

Aula 00

*UNESP (Assistente de Suporte
Acadêmico III - Análises Químicas e
Microbiológicas) Conhecimentos
Específicos (Parte de Microbiologia e
Análises) 2024 (Pós-Edital)*

Autor:

Ana Cristina dos Santos Lopes

03 de Abril de 2024

Índice

1) Métodos Laboratoriais (Introdução)	3
2) Fotometria (Lei de Lambert Beer)	5
3) Colorimetria	9
4) Espectrofotometria	11
5) Quimioluminescência	13
6) Nefelometria e Turbidimetria	14
7) Fotometria de Chama	15
8) Fluorimetria	16
9) Citometria de Fluxo	17
10) Eletroforese	19
11) Cromatografia	21
12) Eletrodo Íon Seletivo	24
13) Volumetria	26
14) Gravimetria	27
15) Curva de Calibração	28
16) Tipos de Reações	30
17) Métodos Laboratoriais - Questões	36
18) Métodos Laboratoriais - Referências	49



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.

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



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 atravessa uma solução, uma certa **quantidade de luz é absorvida pela solução** (**absorbância** ou **absorvância**) e, conseqüentemente, 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, turbidimetria 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 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.

(IMPARH - Prefeitura de Fortaleza - CE - 2021) Em uma determinação espectrofotométrica de glicemia utilizando a enzima glicose oxidase por meio do método de Trinder, obteve-se a absorbância de 0,400 para a amostra do paciente e um fator de calibração igual a 250 ao se utilizar um padrão de concentração 100 mg/dL. Logo, segundo a lei de Lambert-Beer, a glicemia do paciente seria:

- A) 200 mg/dL.
- B) 160 mg/dL.
- C) 140 mg/dL.
- D) 100 mg/dL.

Comentários:

Quando o enunciado traz o fator de calibração, devemos multiplicar a absorbância obtida para a amostra por este fator. Logo, resolvemos esta questão multiplicando 0,400 (absorbância da amostra) por 250 (fator de calibração).

$$0,400 \times 250 = 100$$

Logo, a glicemia do paciente é de **100 mg/dL**.

Gabarito: alternativa D.



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.



(INSTITUTO AOCP - Prefeitura de João Pessoa - PB - 2021) Na rotina do Laboratório de Análises Clínicas, muitas são as metodologias utilizadas. Algumas técnicas mensuram a intensidade da luz absorvida em certo comprimento de onda específico para soluções coloridas. A qual metodologia o enunciado se refere?

- A) Espectrofotometria.
- B) Cromatografia.
- C) Colorimetria.
- D) Imunofluorescência.
- E) Quimioluminescência.

Comentários:

A uma técnica usada para determinar a **concentração de compostos coloridos** na solução da amostra no **espectro visível da luz** é a **colorimetria**.

Gabarito: alternativa C.



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

- A) Lambert-Beer.
- B) Gay-Lussac.
- C) Ação das massas.
- D) Lewis.
- E) Nernst.

Comentários:

Letra A: correta. 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.



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.



Qual a diferença entre colorimetria e espectrofotometria?

A **colorimetria** é capaz de 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.



(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.

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.

(RBO - PBH - 2021) Assinale a alternativa que corresponde ao equipamento utilizado para determinar os valores de transmitância (luz transmitida) e absorbância (luz absorvida) de uma solução em um comprimento de onda.

A) Manômetro.

B) Citômetro.

C) Refratômetro.

D) Espectrofotômetro.

Comentários:

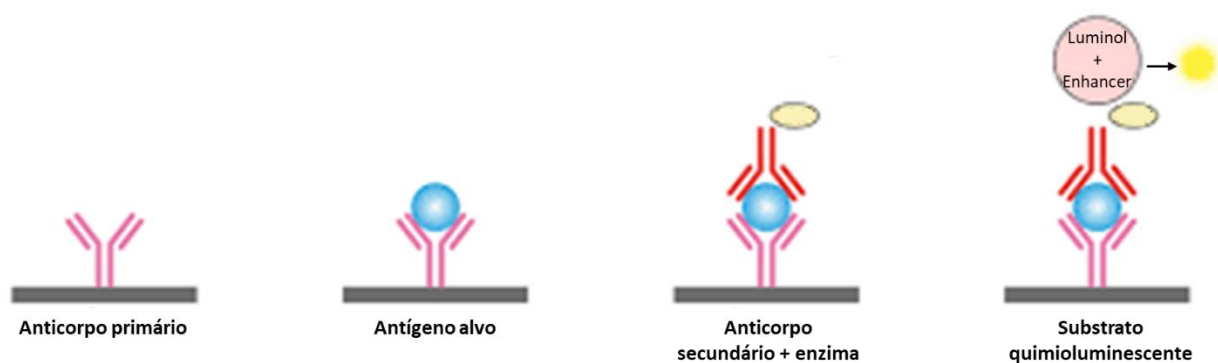
O enunciado se refere ao **espectrofotômetro**, equipamento que realiza a medição da intensidade da luz em comprimentos de onda selecionados (entre o ultravioleta e o infravermelho).

Gabarito: alternativa D.



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**.



Nefelometria e Turbidimetria

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 90° 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.

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.



(CPCON - Prefeitura de Viçosa - RN - 2021) A reação sorológica baseada na luz difundida, a que atravessa a solução de imunocomplexos, é:

- A) ELISA (Enzima imuno-ensaio).
- B) Turbidimetria.
- C) Nefelometria.
- D) Eletroforese.
- E) Imunodifusão radial.

Comentários:

A luz difundida (ou dispersa) é determinada através da técnica de **nefelometria**.

Gabarito: alternativa C.



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**.

