostra. Considere que uma amostra de soro de um paciente apresentou absorbância de 0,208 enquanto que a absorbância do padrão de glicose na concentração de 100mg/dL foi de 0,222. A concentração de glicose desse paciente é de

A) 46,8mg/dL.

B) 94 mg/dL.

C) 208 mg/dL.

D) 222 mg/dL.

Comentários:

A reação apresentada no enunciado obedece à lei de Lambert-Beer. Logo, podemos dizer que as reações do padrão e da amostra são comparáveis. Assim sendo, podemos resolver essa questão com regra de três.

O padrão de glicose com concentração de 100 mg/dL apresentou absorbância de 0,222.

A amostra de soro de concentração desconhecida apresentou absorbância de 0,208.

Vamos chamar a concentração desconhecida da amostra de "C".

0,222 está para 100 assim como 0,208 está para C

0,222 ____ 0,208

100 _____ C

$C = \frac{0{,}208 \times 100}{0{,}222}$

$C = 93{,}69$

Arredondando o resultado, temos 94 mg/dL.

Gabarito: letra B.

Agora veremos diferentes técnicas fotométricas empregadas no laboratório clínico.

4.1.1 - Colorimetria

A **colorimetria** é uma técnica usada para determinar a **concentração de compostos coloridos** (analitos) na solução da amostra no **espectro visível da luz** (400 - 680 nm). As soluções coloridas têm a propriedade de absorver luz em certo comprimento de onda quando uma luz monocromática passa através delas. A quantidade de luz absorvida ou transmitida por uma solução colorida está de acordo com a **lei de Lambert- Beer**, ou seja, a **quantidade de cor deve ser diretamente proporcional à concentração** do analito na amostra.

Nas reações colorimétricas, que são realizadas em aparelhos denominados **colorímetros**, é necessário preparar três soluções: branco, padrão e teste. O **branco** é usado para **compensar/anular qualquer cor não específica** (da amostra ou dos reagentes). A **solução padrão** de concentração conhecida da substância **permite o cálculo da concentração do analito na solução teste**. A **solução de teste** é feita ao **misturar um volume específico da amostra a ser analisada com reagentes**, conforme um procedimento pré-definido.

Um comprimento de onda característico do espectro de absorção é isolado da luz que passa pelo monocromador do filtro. A solução com substância colorida é mantida em uma cubeta que permite que a substância absorva luz.

4.1.2 - Espectrofotometria

A **espectrofotometria**, realizada em um aparelho denominado **espectrofotômetro**, é a medição da **intensidade da luz em comprimentos de onda selecionados** (entre o **ultravioleta** e o **infravermelho**). Trata-se do método de análise óptica mais utilizado nas análises químicas, biológicas e físico-químicas. Esta técnica permite **comparar a radiação absorvida em função da luz transmitida**, levando-se em consideração que todas as substâncias podem absorver energia radiante. O grau de **absorção da radiação eletromagnética depende da concentração do soluto** em solução.



ESCLARECENDO!

Qual a diferença entre colorimetria e espectrofotometria?

A **colorimetria** é capaz determinar a concentração de analitos apenas no **espectro visível da luz** (400 - 680 nm).

A **espectrofotometria** é capaz de medir a intensidade da luz em comprimentos de onda **entre o ultravioleta e o infravermelho**.

Logo, reações colorimétricas podem ser realizadas em espectrofotômetros, pois o comprimento de onda abrangido por este aparelho é mais amplo que o do colorímetro.



HORA DE PRATICAR!

(VUNESP - SAAE-SP - 2014) Os ensaios que utilizam luz na faixa visível e UV (ultravioleta), permitindo medir e comparar a quantidade de luz absorvida por uma determinada solução, são realizados no equipamento denominado

A) micrômetro.

B) microscópio.

C) espectrofotômetro.

D) condutivímetro.

E) fotômetro de chama.

GABARITO: C

Comentários:

Letra A: errada. O micrômetro é um dispositivo utilizado para medição precisa.

Letra B: errada. O microscópio é um instrumento usado para ver objetos pequenos demais para serem vistos a olho nu.

Letra C: correta. O espectrofotômetro realiza análises baseadas na absorção da radiação nos comprimentos de onda entre o ultravioleta e o infravermelho. **Este é o nosso gabarito**.

Letra D: errada. O condutivímetro é o instrumento que mede a condutividade elétrica em uma solução.

Letra E: errada. O fotômetro de chama permite a realização de uma análise química para determinar a concentração de certos íons metálicos, entre eles sódio, potássio, lítio e cálcio. Trata-se de uma técnica simples baseada na espectrometria atômica.

(VUNESP - UNESP - 2015) A análise colorimétrica, que utiliza como equipamento o colorímetro, permite determinar a concentração de substâncias, baseando-se na de lei de

A) Lambert-Beer.

B) Gay-Lussac.

C) Ação das massas.

D) Lewis.

E) Nernst.

Comentários:

Letra A: correta. Conforme estudamos, na colorimetria a quantidade de luz absorvida ou transmitida por uma solução colorida está de acordo com a **lei de Lambert- Beer**. A lei da **Beer** declara que a quantidade de luz transmitida diminui exponencialmente com o aumento da concentração do meio absorvente. A lei de **Lambert** afirma que a quantidade de luz transmitida diminui exponencialmente com o aumento da espessura do meio absorvente. **Este é o nosso gabarito**.

Letra B: errada. A lei de Gay-Lussac afirma que a pressão de uma dada massa de gás varia diretamente com a temperatura absoluta do gás, quando o volume é mantido constante.

Letra C: errada. A lei da ação das massas é a proposição de que a taxa de uma reação química é diretamente proporcional ao produto das atividades ou concentrações dos reagentes.

Letra D: errada. Estruturas de Lewis são diagramas que mostram a ligação entre os átomos de uma molécula e os pares solitários de elétrons que podem existir na molécula.

Letra E: errada. A equação de Nernst é uma equação que relaciona o potencial de redução de uma reação eletroquímica com o potencial padrão do eletrodo, temperatura e atividades das espécies químicas que sofrem redução e oxidação.

4.1.3 - Quimioluminescência

Os **ensaios quimioluminescentes** são **reações colorimétricas com anticorpos**. Estes ensaios empregam anticorpos marcados com fosfatase alcalina que hidrolisam um substrato quimioluminescente (luminol, isoluminol, luciferina). A leitura da reação é feita em aparelhos denominados **luminômetros**.

4.1.4 - Nefelometria

A **nefelometria** é uma das técnicas para medir o conteúdo de **partículas em suspensão** ou a **turbidez** de um meio (gasoso ou líquido, respectivamente). Consiste em **medir a luz dispersa** em um ângulo

de 90º em relação à luz incidente. O instrumento usado para fazer as medições é o **nefelômetro**. Geralmente consiste em uma fonte de luz branca ou luz infravermelha.

4.1.5 - Turbidimetria

A **turbidimetria** é a medida do grau de turbidez de uma suspensão. Trata-se de um método que se baseia na medida da **redução da transmissão de luz** em um meio, causada pela **formação de partículas** e consequente **turvação** da solução. É determinado por um sistema óptico, o **turbidímetro**, que mede a diminuição, devido à absorbância, da intensidade de um feixe de luz de comprimento de onda conhecido que atravessa a suspensão. A quantidade de luz absorvida e, consequentemente, sua concentração depende do número e do tamanho das partículas. Esta é uma técnica complementar à nefelometria, que mede a luz dispersa.



Turbidimetria é a medida da **luz transmitida** após contato com solução turva.

Nefelometria é a medida da **luz dispersa** após contato com solução turva.

4.1.6 - Fotometria de chama

A **fotometria de chama** é uma técnica simples baseada na espectrometria atômica. Uma amostra contendo **cátions metálicos** é inserida em um **chama** e analisada pela **quantidade de radiação emitida**.

4.1.7 - Fluorimetria

A **fluorimetria** é usada para medir a intensidade e distribuição do comprimento de onda do espectro de emissão após excitação por um determinado espectro de luz. Um **fluorômetro**, ou **fluorímetro**, é um **espectrômetro projetado para medir fluorescência**.

4.2 - Citometria de fluxo

A **citometria de fluxo** é uma técnica usada para detectar e medir **características físicas e químicas de uma população de células ou partículas**. Na citometria de fluxo, uma amostra contendo células ou partículas é suspensa em um fluido e injetada no instrumento denominado **citômetro de fluxo**. A amostra é liberada em um fluxo ideal de **uma célula por vez** através de um **feixe de laser** e a **luz dispersa** é característica das células e de seus componentes. As células são frequentemente rotuladas com **marcadores fluorescentes**, para que a luz seja absorvida primeiro e depois emitida em uma faixa de comprimentos de onda. As informações provenientes dos sensores são expressas em um **histograma**.

A dispersão da luz pode ser usada para medir o **volume** (por **dispersão frontal** - ***forward scatter***) e a **granulosidade/complexidade morfológica** (por **dispersão lateral** - ***side scatter***) de células ou outras partículas, mesmo aquelas que não são fluorescentes. Esses dois padrões de dispersão são abreviados como FSC e SSC, respectivamente.



Como resultado do aprimoramento tecnológico, que faz uso do processo de automação de análises e diferencia células através do uso de **anticorpos fluorescentes**, surgiu uma versão mais moderna de citometria de fluxo, chamada de **separador celular ativado por fluorescência (FACS)**.

Essa metodologia é capaz de fornecer informações rápidas e precisas sobre a identificação de várias características intrínsecas e extrínsecas das células, além de conseguir reconhecer com precisão o tamanho e a granulosidade através de uma leitura da intensidade da fluorescência que é refletida nas células previamente marcadas com anticorpos monoclonais florescentes.

Fonte: Braga et al., 2016



(UFU-MG - 2018) Em relação à técnica de citometria de fluxo, é INCORRETO afirmar que

A) um feixe de luz incide sobre uma amostra líquida e sua dispersão é captada por detectores.

B) possui um feixe de luz incidente (*Forward Scatter* -FSC) e outros perpendiculares (*Side Scatter* - SSC).

C) essa técnica necessita do uso de marcadores fluorescentes.

D) o sistema de separação de célula ativado por fluorescência (FACS) permite a seleção de amostras celulares.

Comentários:

Letra A: correta. Na citometria de fluxo a amostra é liberada em um fluxo ideal de uma célula por vez que é atravessado por um feixe de laser e a luz dispersa, captada pelos detectores, é característica das células e de seus componentes.

Letra B: correta. A dispersão da luz pode ser usada para medir o volume (por dispersão frontal - *forward scatter*) e a granulosidade/complexidade morfológica (por dispersão lateral - *side scatter*) de células ou outras partículas.