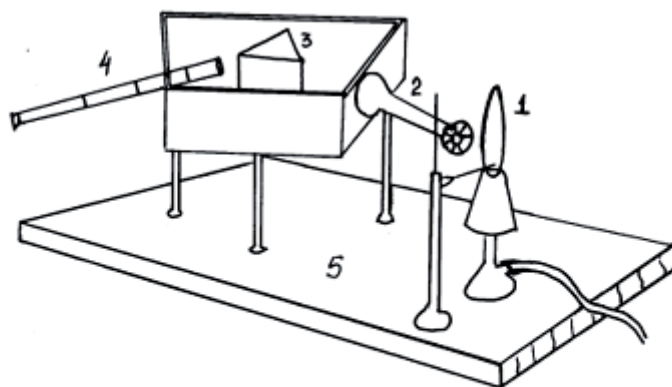


Figura 1. Esquema do espectrômetro construído por Bunsen e Kirchhoff⁸:
1- chama, fonte de excitação; 2- colimador; 3- prisma; 4- telescópio e 5- plataforma

Fonte: OKUMURA, Fabiano; CAVALHEIRO, Éder TG; NÓBREGA, Joaquim A. Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 832-836, 2004.

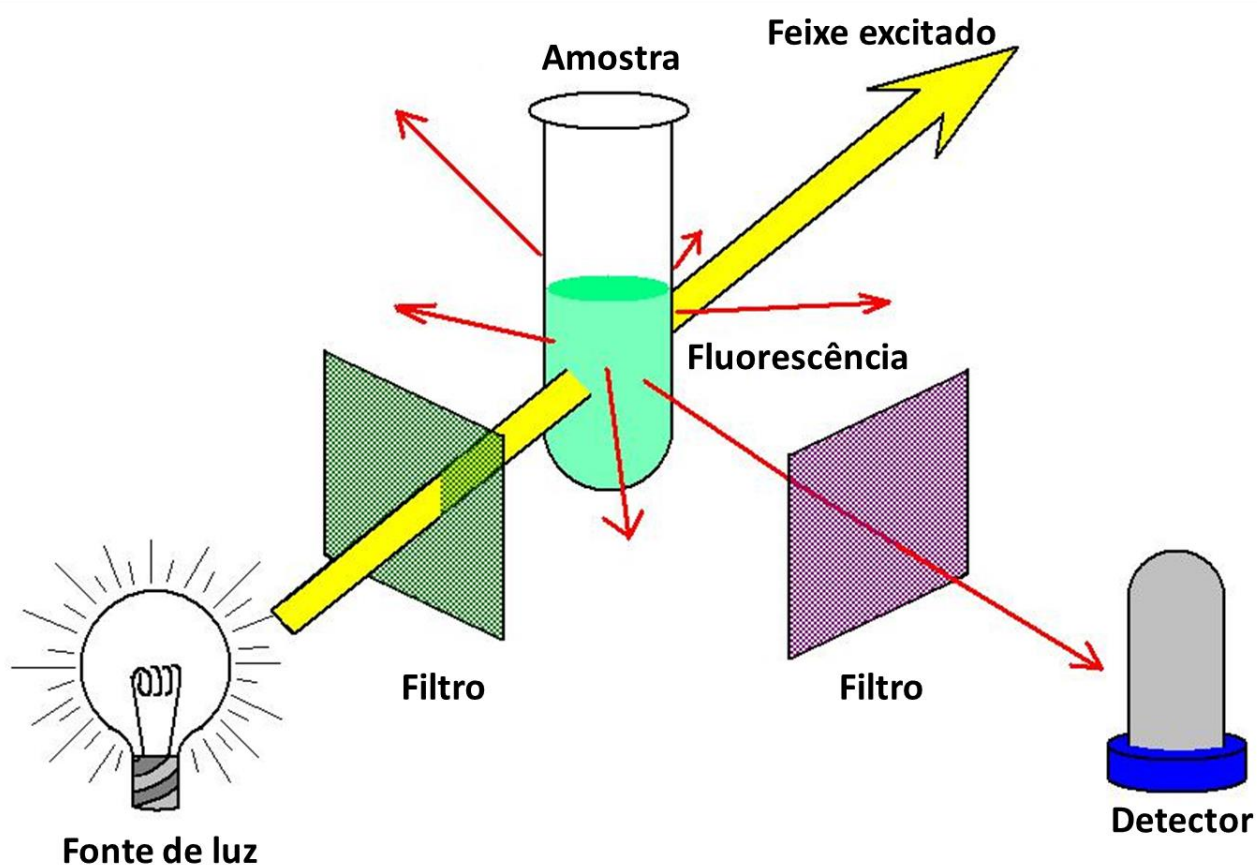


Legenda: Fotômetro de chama.

Fonte: https://en.wikipedia.org/wiki/Photoelectric_flame_photometer#/media/File:Auto_Flapho_FP880o.jpg

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**.



Legenda: Esquema geral de um fluorímetro.

Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Fluor%C3%ADmetro#/media/Ficheiro:Fluorimeter2.JPG>

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.