Letra C: INCORRETA. Apesar de o uso de marcadores fluorescentes ser comum na citometria de fluxo, este elemento não é obrigatório. **Este é o nosso gabarito**.

Letra D: correta. Essa metodologia é capaz de fornecer informações rápidas e precisas sobre a identificação de várias características intrínsecas e extrínsecas das células, além de conseguir reconhecer com precisão o tamanho e a granulosidade através de uma leitura da intensidade da fluorescência que é refletida nas células previamente marcadas com anticorpos monoclonais florescentes.

(FCC - Prefeitura de Macapá - AP - 2018) A técnica de citometria de fluxo,

A) detecta e quantifica células em suspensão em meio líquido e aderidas em placas de cultura celular.

B) identifica as células da amostra apenas por marcação com anticorpos específicos ligados a fluorocromos, através da intensidade de fluorescência.

C) utiliza anticorpos policlonais devido à sua maior especificidade, reação cruzada mínima e reprodutibilidade.

D) analisa simultaneamente diferentes parâmetros de um elevado número de células ou partículas, de forma individual.

E) tem como parâmetros de dispersão frontal e dispersão lateral da luz que informam respectivamente, granulosidade\complexidade celular e tamanho\forma celular.

Comentários:

Letra A: errada. A citometria de fluxo não analisa amostras com células aderidas em placas, pelo contrário, as células da amostra são liberadas em um fluxo ideal de uma célula por vez.

Letra B: errada. Além da fluorescência, os detectores também captam a luz dispersa à medida que o laser atravessa cada célula ou partícula.

Letra C: errada. Os anticorpos monoclonais são mais específicos que os anticorpos policlonais e geralmente são utilizados na citometria de fluxo.

Letra D: correta. A citometria de fluxo é capaz de detectar e medir diferentes características físicas e químicas de uma população de células ou partículas. **Este é o nosso gabarito**.

Letra E: errada. A dispersão frontal (*Forward Scatter* - FSC) se relaciona ao volume celular, enquanto a dispersão lateral (*Side Scatter* - SSC) associa-se à granulosidade ou complexidade celular.

4.3 - Eletroforese

A **eletroforese** é uma técnica utilizada para a **separação de moléculas** de acordo com sua **mobilidade em um campo elétrico**. Algumas de suas aplicações são a eletroforese de proteínas plasmáticas, a eletroforese de hemoglobina e a eletroforese de DNA.

4.4 - Cromatografia

A **cromatografia** também é uma técnica utilizada para **separar os componentes de uma mistura**. A mistura é dissolvida em um fluido chamado **fase móvel**, que a transporta através de uma estrutura que contém outro material chamado **fase estacionária**, que é fixa. Os vários constituintes da mistura migram em velocidades diferentes, fazendo com que se separem.

A separação é baseada na **partição diferencial** entre as fases móvel e estacionária. Dessa forma, diferenças sutis no coeficiente de partição de um composto resultam em retenção diferencial na fase estacionária e, portanto, afetam a separação.

4.5 - Eletrodo Íon Seletivo

O **eletrodo íon seletivo** consiste em uma pequena câmara contendo um **eletrodo inerte**, envolto em um **eletrólito e que se comunica com a solução externa**, que será medida. É muito utilizado em análises químicas, sendo o mais comum o **eletrodo de pH**. Contém uma **membrana seletiva** (que pode ser de plástico, vidro ou cristais) que permite a passagem apenas do íon que será medido.

Essa técnica é muito usada para a dosagem de eletrólitos (íons) em amostras biológicas, tais como sódio, potássio, cloreto, magnésio, cálcio e lítio.



(FCC - Prefeitura de Macapá - AP - 2018) Nas análises clínicas automatizadas, um fundamento metodológico correto é:

A) Colorimetria, que é a dosagem da emissão de luz resultante de uma reação química gerada pela dissociação de ligações fracas produzindo compostos intermediários em estado eletronicamente excitado que, ao retornarem ao estado de energia inicial, emitem luz.

B) Quimioluminescência, que tem base a reação química de um reagente cromógeno com uma substância presente na amostra biológica, seguida de absorção de luz que permite determinar a concentração da substância presente na amostra.

C) Citometria de fluxo, que é uma técnica de medição das propriedades (complexidade e tamanho) de células em suspensão, orientadas em um fluxo laminar e interceptadas, uma a uma, por um feixe de luz laser.

D) Fotometria de chama, relacionada à dosagem da quantidade de luz transmitida e cálculo da luz absorvida pelas partículas de uma suspensão, com objetivo de determinar a concentração de uma determinada substância. A quantidade de luz absorvida e, consequentemente, sua concentração depende do número e tamanho das partículas.

E) Turbidimetria, em que a amostra é atomizada, produzindo átomos em estado excitado que emitem luz em um comprimento de onda específico dependendo do elemento usado, por exemplo, luz amarela para sódio e cor violeta para potássio; a intensidade de cada cor emitida é proporcional ao teor destes elementos na amostra.

Comentários:

Letra A: errada. A colorimetria é uma técnica usada para determinar a concentração de compostos coloridos (analitos) na solução da amostra no espectro visível da luz (400 - 700 nm). A descrição apresentada é condizente com a técnica de quimioluminescência.

Letra B: errada. A quimioluminescência é uma reação colorimétrica que emprega anticorpos marcados com fosfatase alcalina que hidrolisam um substrato quimioluminescente (luminol, isoluminol, luciferina). A alternativa descreve a técnica de colorimetria.

Letra C: correta. A citometria de fluxo é uma técnica usada para detectar e medir características físicas e químicas de uma população de células ou partículas, que são interceptadas por um feixe de luz laser. **Este é o nosso gabarito**.

Letra D: errada. Na fotometria de chama, uma amostra contendo cátions metálicos é inserida em um chama e analisada pela quantidade de radiação emitida. O princípio metodológico descrito é o da turbidimetria.

Letra E: errada. A turbidimetria é um método que se baseia na medida da redução da transmissão de luz em um meio, causada pela formação de partículas e consequente turvação da solução. A alternativa descreve a técnica de fotometria de chama.

4.6 - Volumetria

A **volumetria** (também chamada de **análise volumétrica**, **titulação** ou **titrimetria**) é um processo utilizado para determinar a concentração ou a quantidade de um analito presente em uma solução através da medição do volume de uma segunda solução de concentração conhecida (denominada solução titulante) que reage com a primeira.

4.7 - Gravimetria

A **gravimetria**, ou **análise gravimétrica**, compreende um conjunto de métodos usados na química analítica para a **determinação quantitativa indireta** de um constituinte de uma amostra (um elemento ou um composto do elemento) com base em sua massa.

Na gravimetria, uma determinada espécie química é convertida em uma **forma pura** que pode ser separada da mistura original. Posteriormente, emprega-se **cálculos estequiométricos** para determinar a quantidade de um elemento ou composto na amostra. As principais formas de separação são precipitação, volatilização, eletrodeposição ou extração.



(UECE - SES-CE - 2006) O processo utilizado para isolar e pesar um elemento ou um composto definido de um elemento na forma mais pura possível é a

A) cromatografia.

B) gravimetria.

C) espectrofotometria.

D) turbidimetria.

Comentários:

Letra A: errada. A **cromatografia** é uma técnica utilizada para **separar os componentes de uma mistura**. A mistura é dissolvida em um fluido chamado **fase móvel**, que a transporta através de uma estrutura que contém outro material chamado **fase estacionária**, que é fixa. Os vários constituintes da mistura migram em velocidades diferentes, fazendo com que se separem.

Letra B: correta. Na **gravimetria**, uma determinada espécie química é convertida em uma **forma pura** que pode ser separada da mistura original. Posteriormente, emprega-se **cálculos estequiométricos** para determinar a quantidade de um elemento ou composto na amostra. **Este é o nosso gabarito**.

Letra C: errada. A **espectrofotometria** é a medição da **intensidade da luz em comprimentos de onda selecionados** (entre o **ultravioleta** e o **infravermelho**). Esta técnica permite **comparar a radiação absorvida em função da luz transmitida**, levando-se em consideração que todas as substâncias podem absorver energia radiante. O grau de **absorção da radiação eletromagnética depende da concentração do soluto** em solução.

Letra D: errada. A **turbidimetria** é a medida do grau de turbidez de uma suspensão. Trata-se de um método que se baseia na medida da **redução da transmissão de luz** em um meio, causada pela **formação de partículas** e consequente **turvação** da solução.

4.8 - Tipos de reações empregadas no laboratório clínico

As reações utilizadas nos métodos laboratoriais podem ser classificadas de duas formas: em relação ao **produto formado** e em relação ao **procedimento**.

Em relação ao **produto formado**, as reações se classificam como reações de **aglutinação**, reações de **precipitação / turvação**, reações **colorimétricas** e reações no **ultravioleta**.

As **reações de aglutinação** envolvem o uso de partículas ligadas a **antígenos** ou **anticorpos** que ao reagir com um analito produzem uma reação visível a olho nu ou ao microscópio. A presença de aglutinação é tida como um resultado positivo para a maioria das análises, porém, em algumas reações é utilizado o modelo de inibição, onde a ausência de aglutinação é considerada como um resultado positivo. Estudaremos melhor as reações de aglutinação na aula de imunologia.

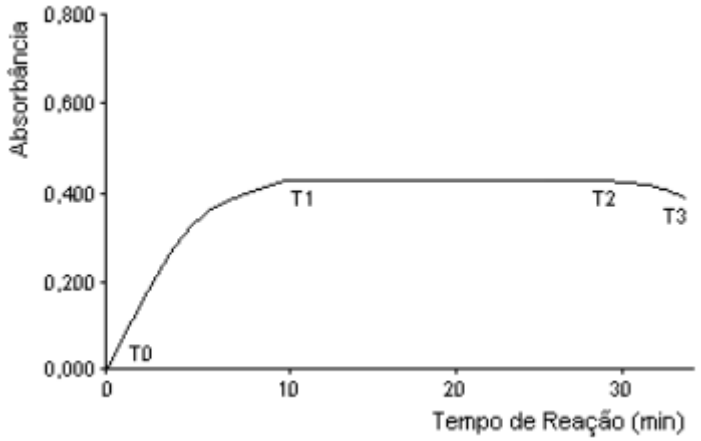
As **reações de precipitação e turvação** se caracterizam, como o nome sugere, pela **precipitação de um analito** (geralmente uma proteína) através da **ação de um reagente (geralmente um anticorpo)**. O analito se mantém suspenso e pode ser quantificado por **espectrofotometria**. Normalmente, trata-se de um método cinético de ponto final, onde o produto formato alcança um ponto máximo de detecção e se mantém inalterado por um determinado intervalo de tempo. As reações de precipitação / turvação também serão melhor estudadas na aula de imunologia.

As **reações colorimétricas**, conforme já estudamos, são aquelas nas quais o produto formado **possui uma cor** cuja intensidade (energia radiante transmitida/absorvida) pode ser medida na **faixa visível do espectro eletromagnético** (400 a 680nm). As reações colorimétricas podem ser de ponto final ou cinéticas.

As **reações ultravioletas (UV)** são aquelas nas quais o produto formado **não possui cor**, mas **absorve energia radiante (luz) na faixa ultravioleta** (340 ou 365nm). As reações ultravioletas também podem ser de ponto final ou cinéticas.

Em relação ao **procedimento**, as reações se classificam como: reações de **ponto final** e reações **cinéticas**, sendo que as reações cinéticas se subdividem em reações **cinéticas de tempo fixo**, reações **cinéticas contínuas** e reações **cinéticas de dois tempos**.

As **reações de ponto final** são aquelas nas quais ocorre a formação de um produto e sua **concentração máxima é atingida e se mantém inalterada por um tempo determinado**. A estabilidade do produto formado se relaciona diretamente com as características dos reagentes utilizados. Essas reações podem ser colorimétricas (determinações químicas ou enzimáticas de colesterol, triglicérides, glicose e albumina) ou ultravioletas (fosfato UV). O gráfico abaixo ilustra uma reação de ponto final.

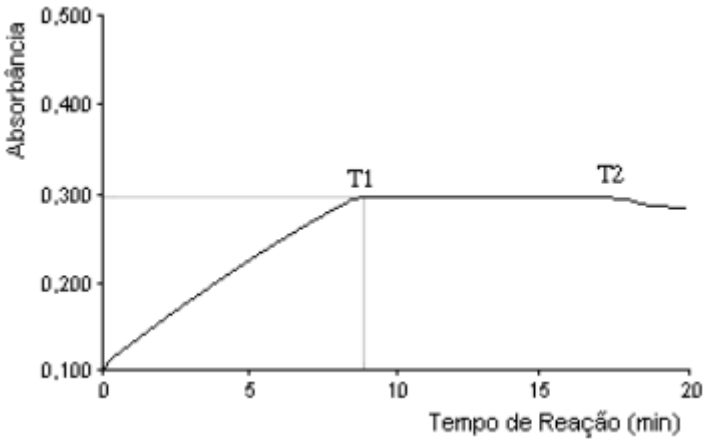


Fonte: Labtest

Na figura acima podemos observar a formação do produto no intervalo T0-T1, o período de estabilidade da reação no intervalo T1-T2 e a perda da estabilidade com decaimento do produto no intervalo T2-T3. **A medição do analito deve ser realizada dentro do intervalo T1-T2**.

As **reações cinéticas** são aquelas nas quais a velocidade de formação de um produto deve ser **medida em intervalos de tempo pré-estabelecidos** (horas, minutos ou segundos). Algumas vezes, a formação do produto se relaciona com a temperatura, por este motivo, para se obter resultados mais precisos, essas reações devem ser preferencialmente realizadas em equipamentos que utilizem **cubetas termostatizadas**. São exemplos de reações cinéticas as determinações das atividades de amilase, fosfatase acalina, gama GT, dentre outras. Vejamos a seguir as subclassificações das reações cinéticas.

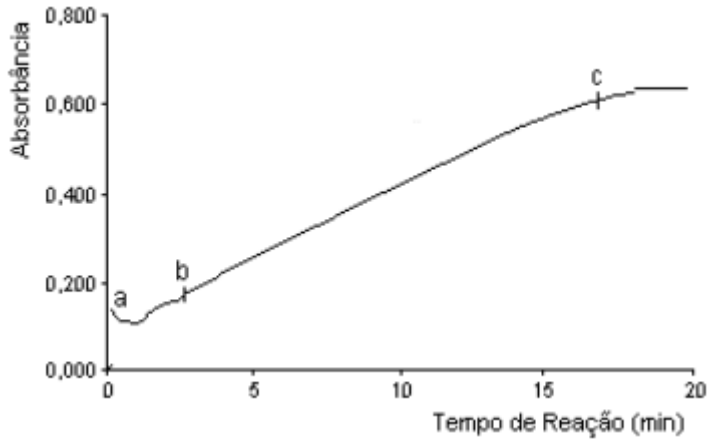
Nas **reações cinéticas de ponto fixo** é estabelecido um **intervalo de tempo após o qual a reação é interrompida e a leitura é realizada**. Essas reações exigem um controle rigoroso do tempo e da temperatura de incubação. O gráfico abaixo representa uma reação cinética de ponto fixo.



Fonte: Labtest

A figura demonstra o intervalo de tempo no qual a reação ocorre (To-T1), a interrupção da reação enzimática em T1 e o intervalo no qual o produto da reação está estável e a leitura deve ser realizada (T1-T2).

Nas **reações cinéticas contínuas** são realizadas **medidas contínuas da formação do produto**. Quando um fotômetro de temperatura controlada não estiver disponível, deve-se optar pelo emprego da reação cinética de tempo fixo. É importante ressaltar que um mesmo analito pode ser determinado tanto pela reação cinética de tempo fixo quanto pela reação cinética contínua, como por exemplo a determinação da atividade da gama glutamil transferase (GGT). O gráfico abaixo ilustra uma reação cinética contínua.

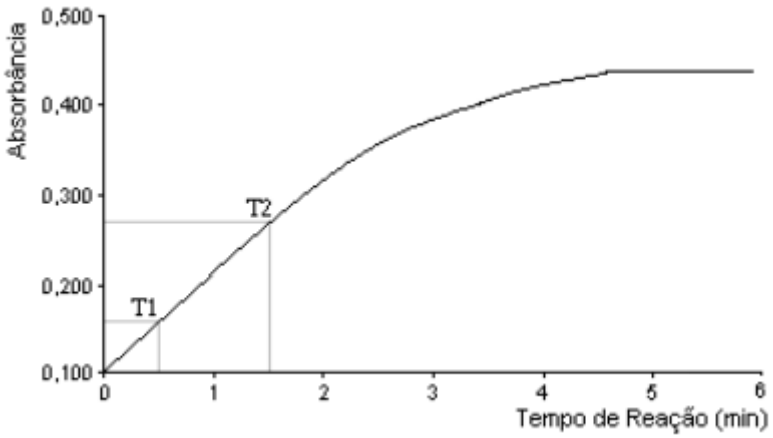


Fonte: Labtest

A figura acima representa uma fase inicial na qual a velocidade da reação não é constante (a-b), seguida pelo intervalo no qual a reação adquire velocidade constante (b-c), onde deve-se obter as diferenças de absorvância/minuto (Δabs/min), que são utilizadas para calcular o resultado. Por fim, esgota-se o substrato e a velocidade da reação diminui (c).

Nas **reações cinéticas de dois pontos** geralmente realiza-se uma medição aos 30 segundos da reação e uma segunda medição aos 90 segundos. A primeira medição é usada como branco e **a concentração do analito é calculada a partir da diferença (delta) entre as duas medições**. As reações cinéticas de dois pontos são utilizadas para reduzir o tempo da reação, prolongar a linearidade do sistema analítico e minimizar a ação de interferentes.

É importante ressaltar que **o intervalo de medições pode variar de acordo a sensibilidade e linearidade do método e a presença de interferentes**. O controle de temperatura também é fundamental, sendo que, assim como nas reações cinéticas contínuas, nas reações cinéticas de dois pontos também é importante que a reação seja realizada em um equipamento que possua **cubetas termostatizadas**. Vejamos no gráfico abaixo uma representação da reação cinética de dois pontos.



Fonte: Labtest

Observando a figura acima, o cálculo do resultado de uma reação cinética de dois pontos é realizado a partir da diferença entre a absorbância T2 e a absorbância T1 (Resultado = T2-T1).



As reações podem ser consideradas **crescentes** ou **decrescentes**.

Nas reações crescentes ocorre um aumento da concentração do produto formado ou de um reagente. Enquanto que nas reações decrescentes acontece a diminuição da concentração do produto formado ou de um reagente.

O modo de leitura pode ser **monocromático** ou **bicromático**.

No modo de leitura monocromático utiliza-se a **leitura realizada em um único comprimento de onda** para calcular o resultado. Por outro lado, no modo de leitura bicromático utiliza-se a **diferença entre a leitura do comprimento de onda secundário e a leitura do comprimento de onda primário** para calcular o resultado. A finalidade do uso de leituras bicromáticas é a redução da ação de interferentes, sobretudo a lipemia.



(IBFC - Pref. Cabo de Santo Agostinho/PE – 2019) Referente aos tipos de reações de testes bioquímicos, analise as afirmativas abaixo.

I. Reação de ponto final: a quantidade de produto formado reflete a reação de todo o analito presente na amostra.

II. Reação cinética de dois pontos: reação que, após um período de estabilização adquire velocidade constante que se mantém enquanto existir substrato. Medição é realizada na fase constante.

III. Reação cinética de tempo fixo: após o intervalo cinético estabelecido, a reação é interrompida e a leitura é realizada.

Assinale a alternativa correta.

A) As afirmativas I, II e III estão corretas

B) Apenas as afirmativas I e II estão corretas

C) Apenas as afirmativas II e III estão corretas

D) Apenas as afirmativas I e III estão corretas

Comentários:

Vamos analisar cada afirmativa:

I: certa. Nas reações de ponto final ocorre a formação de um produto e sua concentração máxima é atingida e se mantém inalterada por um tempo determinado, no qual deve-se realizar a medição.

II: errada. Nas reações cinéticas de dois pontos realizam-se duas medições e o resultado é obtido a partir da diferença entre essas medições. A reação descrita nessa afirmativa é a cinética contínua.

III: certa. Nas reações cinéticas de ponto fixo é estabelecido um intervalo de tempo após o qual a reação é interrompida e a leitura é realizada.

Logo, estão corretas as afirmativas I e III.

Gabarito: letra D.

As reações são a base do funcionamento de um laboratório clínico e, portanto, é importante conhecer seus vários tipos. Para finalizar, vamos resumir as classificações de reações estudadas.




Classificação quanto ao produto formado
Reação de aglutinação
Reação de precipitação / turvação
Reação colorimétrica
Reação no ultravioleta
Classificação quanto ao procedimento
Reação de ponto final
Reação cinética
Reação cinética de tempo fixo
Reação cinética contínua
Reação cinética de dois tempos



Com isso, encerramos a teoria pertinente à aula de hoje. Não se esqueçam de praticar com as questões disponibilizadas ao fim do PDF.

5 – Considerações Finais

Chegamos ao fim da nossa primeira aula, na qual tratamos de uma pequena parte da matéria. Como disse no início da aula, apesar de serem conceitos iniciais, são de extrema relevância para sua preparação para o concurso dos seus sonhos.