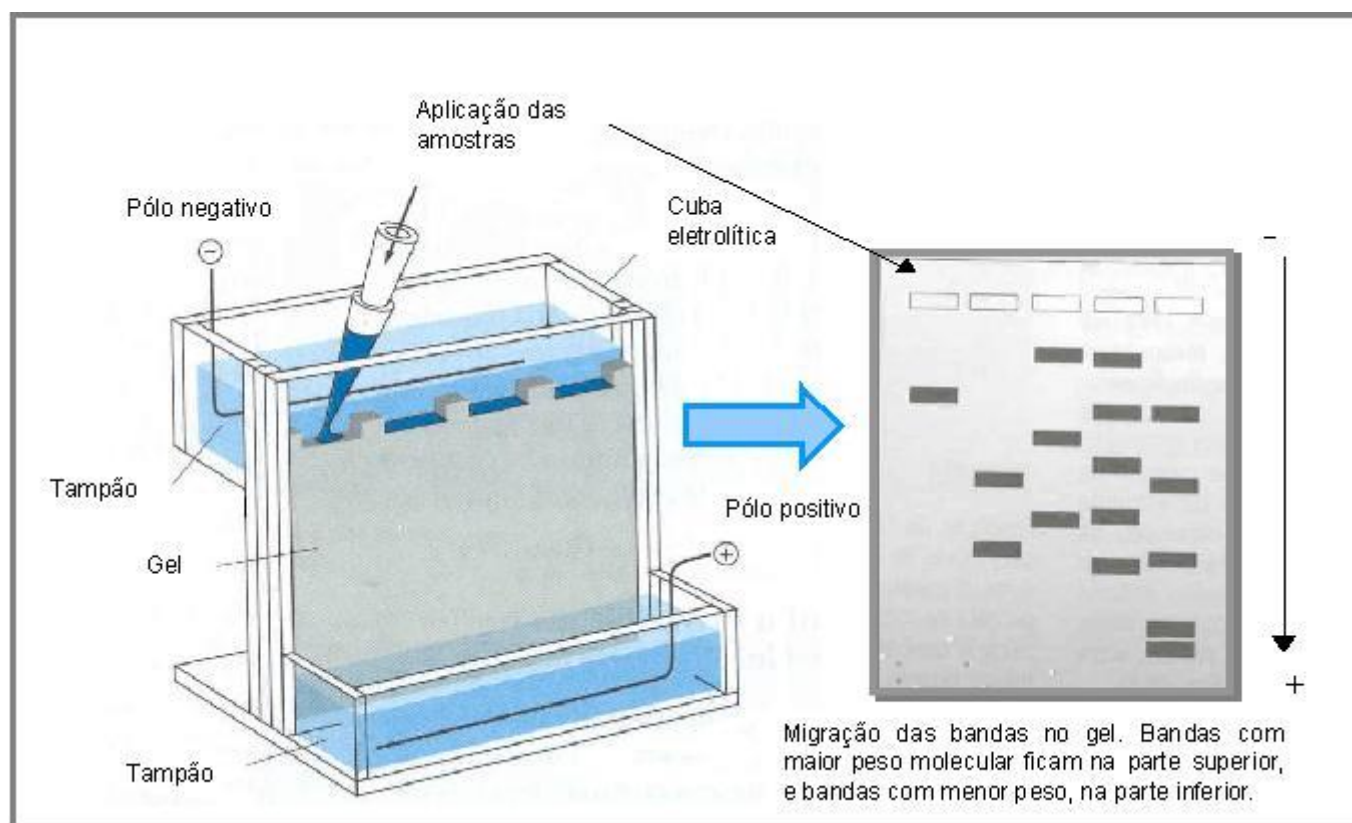
Letra D: correta. A citometria de fluxo é capaz de detectar e medir diferentes características físicas e químicas de uma população de células ou partículas. **Este é o nosso gabarito.**

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.



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.



Legenda: Representação esquemática da eletroforese.
Fonte: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_doo6f1.htm



(Cebbraspe - Rede Sarah- 2022) A eletroforese é uma técnica empregada na separação e também purificação de macromoléculas, como proteínas e ácidos nucleicos, que são colocadas sob a influência de um campo elétrico e migram para um polo positivo ou negativo, dependendo de sua carga. No caso da eletroforese desnaturante de proteínas, emprega-se um detergente que confere cargas negativas às moléculas proteicas, garantindo a migração dessas moléculas dentro desse campo elétrico.

Assinale a opção que corresponde ao detergente utilizado na referida técnica.

- A) acrilamida
- B) SDS (dodecil sulfato de sódio)
- C) TEMED (N,N,N',N'-tetrametiletilenodiamina)
- D) persulfato de amônio

Comentários:

Letra A: errada. A acrilamida é uma substância usada juntamente com a bis-acrilamida para formar o gel de poliacrilamida.

Letra B: correta. O SDS é um detergente aniônico usado em técnicas como a extração de ácidos nucleicos e no preparo de géis SDS-Page, que são usados na técnica de eletroforese. O SDS é capaz de promover lise celular, solubilizar lipídios e desnaturar proteínas, além de inibir a atividade enzimática. **Este é o nosso gabarito.**

Letra C: errada. O TEMED é um catalisador da polimerização da acrilamida e bis-acrilamida.

Letra D: errada. O persulfato de amônio é um iniciador da polimerização, atuando como uma fonte de radicais livres.



Cromatografia

Assim como a eletroforese, 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.

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.

Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa (GC) é uma das técnicas populares de cromatografia para separar compostos ou substâncias voláteis. A **fase móvel** é um **gás** como o **hélio**, e a **fase estacionária** é um **líquido** com alto ponto de ebulição que é **adsorvido em um sólido**. Devido à sua simplicidade, alta sensibilidade e capacidade de separar misturas com eficácia, a cromatografia gasosa se tornou uma das ferramentas mais importantes da química.

O princípio da cromatografia gasosa

Os componentes da mistura são distribuídos entre duas fases, uma das quais é uma fase estacionária e a outra é um gás de fase móvel, ou gás portador, que transporta a mistura através da fase estacionária. Os compostos na fase móvel interagem com a fase estacionária à medida que passam. Devido às diferenças nas propriedades e estruturas de cada componente, o tamanho e a afinidade de cada interação com a fase estacionária são diferentes. Portanto, sob a mesma força motriz, o **tempo de retenção** dos diferentes componentes difere na coluna, saindo da coluna em **ordens diferentes**.