O objetivo desta aula foi dar um embasamento para que vocês sejam capazes de acompanhar os próximos tópicos que estudaremos juntos.

Caso tenham dúvidas, críticas ou sugestões, vocês podem entrar em contato comigo pelo fórum de dúvidas ou pelo meu Instagram

Vejo vocês na próxima aula. Até lá!

Ana Cristina Lopes

Instagram: https://www.instagram.com/prof.anacristinalopes/

QUESTÕES COMENTADAS



1. (UFSM - 2015) O _____ é o fluído obtido quando se coleta um tubo de sangue sem anticoagulante, deixando a amostra coagular, e _____ é a porção líquida do sangue não coagulado, após centrifugação. Assinale a alternativa que preenche corretamente as lacunas.

A) plasma - o soro

B) soro - o plasma

C) soro - o sangue total

D) soro - as hemácias

E) plasma - o sangue total

Comentários:

O soro é o fluído obtido quando se coleta um tubo de sangue sem anticoagulante, deixando a amostra coagular, e plasma é a porção líquida do sangue não coagulado, após centrifugação. A alternativa que preenche corretamente as lacunas é a **alternativa B**.

2. (CESPE - FUB - 2014/adaptada) Um paciente de trinta e cinco anos apresentou-se em laboratório de análises clínicas portando solicitação médica para a realização de diversos exames, tais como EAS, dosagem sérica de sódio, potássio, ureia e creatinina, dosagem de albumina sérica e dosagem de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) e o técnico do laboratório procedeu a coleta do material necessário.

Considerando a situação hipotética acima, julgue os itens.

I. O anticoagulante de escolha para as análises em questão é a heparina, que bloqueia o fator VII no sistema extrínseco.

II. Após a coleta do sangue do paciente, a fração contendo células deve ser separada da fração líquida, que pode ser chamada de soro ou plasma, indistintamente.

A) Apenas a primeira alternativa está correta.

B) Apenas a segunda alternativa está correta.

C) Ambas as alternativas estão corretas.

D) Ambas as alternativas estão erradas.

Comentários:

I: errada. Para as análises em questão deve-se proceder com a coleta de sangue sem anticoagulante, para obtenção do soro.

II: errada. Existe distinção entre as frações líquidas do sangue denominadas soro e plasma. O **soro** é obtido a partir da amostra de sangue coletada em tubo **sem anticoagulante e não possui fibrinogênio**, enquanto o **plasma** é obtido a partir da amostra de sangue coletada em tubo **com anticoagulante e possui fibrinogênio**.

Logo, ambas as alternativas estão erradas. **Gabarito: alternativa D**.

3. (FUNRIO - UFRB - 2015) Considere as afirmativas abaixo e assinale a alternativa correta.

I. O ácido etilenodiamonotetracético representa um importante anticoagulante agindo como quelante de cálcio.

II. A heparina é considerada um importante anticoagulante natural que inibe a atividade da trombina e tromboplastina, não alterando a morfologia das hemácias e glóbulos brancos, além de não provocar hemólise.

III. Os sais de oxalato de sódio agem sobre o cálcio formando compostos insolúveis. São considerados excelentes anticoagulantes para os estudos morfocitoquímicos dos glóbulos brancos.

A) As afirmativas I, II e III são falsas.

B) As afirmativas I, II e III são verdadeiras.

C) Apenas as afirmativas II e III são verdadeiras.

D) Apenas as afirmativas I e III são verdadeiras.

E) Apenas as afirmativas I e II são verdadeiras.

Comentários:

I: correta. O mecanismo de ação do EDTA é a quelação de cálcio.

II: correta. Descrição correta do anticoagulante heparina.

III: errada. A primeira parte da afirmativa está correta, de fato o oxalato de sódio age sobre o cálcio formando compostos insolúveis. O erro está na segunda parte, pois amostras colhidas com este anticoagulante não são indicadas para estudos morfocitoquímicos dos glóbulos brancos.

Logo, as alternativas I e II estão corretas. **Gabarito: alternativa E**.

4. (COSEAC - HUAP-UFF - 2009) O anticoagulante capaz de inibir a via glicolítica além de anticoagular o sangue é

A) o citrato de Sódio.

B) o fluoreto de Sódio.

C) a Heparina.

D) a EDTA.

E) o oxalato de Cálcio.

Comentários:

O anticoagulante que inibe a via glicolítica é o **fluoreto de sódio**. Nenhum dos outros anticoagulantes apresentados possui esta propriedade. Logo, nosso gabarito é **alternativa B**.

5. (SELECON- Prefeitura de Campo Grande - MS - 2019) O anticoagulante utilizado na conservação de amostras biológicas deve ser específico para as diversas análises bioquímicas realizadas nos laboratórios de análises clínicas. O anticoagulante de escolha para a dosagem de níveis de glicose no sangue é o:

A) citrato de potássio

B) fluoreto de sódio

C) heparina sódica

D) oxalato de amônio

Comentários:

O anticoagulante de escolha para dosagem dos níveis de glicose é o **fluoreto de sódio**, que pode ser acrescido por oxalato, EDTA ou heparina. Tal escolha se justifica porque o fluoreto tem a capacidade de inibir a via glicolítica, preservando os níveis de glicose na amostra de sangue. **Gabarito: alternativa B**.

6. (UFSM - 2015) A identificação do anticoagulante (aditivo) no tubo de coleta de sangue também é realizada pela cor da tampa. As cores das tampas dos tubos são, respectivamente, _____ para EDTA (sem gel separador),_____ para citrato de sódio (proporção 9:1),_____ para fluoreto de sódio/EDTA e_____para heparina. Assinale a alternativa que preenche corretamente as lacunas.

A) roxa/lilás - azul claro - cinza - verde

B) cinza - roxa/lilás - azul claro - amarela

C) roxa/lilás - preta - cinza - verde

D) roxa/lilás - preta - cinza - amarela

E) azul claro - roxa/lilás - verde – cinza

Comentários:

A identificação do anticoagulante (aditivo) no tubo de coleta de sangue também é realizada pela cor da tampa. As cores das tampas dos tubos são, respectivamente, **roxa/lilás** para **EDTA** (sem gel separador), **azul claro** para **citrato de sódio** (proporção 9:1), **cinza** para **fluoreto de sódio/EDTA** e **verde** para **heparina**.

A alternativa que preenche corretamente as lacunas é a **alternativa A**.

7. (CCV-UFC - 2015) O anticoagulante de escolha utilizado na coleta de sangue para os exames da coagulação é:

A) Heparina.

B) Citrato de Sódio.

C) Oxalato de Sódio.

D) Fluoreto de Sódio.

E) Ácido etilenodiaminotetracético.

Comentários:

O anticoagulante de escolha utilizado na coleta de sangue para os exames da coagulação é o **citrato de sódio**. Nenhuma das demais alternativas apresentadas possui aplicação em testes de coagulação.

Logo, o gabarito para esta questão é a **alternativa B**.

8. (FUNRIO - UFRB - 2015) Sobre os anticoagulantes usados de rotina nos laboratórios de análises clínicas, considere as afirmativas abaixo e assinale a alternativa correta.

I. Os sais de oxalato formam compostos estáveis e insolúveis com o cálcio (oxalato de cálcio) do sangue. Constituem um ótimo anticoagulante quando se deseja fazer estudos morfocitoquímicos.

II. A heparina, embora seja um anticoagulante natural, não é considerada como um anticoagulante de escolha quando se deseja fazer estudos morfocitoquímicos, já que altera a morfologia celular

III. O ácido etilenodiaminotetracético é considerado um anticoagulante natural, o qual age como um quelante de cálcio. Por ser natural, atualmente tem sido mais sido mais usado que os oxalatos no preparo de lâminas para estudos morfocitoquímicos.

A) Todas as afirmativas são falsas.

B) Apenas a afirmativa I é verdadeira.

C) Apenas a afirmativa II é verdadeira.

D) Apenas a afirmativa III é verdadeira.

E) Todas as afirmativas são verdadeiras.

Comentários:

I: errada. A primeira parte da afirmativa está correta, de fato o oxalato de sódio age sobre o cálcio formando compostos insolúveis. O erro está na segunda parte, pois amostras colhidas com este anticoagulante não são indicadas para estudos morfocitoquímicos.

II: errada. A heparina não altera a morfologia das hemácias e glóbulos brancos, podendo ser usada para estudos morfocitoquímicos.

III: errada. De fato, o EDTA age como quelante de cálcio e é utilizado para estudos morfocitoquímicos. Porém, não se trata de um anticoagulante natural.

Logo, todas as afirmativas estão erradas. **Gabarito: alternativa A**.

9. (INSTITUTO AOCP - EBSERH - 2015) Considerando os anticoagulantes utilizados nos tubos de coleta, assinale a alternativa correta.

A) Para a realização de testes hematológicos, utiliza-se o anticoagulante Citrato de sódio.

B) Para se realizar a análise de glicemia, deverá ser colhida uma amostra em tubo contendo fluoreto de sódio.

C) Quando se pretende fazer análise de coagulação, utilizamos o tubo contendo EDTA.

D) Quando se pretende fazer análise bioquímica ou sorológica, utilizamos o tubo contendo heparina.

E) Para análises bioquímicas e gasometria, utilizamos tubos que não contenham anticoagulante.

Comentários:

A **alternativa A** está incorreta. Para a realização de testes hematológicos, utiliza-se o anticoagulante EDTA.

A **alternativa B** está correta e é o gabarito da questão. O fluoreto de sódio é o anticoagulante de escolha para a determinação da glicemia, pois inibe a via glicolítica.

A **alternativa C** está incorreta. Quando se pretende fazer análise de coagulação, utiliza-se o tubo contendo citrato de sódio.

A **alternativa D** está incorreta. Quando se pretende fazer análise bioquímica ou sorológica, é preferível a utilização de tubo sem anticoagulante para a obtenção de soro.

A **alternativa E** está incorreta. Para análises bioquímicas, utilizamos preferencialmente tubos que não contenham anticoagulante. Porém, para a realização de gasometria, é necessário o uso do anticoagulante heparina.

10. (UFSM - 2015) Em relação à coleta de sangue, assinale V (verdadeira) ou F (falsa) em cada afirmativa.

( ) A identificação do paciente deverá ser realizada somente através da requisição médica e das etiquetas de identificação do material.

( ) A seringa e a agulha devem ser abertas no momento da coleta e na frente do paciente.

( ) O torniquete deve ser utilizado no braço do paciente continuamente até a realização completa da coleta.

( ) A punção deve ser realizada em uma angulação oblíqua de 30°, com o bisel da agulha voltada para cima.

A sequência correta é

A) V - V - F - V.