Vantagens da cromatografia gasosa

- 1) Alta eficiência de separação e velocidade de análise: por exemplo, amostras de gasolina podem obter mais de 200 picos cromatográficos em 2 horas. Uma análise geral da amostra pode ser concluída em 20 minutos.
- 2) Pequeno consumo de amostra e alta sensibilidade de detecção: 1 ml de consumo de amostra de gás, 0,1 µl de consumo de amostra líquida, alguns mg de consumo de amostra sólida. Os detectores adequados podem detectar impurezas em dezenas a algumas partes por milhão.
- 3) A cromatografia gasosa tem boa seletividade e pode ser usada para analisar misturas azeotrópicas e amostras com pontos de ebulição próximos.



4) Ampla gama de aplicações, embora seja principalmente usada para analisar gases e substâncias orgânicas voláteis; sob certas condições, também pode ser usada para analisar substâncias de alto ponto de ebulição e amostras sólidas.

Desvantagens da cromatografia gasosa

Ela só pode ser usada para analisar **substâncias voláteis**. Algumas substâncias altamente polares podem ser derivadas para aumentar sua volatilidade para análise de GC, mas o processo pode ser complexo e pode introduzir erros na análise quantitativa.

Como funciona a cromatografia de gás?

Primeiro, a amostra é introduzida em uma corrente de gás inerte, ou um transportador, que geralmente é hélio ou argônio. Para uma amostra de líquido, ela precisa ser evaporada antes de ser injetada no transportador. Os componentes da amostra se movem pela coluna compactada a uma taxa afetada pelo grau de interação de cada componente com a fase estacionária não volátil. As substâncias que interagem mais com a fase estacionária são atrasadas e, portanto, separadas das substâncias que interagem menos. Quando os componentes são eluídos da coluna, eles podem ser quantificados e / ou coletados por meio do detector para análise posterior.

Compostos adequados para análise de GC

Os componentes que podem ser analisados com GC têm as três características principais a seguir:

- Compostos com ponto de ebulição de até 400°C
- Compostos que não são decompostos em sua temperatura de vaporização
- Compostos que se decompõem em sua temperatura de vaporização, mas sempre na mesma quantidade. Isso é chamado de pirólise GC.

Compostos que não podem ser analisados ou são difíceis de analisar com GC

Compostos que não podem ser analisados

- Compostos que não vaporizam (metais inorgânicos, íons e sais)
- Compostos altamente reativos e compostos quimicamente instáveis (ácido fluorídrico e outros ácidos fortes, ozônio, NOx e outros compostos altamente reativos)



Compostos que são difíceis de analisar

- Compostos altamente adsorptivos (compostos contendo um grupo carboxila, grupo hidroxila, grupo amino ou enxofre)
- Compostos para os quais as amostras padrão são difíceis de obter (as análises qualitativas e quantitativas são difíceis).

Cromatografia líquida

A cromatografia líquida (LC) é uma técnica de **separação** em que a **fase móvel** é um **líquido**, onde os íons ou moléculas da amostra são dissolvidos. É executada em uma **coluna** ou um **plano**. A amostra com o líquido móvel passará pela coluna ou plano, que é embalado por uma fase estacionária composta por partículas de formato irregular ou esférico. Devido às **diferenças na troca iônica, adsorção, partição** ou **tamanho**, diferentes solutos irão interagir com a fase estacionária em diferentes graus e, portanto, a separação dos compostos pode ser alcançada e o tempo de trânsito dos solutos através da coluna pode ser determinado pela utilização dessas diferenças.

A LC convencional é comumente usada na etapa de preparação da amostra para **purificar** e **isolar** alguns componentes de uma **mistura**. Atualmente, a cromatografia líquida geralmente utiliza partículas de empacotamento muito pequenas e uma pressão relativamente alta para separações analíticas de soluções, detecção e quantificação, conhecidas como **cromatografia líquida de alta performance (HPLC)**. A HPLC pode fornecer uma resolução muito alta (até partes por trilhão) e um tempo de análise rápido.



Eletrodo Íon Seletivo

O **eletrodo íon seletivo** (EIS) 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.

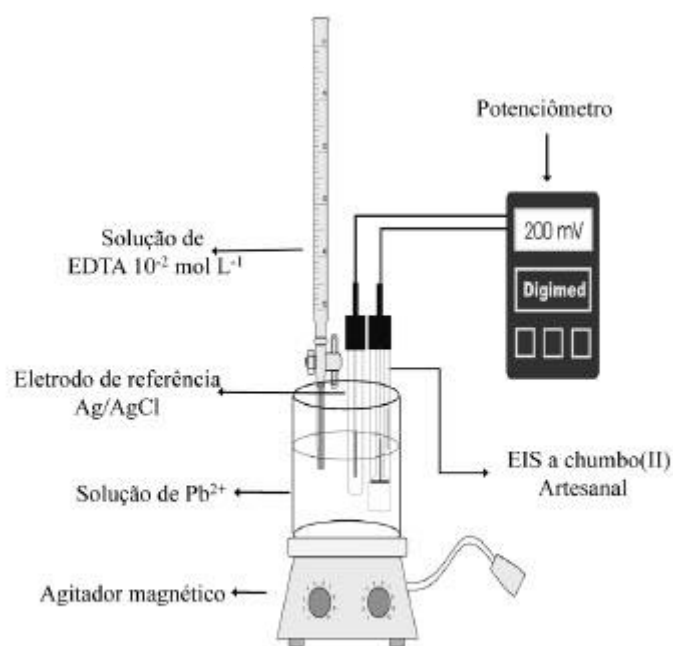


Figura 2. Sistema utilizado para a determinação potenciométrica de íons Pb^{2+}

Fonte: SILVA, Jonatas Gomes da; LEHMKUHL, Arilson; ALCANFOR, Silvia Keli de Barros. Construção artesanal de um eletrodo íon seletivo a Chumbo (ii): uma alternativa para disciplinas experimentais. *Química Nova*, v. 32, n. 4, p. 1055-1058, 2009.



(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, conseqüentemente, 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.**

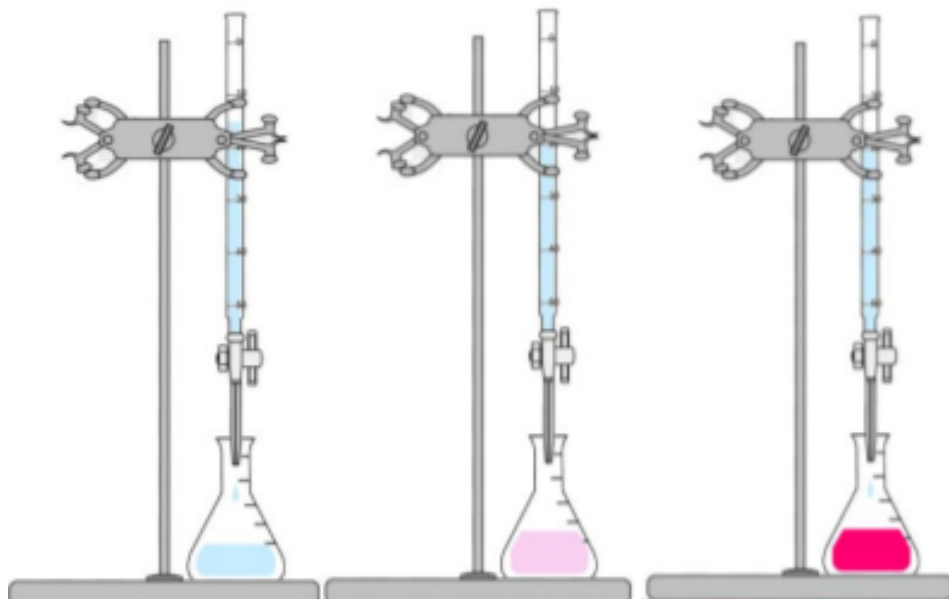
Letra D: errada. Na fotometria de chama, uma amostra contendo cátions metálicos é inserida em um chama e analisada pela quantidade de radiação emitida. O princípio metodológico descrito é o da **turbidimetria**.

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 conseqüente turvação da solução. A alternativa descreve a técnica de **fotometria de chama**.



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.



Legenda: Representação esquemática de uma volumetria de neutralização/acidimetria. À esquerda: a solução na bureta está com a cor inicial. Ao meio: solução na bureta assume a cor relativa ao ponto-final do volume adicionado. À direita: solução na bureta assume a cor que indica que o ponto-final foi ultrapassado.

Fonte: Figura adaptada de DA SILVA, Isabel Cristina Siqueira; DA SILVA, Rubia Mara Siqueira. Simulador de Volumetria-Uma Ferramenta para Auxiliar o Ensino Remoto de Conceitos de Titulação. In: Anais dos Workshops do IX Congresso Brasileiro de Informática na Educação. SBC, 2020. p. 195-202.

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, empregam-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, empregam-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.

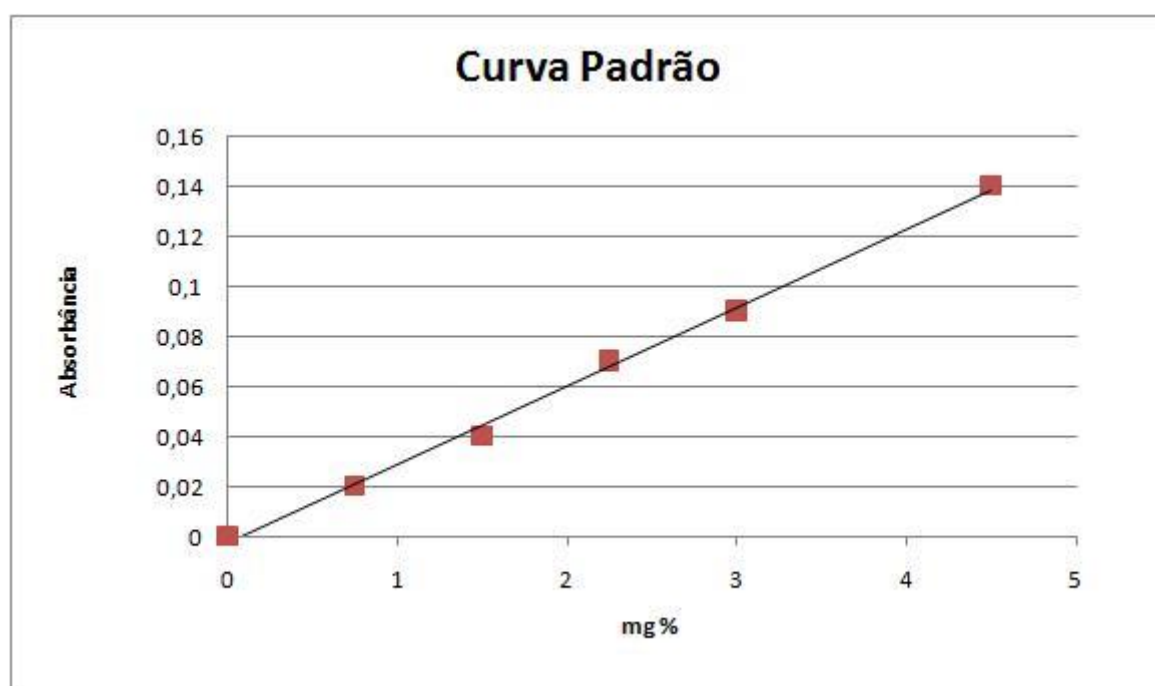


Curva de calibração

Uma **curva de calibração**, também conhecida como **curva padrão**, é um método para determinar a concentração de uma substância (analito) em uma amostra desconhecida, comparando-a a um conjunto de **amostras padrão de concentração conhecida**.