B) F - V - F - V.

C) V - F - V - F.

D) F - V - V - V.

E) V - F - F - F.

Comentários:

I: errada. É importante confirmar a identidade diretamente com o paciente e solicitar seu documento de identificação.

II: certa. Materiais como agulha e seringa devem ser abertos em frente ao paciente, que deve também ser informado que todo o material utilizado é estéril e descartável.

III: errada. O torniquete deve ser mantido apenas até o momento em que o sangue começar a fluir, devendo ser relaxado pelo restante da coleta.

IV: certa. Esta é a posição correta da agulha para a realização da venopunção.

A sequência correta é **F-V-F-V**. Logo, o gabarito é **alternativa B**.

11. (CESPE - FUB - 2018/adaptada) Julgue os itens a seguir, relativos a coleta de sangue, uso de anticoagulantes, esfregaços e técnicas de coloração de amostras de sangue periférico.

I. O EDTA e o citrato de sódio são os anticoagulantes comumente utilizados para investigação dos fatores de coagulação.

II. O EDTA, anticoagulante de escolha para a realização do hemograma, tem como mecanismo de ação a quelação do cálcio do sangue.

III. Na coleta de sangue para a realização de hemograma, a veia jugular externa pode ser puncionada.

IV. Devido à possibilidade da ocorrência de neutrofilia, é contraindicada a coleta de sangue para exame de hemograma imediatamente após o paciente ter praticado exercícios físicos.

Está(ão) correta(s) a(s) alternativa(s):

A) I, II e III apenas.

B) I, III e IV apenas.

C) II, III e IV apenas.

D) II e III apenas.

E) III e IV apenas.

Comentários:

I: errada. O EDTA não é utilizado para investigação de fatores de coagulação. Apenas o citrato de sódio tem esta propriedade.

II: certa. Descrição correta do mecanismo de ação e indicação do EDTA.

III: certa. Afirmativa verdadeira. É possível puncionar a veia jugular para obtenção de amostra para realização do hemograma, apesar de não ser a veia mais indicada.

IV: certa. Correto. O exercício físico leva à neutrofilia, dentre outros interferentes, por este motivo é desaconselhada a coleta de sangue imediatamente após a realização de exercícios.

Estão corretas as afirmativas II, III e IV. **Gabarito: alternativa C**.

12. (CESPE - FUB - 2018/adaptada) Com relação à utilização de amostras de sangue, soro, plasma e urina, e de anticoagulantes em procedimentos laboratoriais, julgue os itens subsequentes.

I. Para a realização de exames moleculares em amostras de sangue, recomenda-se a utilização de anticoagulantes à base de heparina, pois o EDTA e o citrato de sódio inibem a reação de PCR.

II. A heparina, anticoagulante bastante utilizado devido ao seu alto grau de ligação ao cálcio, não é recomendada para a coleta de amostras que visem à determinação de cálcio ionizado.

Está(ão) correta(s) a(s) afirmativa(s):

A Apenas a alternativa I.

B) Apenas a alternativa II.

C) Ambas as alternativas.

D) Nenhuma das alternativas.

Comentários:

I: errada. Para a realização de exames moleculares em amostras de sangue, recomenda-se a utilização de anticoagulante à base de EDTA ou citrato, pois a heparina inibe a reação da PCR.

II: errada. A heparina pode ser utilizada para a determinação do cálcio iônico.

Ambas as alternativas estão erradas. **Gabarito: alternativa D**.

13. (Prefeitura de Fortaleza - CE - 2018) Assinale a opção correta que relaciona o anticoagulante mais adequado para o exame solicitado:

A) heparina – gasometria.

B) EDTA - dosagem de cálcio.

C) fluoreto – hemograma.

D) citrato - dosagem de glicose.

Comentários:

A **alternativa A** está correta e é o gabarito da questão. A heparina é o anticoagulante de escolha para a realização da gasometria.

A **alternativa B** está incorreta. O EDTA é utilizado para testes hematológicos. A dosagem de cálcio pode ser realizada em amostra colhida com heparina.

A **alternativa C** está incorreta. O fluoreto é utilizado para dosagem de glicose.

A **alternativa D** está incorreta. O citrato é usado para testes de coagulação.

14. (Prefeitura de Fortaleza - CE - 2018) O anticoagulante mais adequado para a coleta simultânea de ureia, glicemia e creatinina é:

A) citrato.

B) oxalato.

C) soro (gel).

D) fluoreto.

Comentários:

O anticoagulante mais adequado para a coleta simultânea de ureia, glicemia e creatinina é o **fluoreto**, pois este é o único anticoagulante capaz de preservar a glicose na amostra, todos os outros são ineficazes neste quesito. **Gabarito: alternativa D**.

15. (Prefeitura de Fortaleza - CE - 2018) A coleta de sangue para os exames de hemograma completo, de glicemia e de tempo de protrombina deve ser realizada utilizando os seguintes anticoagulantes, respectivamente:

A) EDTA, Citrato e Fluoreto.

B) EDTA, Oxalato e Heparina.

C) EDTA, Fluoreto e Citrato.

D) Fluoreto, EDTA e Heparina.

Comentários:

O exame de hemograma completo é realizado com amostra obtida com EDTA. A glicemia é determinada a partir de amostra colhida com fluoreto. E o tempo de protrombina é determinado a partir de amostra colhida com citrato.

Logo, a resposta é **EDTA, Fluoreto e Citrato**. **Gabarito: alternativa C**.

16. (COPESE - UFJF - 2017) Na coleta de sangue para exames são utilizados, com frequência, frascos de vidro ou plástico com ou sem anticoagulantes, padronizados pela cor das tampas. Qual é a cor da tampa do tubo de coleta de sangue para prova de Velocidade de Hemossedimentação (VHS)?

A) Amarela.

B) Verde.

C) Preta.

D) Cinza.

E) Vermelha.

Comentários:

A cor da tampa do tubo de coleta de sangue para prova de VHS é **preta**, e o anticoagulante é o citrato de sódio. Gabarito: **alternativa C**.

17. (FUNRIO - SESAU-RO - 2017) Os anticoagulantes utilizados na coleta de tempo de hemoglobina glicosilada, glicose e tromboplastina parcial são respectivamente:

A) EDTA, fluoreto e citrato.

B) EDTA, citrato e fluoreto.

C) Heparina, EDTA e fluoreto.

D) Fluoreto, citrato e EDTA.

E) Heparina, fluoreto e EDTA.

Comentários:

O anticoagulante utilizado para coleta de hemoglobina glicosilada é EDTA. Para determinação de glicose, utiliza-se fluoreto. E para tromboplastina parcial, o anticoagulante é o citrato.

A resposta é **EDTA, fluoreto e citrato**. **Gabarito: alternativa A**.

18. (CCV-UFC - 2015) O procedimento de coleta de sangue para determinação de vários testes laboratoriais requer que a sequência dos tubos seja respeitada para que não ocorra contaminação por aditivos nos tubos subsequentes. Marque a opção correta da sequência dos tubos durante a execução do referido processo.

A) 1. Tubo de citrato de sódio; 2. Frasco para hemocultura; 3. Tubo com ativador de coágulo, com ou sem gel para obtenção de soro; 4. Tubo de heparina; 5. Tubo de EDTA; 6. Tubo de fluoreto/EDTA.

B) 1. Frasco para hemocultura; 2. Tubo de citrato de sódio; 3. Tubo com ativador de coágulo, com ou sem gel para obtenção de soro; 4. Tubo de heparina; 5. Tubo de EDTA; 6. Tubo de fluoreto/EDTA.

C) 1. Tubo de fluoreto/EDTA; 2. Tubo de citrato de sódio; 3. Tubo com ativador de coágulo, com ou sem gel para obtenção de soro; 4. Tubo de heparina; 5. Tubo de EDTA; 6. Frasco para hemocultura

D) 1. Tubo de heparina; 2. Tubo de citrato de sódio; 3. Tubo com ativador de coágulo, com ou sem gel para obtenção de soro; 4. Frasco para hemocultura; 5. Tubo de EDTA; 6. Tubo de fluoreto/EDTA

E) 1. Frasco para hemocultura; 2. Tubo de citrato de sódio; 3. Tubo de EDTA; 4. Tubo de fluoreto/EDTA; 5. Tubo de heparina; 6. Tubo com ativador de coágulo, com ou sem gel para obtenção de soro.

Comentários:

A sequência dos tubos durante a coleta de sangue é: 1. Frasco para hemocultura; 2. Tubo de citrato de sódio; 3. Tubo com ativador de coágulo, com ou sem gel para obtenção de soro; 4. Tubo de heparina; 5. Tubo de EDTA; 6. Tubo de fluoreto/EDTA. Logo, nosso gabarito é a **alternativa B**.

19. (COSEAC - UFF - 2019) De acordo com a padronização dos protocolos laboratoriais, todos os tubos para coleta sanguínea identificados por suas características, incluindo cor da tampa e aditivos, deverão ser trocados ou preenchidos conforme a necessidade, obedecendo à seguinte ordem de coleta, ou seja, iniciando a sequência da esquerda para direita desta forma:

A) hemocultura, azul, vermelho, roxo, cinza, verde.

B) citrato, soro, heparina, edta, fluoreto, hemocultura.

C) hemocultura, soro, heparina, edta, fluoreto, citrato.

D) cinza, roxo, verde, vermelho, azul, hemocultura.

E) hemocultura, citrato, soro, heparina, edta, fluoreto.

Comentários:

A ordem dos tubos para coleta de sangue é: hemocultura, citrato, soro, heparina, edta, fluoreto. Logo, nosso gabarito é **alternativa E**.

20. (Prefeitura de Fortaleza - CE - 2018) A sequência de tubos recomendada para a coleta de sangue venoso é:

A) hemocultura, citrato, soro (gel), heparina, EDTA e fluoreto.

B) fluoreto, EDTA, heparina, soro (gel), hemocultura e citrato.

C) heparina, EDTA, citrato, hemocultura, soro (gel) e fluoreto.

D) hemocultura, EDTA, citrato, fluoreto, heparina e soro (gel).

Comentários:

A sequência de tubos recomendada para a coleta de sangue venoso é: hemocultura, citrato, soro (gel), heparina, EDTA e fluoreto. Logo, nosso gabarito é **alternativa A**.

21. (COPESE - UFJF - 2017) Na coleta de sangue são utilizados frascos com tampas coloridas e cada tipo de frasco contém, ou não, anticoagulantes. Diante dessa informação a ordem de coleta desses frascos é:

A) Tubo de citrato de sódio, tubo de EDTA, frasco para hemocultura, tubo de soro e tubo de fluoreto de sódio.