A curva de calibração é um **gráfico** de como a resposta instrumental (**sinal analítico**) muda com a concentração do analito (a substância a ser medida). O analista deve preparar uma série de padrões dentro de uma faixa de concentrações que estejam próximas à concentração esperada do analito na amostra desconhecida. A análise de cada um desses padrões por uma determinada técnica produz uma série de resultados de medições. Para a maioria das análises, um **gráfico da concentração vs. resposta do instrumento** apresentará uma **relação linear**. Dessa forma, através da medida da resposta de uma amostra desconhecida, usando a curva de calibração, o operador pode interpolar e encontrar a concentração do analito.

A figura abaixo representa uma curva de calibração de **absorbância** (medida em um espectrofotômetro) vs. **concentração** do analito em mg%.



Fonte: https://www.ufrgs.br/leo/site_espec/curvapadiao.html





Fator de calibração

O fator de calibração pode ser determinado através da medição da absorbância de um calibrador de valor conhecido. Podemos usar o fator de calibração para calcular a concentração de uma amostra desconhecida através da comparação com um calibrador (cuja concentração é conhecida). Porém, o seu emprego é restrito às reações que obedecem à Lei de Lambert-Beer.

Fonte: Labtest.



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.

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 formado alcança um ponto máximo de detecção e se mantém inalterado por um determinado intervalo de tempo.

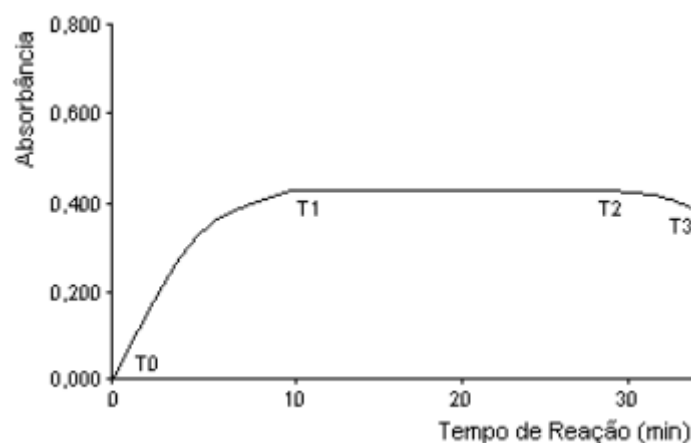
As **reações colorimétricas** são aquelas nas quais o produto formado **possui uma cor** cuja intensidade (energia radiante transmitida/absorvida) pode ser medida na **faixa visível do espectro eletromagnético** (400 a 680nm). As reações colorimétricas podem ser de ponto final ou cinéticas.

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.



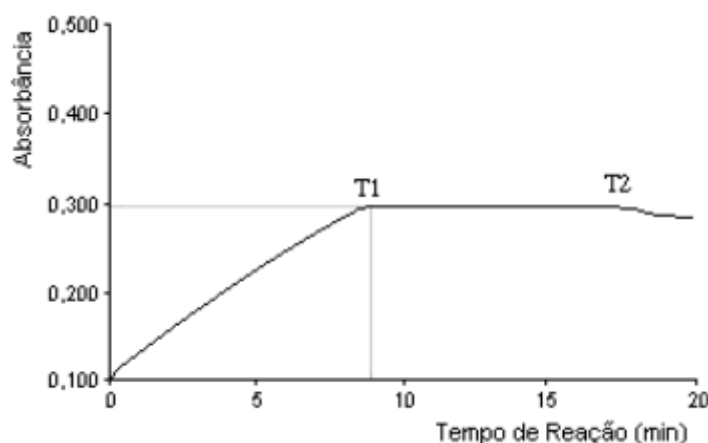


Fonte: Labtest

Na figura acima podemos observar a formação do produto no intervalo T_0 - T_1 , o período de estabilidade da reação no intervalo T_1 - T_2 e a perda da estabilidade com decaimento do produto no intervalo T_2 - T_3 . **A medição do analito deve ser realizada dentro do intervalo T_1 - T_2 .**

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 alcalina, 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.

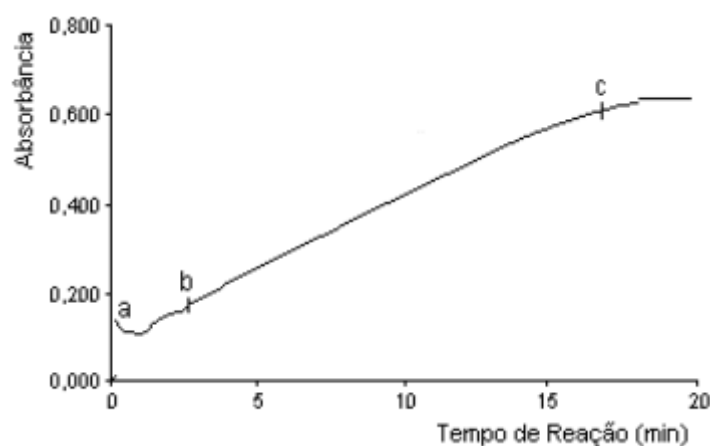


Fonte: Labtest



A figura demonstra o intervalo de tempo no qual a reação ocorre (T_0 - T_1), a interrupção da reação enzimática em T_1 e o intervalo no qual o produto da reação está estável e a leitura deve ser realizada (T_1 - T_2).