B) Tubo de EDTA, tubo de citrato de sódio, tubo de soro, tubo de fluoreto de sódio e frasco para hemocultura.

C) Frasco para hemocultura, tubo de citrato de sódio, tubo de soro, tubo de EDTA e tubo de fluoreto de sódio.

D) Frasco para hemocultura, tubo de soro, tubo de EDTA, tubo de citrato de sódio e tubo de fluoreto de sódio.

E) Tubo de citrato de sódio, tubo de EDTA, tubo de soro, tubo de fluoreto de sódio e frasco para hemocultura.

Comentários:

A ordem certa dos frascos de anticoagulante é: frasco para hemocultura, tubo de citrato de sódio, tubo de soro, tubo de EDTA e tubo de fluoreto de sódio. Logo, o gabarito é **alternativa C**.

22. (CESPE - EBSERH - 2018/adaptada) Em relação a escolha, coleta e preservação de amostras no laboratório clínico, julgue os seguintes itens.

I. Para a dosagem de glicemia, utilizam-se tubos de coleta com citrato de sódio.

II. A aplicação prolongada do torniquete antes da coleta da amostra de sangue pode resultar na modificação dos níveis de vários componentes, tais como enzimas, proteínas, colesterol, cálcio, ferro, entre outros.

III. Caso o paciente tenha sido submetido a uma infusão intravenosa, deve-se selecionar o mesmo local no braço para a flebotomia.

Está(ão) correta(s) a(s) afirmativa(s):

A) I e II apenas.

B) I e III apenas.

C) II e III apenas.

D) II apenas.

Comentários:

I: errada. O fluoreto é o anticoagulante de escolha para a dosagem de glicemia, não o citrato de sódio.

II: correta. O garroteamento prolongado está associado a alterações nos exames de enzimas, proteínas, colesterol, cálcio, ferro, entre outros.

III: errada. Caso o paciente tenha sido submetido a uma infusão intravenosa, deve-se selecionar o OUTRO braço para a flebotomia, para evitar interferentes nos resultados dos exames.

Estão corretas as afirmativas I e II. **Gabarito: alternativa D**.

23. (IBFC - SES-PR - 2016) Assinale a alternativa que completa corretamente a lacuna. O local de preferência para as venopunções é a fossa antecubital, porém quando as veias desta região não estão disponíveis ou são inacessíveis a(s) veia(s) _____ também pode(m) ser utilizada(s) sem necessitar de autorização médica.

A) na parte inferior do punho.

B) do tornozelo.

C) jugular externa

D) do dorso da mão.

Comentários:

O local de preferência para as venopunções é a fossa antecubital, porém quando as veias desta região não estão disponíveis ou são inacessíveis a(s) veia(s) **do dorso da mão** também pode(m) ser utilizada(s) sem necessitar de autorização médica.

É necessária autorização médica para coleta em qualquer das outras regiões citadas. **Nosso gabarito é a alternativa D.**

24. (CESPE - EBSERH - 2018/adaptada) A respeito da coleta de sangue por punção, julgue os itens a seguir.

I. Para a coleta de sangue no dorso da mão, o melhor ponto de acesso é o arco venoso dorsal, por ser considerado de maior calibre.

II. A veia cefálica é a mais utilizada para a coleta de sangue no membro superior e a veia basílica é mais propensa a hematomas.

A) Ambas as afirmativas estão corretas.

B) Ambas as afirmativas estão erradas.

C) Apenas a primeira afirmativa está correta.

D) Apenas a segunda afirmativa está correta.

Comentários:

I: correta. De fato, o arco venoso dorsal é o local preferencial para coleta no dorso da mão.

II: errada. A veia cefálica é mais dolorosa à punção e mais propensa a hematomas.

Apenas a primeira afirmativa está correta. **Gabarito: alternativa C**.

25. (CESPE - FUB - 2018) Com relação a procedimentos técnicos necessários para a coleta de amostras e execução de exames laboratoriais, julgue o item que se segue.

Amostras para hemocultura devem ser transportadas para o laboratório em até 30 minutos, visto que os frascos específicos para essa finalidade não contêm anticoagulante.

Certo

Errado

Comentários

Amostras para hemocultura devem ser transportadas para o laboratório em até **2 horas**, visando à estabilidade da amostra. **Gabarito: errado**.

26. (IF-MS - 2019) O ambiente laboratorial deve ser entendido como um sistema complexo, onde existem interações constantes entre os fatores humanos, ambientais, tecnológicos, educacionais e normativos. Em um laboratório de biologia que se trabalha com animais, vegetais e microrganismos, são necessários alguns equipamentos para o desenvolvimento de atividades laboratoriais, conforme as imagens a seguir:

I



II



III



IV



V



Assinale a alternativa que corresponde, respectivamente, às funções desempenhadas por esses equipamentos.

A) Esterilização de materiais por meio do vapor; esterilização e secagem de materiais por meio do calor seco; realização da separação de amostras; aquecimento de substâncias líquidas e sólidas que não podem ser colocadas diretamente no fogo; cultivo de culturas bacteriológicas submetidas a uma determinada temperatura.

B) Cultivo de culturas bacteriológicas submetidas a uma determinada temperatura; esterilização de materiais por meio do vapor; esterilização e secagem de materiais por meio do calor seco; realização da separação de amostras; aquecimento de substâncias líquidas e sólidas que não podem ser colocadas diretamente no fogo.

C) Esterilização de materiais por meio do vapor; esterilização e secagem de materiais por meio do calor seco; aquecimento de substâncias líquidas e sólidas que não podem ser colocadas diretamente no fogo; realização da separação de amostras; cultivo de culturas bacteriológicas submetidas a uma determinada temperatura.

D) Cultivo de culturas bacteriológicas submetidas a uma determinada temperatura; esterilização de materiais por meio do vapor; realização da separação de amostras; aquecimento de substâncias líquidas e sólidas que não podem ser colocadas diretamente no fogo; esterilização e secagem de materiais por meio do calor seco.

E) Cultivo de culturas bacteriológicas submetidas a uma determinada temperatura; esterilização e secagem de materiais por meio do calor seco; esterilização de materiais por meio do vapor; aquecimento de substâncias líquidas e sólidas que não podem ser colocadas diretamente no fogo; realização da separação de amostras.

Comentários:

Os equipamentos ilustrados e suas respectivas funções são os seguintes:

I. Estufa bacteriológica: cultivo de culturas bacteriológicas submetidas a uma determinada temperatura;

II. Autoclave: esterilização de materiais por meio do vapor;

III. Estufa de esterilização: esterilização e secagem de materiais por meio do calor seco;

IV. Centrífuga: realização da separação de amostras;

V. Banho-maria: aquecimento de substâncias líquidas e sólidas que não podem ser colocadas diretamente no fogo.

Dessa forma, o gabarito desta questão é a **alternativa B**.

27. (Quadrix- SEDF - 2017/adaptada) Em relação aos equipamentos e procedimentos de laboratório utilizados para atividades de pesquisa e análises clínicas, julgue o item que se segue.

I. O citômetro de fluxo permite separar, contar, examinar e classificar partículas microscópicas, tornando possível a avaliação morfológica de uma célula no que diz respeito ao tamanho e à granulosidade.

II. As autoclaves são equipamentos utilizados para a esterilização de materiais de laboratório, como vidrarias e tubos com fundo cônico em material plástico para centrífugas.

Está(ão) correta(s):

A) Apenas I

B) Apenas II

C) I e II

D) Ambas estão erradas.

Comentários:

I: correta. Esta alternativa descreve corretamente o funcionamento do citômetro de fluxo.

II: errada. Materiais plásticos não podem ser esterilizados em autoclaves, pois não suportam a temperatura elevada deste equipamento.

Nosso gabarito é a **alternativa A**.

28. (CESPE - INCA - 2010) Acerca de diversos aspectos relacionados aos equipamentos utilizados em laboratórios de análises clínicas, julgue o item a seguir.

A fluorimetria é o método utilizado para se detectar a luz emitida por um determinado analito após sua excitação por luz em um comprimento de onda diferente do emitido.

Certo

Errado

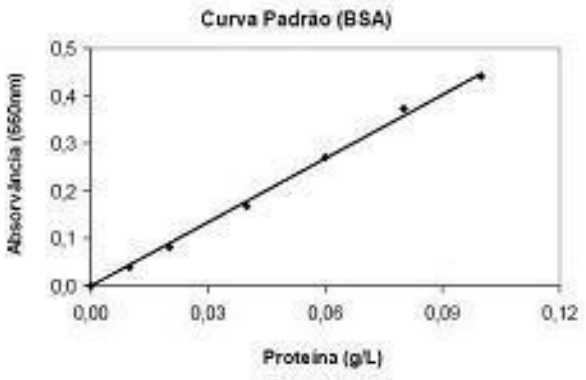
Comentários:

A fluorimetria é usada medir a intensidade e distribuição do comprimento de onda do espectro de emissão após excitação por um determinado espectro de luz.

Gabarito: Certo.

Use o texto a seguir para responder às questões 29, 30 e 31.

Para a quantificação de proteínas é comum o emprego de técnicas espectrofotométricas como o método de Lowry que consiste em duas reações colorimétricas. Para fins de quantificação de amostras desconhecidas é construída uma curva-padrão com proteína albumina sérica bovina (BSA) como a apresentada a seguir.



Considerando a curva-padrão acima apresentada, bem como aspectos gerais das técnicas de espectrofotometria e colorimetria, julgue os itens a seguir.

29. (CESPE - HEMOBRÁS - 2008) A absorbância pode ser definida com a capacidade intrínseca dos materiais de absorverem radiações em frequências específicas.

Certo

Errado

Comentários:

A absorbância é a capacidade da solução de absorver a luz, correspondente à fração luminosa que será absorvida por determinada solução ou material.

Gabarito: Certo.

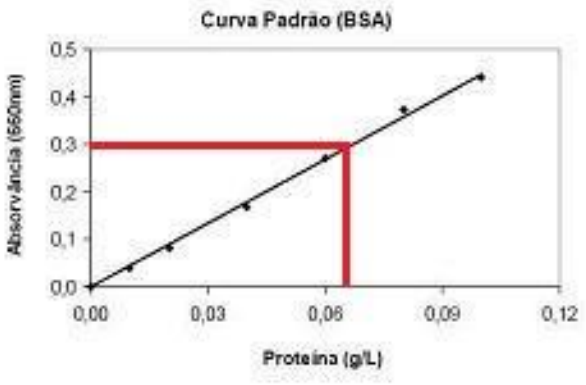
30. (CESPE - HEMOBRÁS - 2008) No caso do emprego da curva-padrão apresentada, uma amostra com absorvância (660 nm) igual a 0,3 apresentaria concentração de proteínas superior a 0,03 g/L.

Certo

Errado

Comentários:

Vamos traçar uma linha na altura do eixo Y correspondente à absorvância de 0,3:



Como se pode ver pela figura acima, a absorvância de 0,3 corresponde a uma concentração de proteínas superior a 0,03 g/L.

Gabarito: Certo.

31. (CESPE - HEMOBRÁS - 2008) Os valores de absorvância das amostras são obtidos experimentalmente com o emprego de um espectrofotômetro.

Certo

Errado

Comentários:

A espectrofotometria, realizada em um aparelho denominado espectrofotômetro, é a medição da intensidade da luz em comprimentos de onda selecionados (entre o ultravioleta e o infravermelho). Trata-se do método de análise óptica mais utilizado nas análises químicas, biológicas e físico-químicas. Esta técnica permite comparar a radiação absorvida em função da luz transmitida, levando-se em consideração que todas as substâncias podem absorver energia radiante. O grau de absorção da radiação eletromagnética depende da concentração do soluto em solução.

Gabarito: Certo.

32. (CESPE - HEMOBRÁS - 2008) Em um laboratório de análises hematológicas são empregados diferentes tipos de aparelhos laboratoriais adequados a diferentes finalidades. Considerando-se os aparelhos comumente utilizados nesse ambiente, julgue os seguintes itens.

Os espectrofotômetros são equipamentos empregados na detecção da fluorescência emitida por amostras biológicas.

Certo

Errado

Comentários:

Os espectrofotômetros são equipamentos empregados na detecção da absorbância das amostras. Eles detectam a intensidade da luz em comprimentos de onda selecionados (entre o ultravioleta e o infravermelho), mas não realizam detecção de fluorescência.

Gabarito: Errado.

33. (UFMT - UFSBA - 2017) Para realização da dosagem de creatinina sérica, foram determinadas as absorbâncias do tubo contendo a amostra desconhecida (Absorbância = 0,750) e da amostra padrão (Absorbância = 1,000). Sabendo-se que a concentração da amostra padrão é 2,0 mg/dL e que a reação obedece à Lei de Lambert-Beer, marque a alternativa que apresenta a concentração de creatinina na amostra desconhecida.

A) 1,8 mg/dL

B) 1,0 mg/dL

C) 1,5 mg/dL

D) 2,0 mg/dL

GABARITO: C

Comentários:

A amostra padrão de **concentração 2,0 mg/dL** apresentou uma **absorbância de 1,000**.

A amostra teste de **concentração desconhecida** apresentou uma **absorbância de 0,750**.

Como a reação obedece à lei de Lambert-Beer, podemos inferir que as reações de ambas as amostras são equivalentes, logo:

2,0 _____ 1,000

C _____ 0,750

$C = \frac{2,0 \times 0,750}{1,000}$

C = 1,5 mg/dL

Gabarito: letra C.

34. (INSTITUTO AOCP - EBSERH - 2015) Muitos exames bioquímicos utilizam reações colorimétricas em sua metodologia. O equipamento que realiza a leitura dessas reações é

A) o espectrofotômetro.

B) o espectro de massa.

C) o microscópio.

D) o termociclador

E) a mufla.

Comentários:

A **alternativa A** está correta e é o gabarito da questão. O espectrofotômetro realiza leitura de reações colorimétricas.

A **alternativa B** está incorreta. A espectrometria de massa é uma técnica que mede a razão massa-carga dos íons.

A **alternativa C** está incorreta. O microscópio é um instrumento usado para ver objetos pequenos demais para serem vistos a olho nu.

A **alternativa D** está incorreta. O termociclador é um aparelho empregado na técnica de reação em cadeia da polimerase.

A **alternativa E** está incorreta. A mufla é uma espécie de estufa que utiliza altas temperaturas para realizar a calcinação de substâncias.

35. (Prefeitura de Fortaleza - CE - 2016) Assinale opção correta. A função do tubo contendo a substância que desempenha o papel do branco na reação é corrigir a absorbância causada pela:

A) turbidez da amostra.

B) hiperbilirrubinemia.

C) hemólise.

D) cor dos reagentes.

Comentários:

A **alternativa A** está incorreta. Não é possível realizar um "tubo branco" para turbidez da amostra, portanto, tal interferente deve ser evitado.

A **alternativa B** está incorreta. Não é possível corrigir com um "tubo branco" a cor da bilirrubina de uma amostra, por este motivo, tal interferente deve ser evitado.

A **alternativa C** está incorreta. Não é possível anular a interferência da hemólise em uma amostra com um "tubo branco", logo este interferente deve ser evitado.

A **alternativa D** está correta e é o gabarito da questão. Ao realizar uma técnica fotométrica, devemos fazer um "tubo branco" contendo apenas o reagente e água, para anular a interferência da cor inicial do reagente no tubo teste.

36. (FUNRIO - UFRB - 2015) Considere as afirmativas abaixo e assinale a alternativa correta.

I. A Nefelometria é uma técnica frequentemente empregada para medir as concentrações de IgA, IgM e IgG e outras proteínas plasmáticas.

II. A Imunoturbidimetria mede a diminuição da luz ao passar por um complexo antígeno-anticorpo, ou seja, mede o quanto esta solução absorve da luz e o quanto ela deixa passar. Essa técnica, assim como a nefelometria, é usada para medir a concentração plasmática de diversas proteínas.

III. A principal diferença entre nefelometria e turbidimetria é que na nefelometria a luz difundida, ou seja, aquela que atravessa a solução é medida, enquanto que na turbidimetria a luz não difundida (a absorvida) é medida.

A) Apenas a afirmativa I é verdadeira.

B) Apenas a afirmativa II é verdadeira.

C) Apenas a afirmativa III é verdadeira.

D) Apenas as afirmativas I e II são verdadeiras.

E) Todas as afirmativas são verdadeiras.

Comentários:

I. Certa: a técnica de nefelometria pode ser empregada na medição de imunoglobulinas e outras proteínas plasmáticas.

II. Certa: A turbidimetria é um método que se baseia na medida da redução da transmissão de luz em um meio, causada pela formação de partículas e consequente turvação da solução.

III. Certa: Turbidimetria é a medida da luz transmitida após contato com solução turva. Nefelometria é a medida da luz dispersa após contato com solução turva.

Todas as afirmativas são verdadeiras.

Gabarito: alternativa E.

37. (INSTITUTO AOCP - EBSERH - 2015) A maior parte dos exames realizados no setor de bioquímica dos laboratórios de análises clínicas utiliza qual dos materiais a seguir?

A) Soro.

B) Urina.

C) Lavado brônquico.

D) Secreções genitais

E) Suor.

Comentários:

A maior parte dos exames realizados no setor de bioquímica dos laboratórios de análises clínicas utiliza o **soro** como amostra biológica.

Gabarito: alternativa A.

38. (PR-4 UFRJ - 2012) Em relação à técnica de turbidimetria é correto afirmar que a turbimetria é a quantificação:

A) da redução da absorbância da luz causada pela presença de uma partícula;

B) do aumento na transmissão da luz causada pela formação de uma partícula;

C) do aumento da absorbância da luz causada pela presença de uma partícula;

D) da redução na transmissão da luz causada pela formação de uma partícula;

E) do aumento da fluorescência causada pela formação de uma partícula.

Comentários:

Em relação à técnica de turbidimetria é correto afirmar que a turbimetria é a quantificação da **redução na transmissão da luz causada pela formação de uma partícula**.

Gabarito: alternativa D.

39. (IADES - SES-DF - 2014) Com relação à coleta de amostras de sangue venoso, é correto afirmar que um dos anticoagulantes mais utilizados em função da sua alta solubilidade é o

A) NaCl.

B) H_2O_2.

C) $CaCl_2$.

D) HCl.

E) EDTA.

Comentários:

Dentre as alternativas, a única que representa um anticoagulante utilizado para coleta de sangue venoso é o **EDTA**.

Gabarito: alternativa E.

40. (IADES - SES-DF - 2014) Anticoagulantes são substâncias que impedem a formação de coágulos no sangue, inibindo a síntese dos fatores de coagulação. Acerca desse tema, assinale a alternativa que apresenta apenas substâncias com essas características.

A) EDTA, heparina, citrato de sódio e fluoreto de sódio.

B) EDTA, glicerina, citrato de sódio e cloreto de sódio.

C) Heparina, polivinil metacrilamida, lugol e ácido acético.

D) Citrato de potássio, fluoreto de potássio, EDTA e polivinil metacrilamida.

E) Glicerina, lugol, heparina e fluoreto de potássio.

Comentários:

A **alternativa A** está correta e é o gabarito da questão. EDTA, heparina, citrato de sódio e fluoreto de sódio são substâncias usadas como anticoagulantes.

A **alternativa B** está incorreta. Glicerina e cloreto de sódio não são anticoagulantes.

A **alternativa C** está incorreta. Polivinil metacrilamida, lugol e ácido acético não são anticoagulantes.

A **alternativa D** está incorreta. Citrato de potássio, fluoreto de potássio e polivinil metacrilamida não são anticoagulantes.

A **alternativa E** está incorreta. Glicerina, lugol e fluoreto de potássio não são anticoagulantes.

41. (IADES - SES-DF - 2014) A coleta da amostra biológica pode ser o momento de maior tensão para o paciente e também para o profissional do laboratório. Portanto, seguir protocolos específicos auxilia na diminuição de erros que podem ocorrer. Em relação a esse assunto, assinale a alternativa correta.

A) A coleta e o transporte da amostra fazem parte da fase analítica do exame laboratorial.

B) No momento da pré-coleta, o laboratório deve fornecer ao paciente todas as informações necessárias para a realização dos exames.

C) A identificação incorreta da amostra não causa prejuízo às demais etapas do processo.

D) A amostra deve ser transportada e preservada em recipiente heterotérmico, higienizável e permeável, o que garante estabilidade desde a coleta até a realização do exame.

E) O recipiente de transporte deve ser identificado com a simbologia de risco tóxico, com a informação "espécimes para diagnóstico" e com o nome do laboratório responsável pelo envio.

Comentários:

A **alternativa A** está incorreta. A coleta e o transporte da amostra fazem parte da fase **pré-analítica** do exame laboratorial.

A **alternativa B** está correta e é o gabarito da questão. O paciente deve ser devidamente informado sobre o procedimento ao qual irá se submeter, assim como eventuais preparos necessários para a realização dos exames.

A **alternativa C** está incorreta. Falha na identificação da amostra é um **grave erro pré-analítico**, pois não será possível saber com certeza a quem a amostra pertence. Nesses casos, deve-se proceder com uma recoleta do material biológico.

A **alternativa D** está incorreta. A amostra de paciente deve ser transportada e preservada em recipiente **isotérmico**, quando requerido, higienizável, **impermeável**, garantindo a sua estabilidade desde a coleta até a realização do exame.