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.



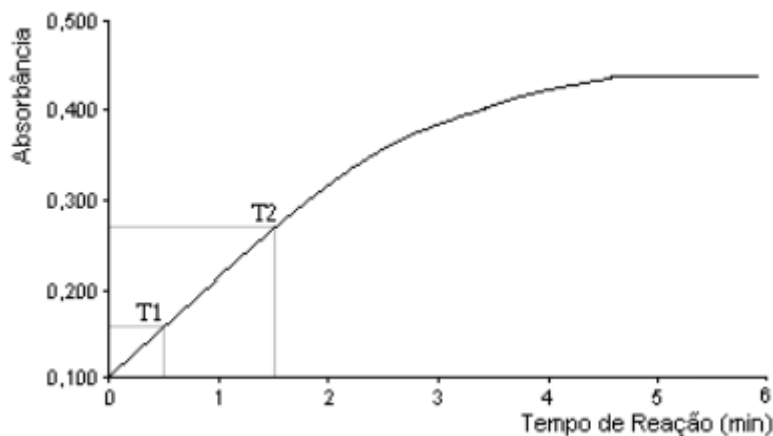
Fonte: Labtest

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 ($\Delta\text{abs}/\text{min}$), 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 termostatzadas**. 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 = $T_2 - T_1$).



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

Nas reações crescentes ocorre um aumento da concentração do produto formado ou de um reagente. Enquanto que nas reações decrecentes 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.





RESUMINDO



LISTA DE QUESTÕES



1. (IBFC - SESACRE - 2022) Leia o texto abaixo:

“Para a realização de uma _____, são necessários alguns requisitos de técnicas de laboratórios como: medidas de massa e volume, tipos de equipamentos, reagentes, vidrarias e operações básicas em laboratórios. Todas as técnicas devem ser efetuadas tomando-se as precauções necessárias quanto às _____”.

Assinale a alternativa que preencha correta e respectivamente as lacunas.

- A) preparação de meios de cultura / normas de segurança
- B) análise química / normas de segurança
- C) esterilização de material contaminado / condutas éticas
- D) manutenção em balanças / condutas éticas

2. (SELECON - Prefeitura de Pontes e Lacerda - MT- 2022) A técnica que pode ser utilizada para detectar, caracterizar e quantificar múltiplas proteínas em determinada amostra é a:

- A) *Western Blotting*
- B) Radioimunoensaio (RIA)
- C) Enzimática (ELISA)
- D) Diálise de Equilíbrio

3. (FUNDATEC - Prefeitura de Viamão - RS - 2022) Técnica laboratorial realizada com o objetivo de separar moléculas as quais são submetidas a um campo elétrico e migram para um polo positivo ou negativo, de acordo com a sua carga, para que se possa ser realizado o diagnóstico de doenças:

- A) Eletroforese.
- B) Precipitação.
- C) Aglutinação.



- D) Turbidimetria.
E) Espectrofotometria.

4. (Quadrix - SEDF - 2022) No que concerne a filtros, centrífugas, autoclaves, espectrofotômetros, leitura de Elisa e potenciômetros, julgue o item.

Embora seja utilizada para o estudo morfológico, fenotípico e funcional de células suspensas em um fluido líquido, a citometria de fluxo não permite a separação rápida e purificada de uma suspensão heterogênea de células.

Certo

Errado

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

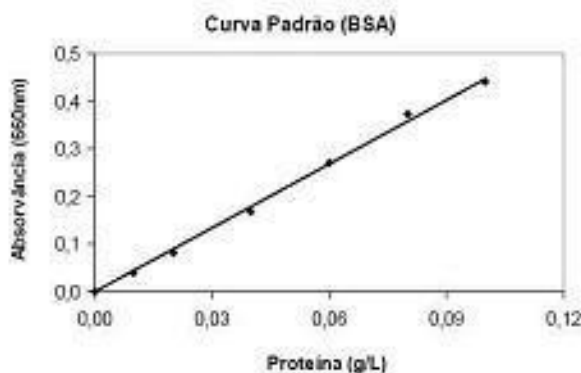
A fluorimetria é o método utilizado para se detectar a luz emitida por um determinado analito após sua excitação por luz em um comprimento de onda diferente do emitido.

Certo

Errado

Use o texto a seguir para responder às questões 2, 3 e 4.

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.

6. (Cebbraspe - HEMOBRÁS - 2008) A absorvância pode ser definida com a capacidade intrínseca dos materiais de absorverem radiações em frequências específicas.

Certo

Errado

7. (Cebbraspe - 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

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

Certo

Errado

9. (UFMT - UFSBA - 2017) Para realização da dosagem de creatinina sérica, foram determinadas as absorvâncias do tubo contendo a amostra desconhecida (Absorvância = 0,750) e da amostra padrão (Absorvância = 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

10. (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 absorvância causada pela:

A) turbidez da amostra.



- B) hiperbilirrubinemia.
- C) hemólise.
- D) cor dos reagentes.

11.(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.

12.(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.



QUESTÕES COMENTADAS



1. (IBFC - SESACRE - 2022) Leia o texto abaixo:

“Para a realização de uma _____, são necessários alguns requisitos de técnicas de laboratórios como: medidas de massa e volume, tipos de equipamentos, reagentes, vidrarias e operações básicas em laboratórios. Todas as técnicas devem ser efetuadas tomando-se as precauções necessárias quanto às _____”.