A **alternativa E** está incorreta. O recipiente de transporte deve ser identificado com a simbologia de **risco biológico**, com os dizeres "Espécimes para Diagnóstico" e com nome do laboratório responsável pelo envio.

42. (IADES - SES-DF - 2014) O componente do microscópio de luz responsável por concentrar a luz da lâmpada e projetar um feixe luminoso sobre o espécime é o (a)

A) prisma.

B) espelho.

C) lente objetiva.

D) lente ocular.

E) condensador.

Comentários:

Conforme estudamos, o componente do microscópio de luz responsável por concentrar a luz da lâmpada e projetar um feixe luminoso sobre o espécime é o **condensador**.

Gabarito: alternativa E.

43. (IADES - SES-DF - 2014) Considere a necessidade de utilização de uma balança de prato externo digital para a pesagem de determinada quantidade de substância em pó, em um recipiente de vidro. Em relação a esse procedimento, assinale a alternativa que indica uma atitude correta.

A) Acionar o sistema de ventilação da sala para evitar o aquecimento da balança.

B) Colocar sobre o prato da balança a substância a ser pesada.

C) Acionar o botão de tara antes de colocar o recipiente sobre o prato da balança.

D) Ligar, zerar e, posteriormente, nivelar a balança.

E) Após a pesagem, retirar o recipiente com a substância, zerar novamente a balança, desligando-a posteriormente.

Comentários:

A **alternativa A** está incorreta. Como a balança é muito sensível, antes de usá-la, deve-se conferir se não há nenhum fluxo de ar no laboratório, pois o vento pode interferir na pesagem.

A **alternativa B** está incorreta. A substância em pó não deve ser colocada diretamente sobre o prato da balança, mas sobre um recipiente. Além disso, antes de se adicionar a substância, a balança deve ser tarada apenas com o recipiente de vidro que irá conter a substância em pó.

A **alternativa C** está incorreta. O botão tara deve ser acionado após a colocação do recipiente sobre o prato da balança, e antes de se adicionar a substância em pó que será pesada.

A **alternativa D** está incorreta. A balança deve ser nivelada antes de ser zerada.

A **alternativa E** está correta e é o gabarito da questão. Após se concluir a pesagem, deve-se retirar o recipiente com a substância, zerar a balança novamente e, em seguida, desligá-la.

44. (IADES - SES-DF - 2014) A deionização da água tem como objetivo

A) aumentar a sua pureza e condutividade

B) aumentar a sua pureza e diminuir a condutividade.

C) torná-la potável.

D) acrescentar sais minerais.

E) aumentar a sua viscosidade.

Comentários:

A deionização é um processo que remove quase todos os íons minerais da água (partículas carregadas eletricamente), como cátions (partículas com carga positiva) como sódio, cálcio, ferro e cobre, e ânions (partículas com carga negativa) como cloreto e sulfato. Como resultado, obtém-se uma água **quimicamente pura** com **baixa condutividade** (similar à água bidestilada).

Gabarito: alternativa B.

45. (IADES - SES-DF - 2014) Quanto à filtração com carvão ativado, é correto afirmar que as substâncias orgânicas são retiradas da água por meio de

A) adsorção orgânica.

B) foto-oxidação

C) osmose.

D) troca iônica.

E) centrifugação.

Comentários:

O **carvão ativado** realiza **adsorção orgânica** (por ser poroso, o carvão retém as impurezas da solução em seu interior).

Gabarito: alternativa A.

46. (QUADRIX - SEE/DF - 2018 - adaptada) No que se refere a equipamentos de laboratório, julgue os itens a seguir

I. A centrifugação diferencial (separação de fases) de uma amostra de sangue para obtenção de soro ou plasma pode ser realizada por centrífuga refrigerada de bancada.

II. Deve-se evitar o uso de frascos de vidro refratário para esterilização de líquidos nas autoclaves.

Está(ão) correta(s) a(s) afirmativa(s):

A) I e II.

B) Apenas I.

C) Apenas II.

D) Ambas estão erradas.

Comentários:

Vamos analisar cada uma das afirmativas:

I: Certa. O soro ou plasma deve ser separado dos elementos celulares do sangue através da **centrifugação** dentro de no máximo 2 horas após a coleta. O processo de centrifugação é realizado em um equipamento chamado centrífuga, que está disponível em vários modelos, incluindo a **centrífuga refrigerada de bancada**.

II: Errada. Uma **autoclave** é uma câmara de pressão usada para executar processos industriais e científicos que exigem temperatura e pressão elevadas, diferentes da pressão do ar ambiente. O **calor úmido** e a **pressão elevada** no interior das autoclaves são os fatores que promovem a **esterilização** (eliminação de microrganismos). Por este motivo, o processo realizado em uma autoclave é denominado de **esterilização por calor úmido**. Os **frascos de vidro refratário** são adequados para uso em autoclaves, uma vez que este tipo de **material suporta temperaturas muito altas e muito baixas** sem quebrar.

Logo, apenas a afirmativa I está correta.

Gabarito: alternativa B.

47. (QUADRIX - SEE/DF - 2018 - adaptada) Julgue os seguintes itens, relativos a controle de qualidade no laboratório clínico.

I. Na fase pré-analítica, uma amostra hemolisada do sangue dificilmente afetará o resultado do exame.

II. Caso um profissional de biomedicina realize, durante todo o ano, o preparo de soluções, utilizando o medidor de pH duas vezes ao dia, ele deverá calibrar esse aparelho uma vez a cada semestre.

Está(ão) correta(s) a(s) afirmativa(s):

A) I e II.

B) Apenas I.

C) Apenas II.

D) Ambas estão erradas.

Comentários:

I: Errada. A hemólise **interfere em quase todos os testes** bioquímicos, não sendo recomendado o uso de amostras hemolisadas para as análises.

II: Errada. A calibração do medidor de pH deve ser realizada **uma vez por mês**. Além disso, a **cada vez que o equipamento é desligado** da tomada, uma nova calibração deve ser realizada.

Logo, ambas as afirmativas estão erradas.

Gabarito: alternativa D.

REFERÊNCIAS

ANVISA / MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para o controle de infecção hospitalar: Módulo I/Programa Nacional de Controle de Infecção Hospitalar – Brasília: 2000. 56 p.

BRAGA, Karla Márcia da Silva *et al*. Citometria de fluxo: histórico, princípios básicos e aplicações em pesquisa. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.23; p. 2016.

BURTIS, Carl, A. BRUNS, David E. Tietz Fundamentos de Química Clínica e Diagnóstico Molecular. Tradução da 7a edição. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda. 2016.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. CLSI/NCCLS). Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI/NCCLS document M47-A Vol.27 No.17 (Replaces M47-P Vol.26 No.31). Wayne, PA USA:NCCLS, 2007.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE(CLSI/ NCCLS). Blood Gas and pH Analysis and Related Measurements; Approved Guideline-Second Edition. CLSI/NCCLS document C46-A2 Vol.29 Nº8 (Replaces C46-A Vol.21 Nº14). Wayne, PA USA:NCCLS, 2009.

KROLL, M.H. Evaluating sequential values using time-adjusted biological variation. Clin Chem Lab Med2002 May;40(5):499-504.

KUMAR, V.; GILL, K.D. Photometry: Colorimeter and Spectrophotometer. In: Basic Concepts in Clinical Biochemistry: A Practical Guide. Springer, Singapore. 2018.

LIMA, L.S. (2013). Lei de Lambert–Beer. Rev. Ciência Elem., V1(01):047. doi.org/10.24927/rce2013.047.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 6710.2 / 2002- Single-use containers for human venous blood specimen collection. [revision of first edition(6710:1995)].

OLIVEIRA, Evelyn de *et al*. Eletroforese: conceitos e aplicações. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11, n.22, p. 1129-1149, 2015.

SEEP/PR - Secretaria da Educação do Paraná. Galerias de Imagens > Instrumentos de Laboratório. Disponível em: <http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/fotos.php?evento=6>. Acesso em: 14 nov. 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso – 2. ed. Barueri, SP : Minha Editora, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): coleta e preparo da amostra biológica. – Barueri, SP : Manole : Minha Editora, 2014.

TIETZ – BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D.E. Fundamentos de Química Clínica. 6ª edição. Editora Saunders Elsevier, 2008.

VIDRARIA DE LABORATÓRIO. 2012. Disponível em: <http://www.vidrariadelaboratorio.com.br/vidrarias-de-laboratorio-2/>. Acesso em: 14 nov. 2019.

GABARITO



1. B
2. D
3. E
4. B
5. B
6. A
7. B
8. A
9. B
10. B
11. C
12. D
13. A
14. D
15. C
16. C
17. A
18. B
19. E
20. A
21. C
22. D
23. D
24. C
25. ERRADO
26. B
27. A
28. CERTO
29. CERTO
30. CERTO
31. CERTO
32. ERRADO
33. C
34. A
35. D
36. E
37. A
38. D
39. E
40. A
41. B
42. E
43. E
44. B
45. A
46. B
47. D

ESSA LEI TODO MUNDO CONHECE:
PIRATARIA É CRIME.

Mas é sempre bom revisar o porquê e como você pode ser prejudicado com essa prática.

1. 

Professor investe seu tempo para elaborar os cursos e o site os coloca à venda.

2. 

Pirata divulga ilicitamente (grupos de rateio), utilizando-se do anonimato, nomes falsos ou laranjas (geralmente o pirata se anuncia como formador de "grupos solidários" de rateio que não visam lucro).

3. 

Pirata cria alunos fake praticando falsidade ideológica, comprando cursos do site em nome de pessoas aleatórias (usando nome, CPF, endereço e telefone de terceiros sem autorização).

4. 

Pirata compra, muitas vezes, clonando cartões de crédito (por vezes o sistema anti-fraude não consegue identificar o golpe a tempo).

5. 

Pirata fere os Termos de Uso, adultera as aulas e retira a identificação dos arquivos PDF (justamente porque a atividade é ilegal e ele não quer que seus fakes sejam identificados).

6. 

Pirata revende as aulas protegidas por direitos autorais, praticando concorrência desleal e em flagrante desrespeito à Lei de Direitos Autorais (Lei 9.610/98).

7. 

Concurseiro(a) desinformado participa de rateio, achando que nada disso está acontecendo e esperando se tornar servidor público para exigir o cumprimento das leis.

8. 

O professor que elaborou o curso não ganha nada, o site não recebe nada, e a pessoa que praticou todos os ilícitos anteriores (pirata) fica com o lucro.



Deixando de lado esse mar de sujeira, aproveitamos para agradecer a todos que adquirem os cursos honestamente e permitem que o site continue existindo.