Assinale a alternativa que preencha correta e respectivamente as lacunas.

- A) preparação de meios de cultura / normas de segurança
- B) análise química / normas de segurança
- C) esterilização de material contaminado / condutas éticas
- D) manutenção em balanças / condutas éticas

Comentários:

Ao preencher corretamente as lacunas, temos:

“Para a realização de uma análise química, são necessários alguns requisitos de técnicas de laboratórios como: medidas de massa e volume, tipos de equipamentos, reagentes, vidrarias e operações básicas em laboratórios. Todas as técnicas devem ser efetuadas tomando-se as precauções necessárias quanto às normas de segurança”.

Gabarito: letra B.

2. (SELECON - Prefeitura de Pontes e Lacerda - MT- 2022) A técnica que pode ser utilizada para detectar, caracterizar e quantificar múltiplas proteínas em determinada amostra é a:

- A) *Western Blotting*
- B) Radioimunoensaio (RIA)
- C) Enzimática (ELISA)
- D) Diálise de Equilíbrio



Comentários:

O **Western blotting** é uma técnica usada para analisar proteínas através de reações específicas de antígeno-anticorpo. Na análise por *Western blotting*, as proteínas são separadas por eletroforese e transferidas para folhas de nitrocelulose, sendo então identificadas por sua reação com anticorpos marcados. A eletroforese usa uma corrente elétrica para separar as proteínas com base em seu tamanho. As proteínas grandes migram mais devagar e são representadas pelas bandas mais altas, enquanto as proteínas pequenas migram mais rapidamente e são indicadas pelas bandas mais baixas.

Gabarito: letra A.

3. (FUNDATEC - Prefeitura de Viamão - RS - 2022) Técnica laboratorial realizada com o objetivo de separar moléculas as quais são submetidas a um campo elétrico e migram para um polo positivo ou negativo, de acordo com a sua carga, para que se possa ser realizado o diagnóstico de doenças:

- A) Eletroforese.
- B) Precipitação.
- C) Aglutinação.
- D) Turbidimetria.
- E) Espectrofotometria.

Comentários:

O enunciado se refere à técnica de **eletroforese**, que é utilizada para a **separação de moléculas** de acordo com sua **mobilidade em um campo elétrico**.

Gabarito: letra A.

4. (Quadrix - SEDF - 2022) No que concerne a filtros, centrífugas, autoclaves, espectrofotômetros, leitura de Elisa e potenciômetros, julgue o item.

Embora seja utilizada para o estudo morfológico, fenotípico e funcional de células suspensas em um fluido líquido, a citometria de fluxo não permite a separação rápida e purificada de uma suspensão heterogênea de células.

- Certo
- Errado

Comentários:



A citometria de fluxo é um método amplamente utilizado para analisar a expressão da superfície celular e de moléculas intracelulares, caracterizando e identificando diferentes tipos de células em uma população celular heterogênea, avaliando a pureza de subpopulações isoladas e analisando o tamanho e a complexidade das células. A partir da citometria de fluxo também é possível separar populações celulares diferentes. Dessa forma, esta técnica permite a análise simultânea multiparâmetros de diferentes populações celulares.

Gabarito: Errado.

5. (Cebbraspe - 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:

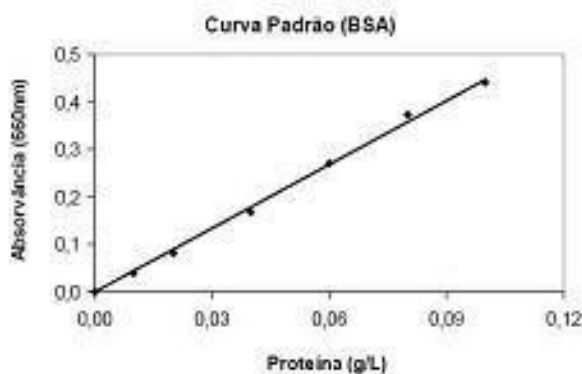
A fluorimetria é usada medir a intensidade e distribuição do comprimento de onda do espectro de emissão após excitação por um determinado espectro de luz.

Gabarito: Certo.

Use o texto a seguir para responder às questões 2, 3 e 4.

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.

6. (Cebraspe - 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.

7. (Cebraspe - 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.

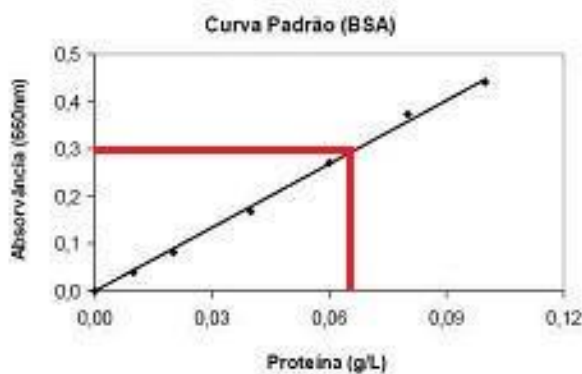
Certo

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.

8. (Cebraspe - 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.

9. (UFMT - UFSBA - 2017) Para realização da dosagem de creatinina sérica, foram determinadas as absorvâncias do tubo contendo a amostra desconhecida (Absorvância = 0,750) e da amostra padrão (Absorvância = 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

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:

$$2,0 \times 1,000$$

$$C \times 0,750$$

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

$$C = 1,5 \text{ mg/dL}$$

Gabarito: letra C.

▪

10. (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.

11.(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.

12.(PR-4 UFRJ - 2012) Em relação à técnica de turbidimetria é correto afirmar que a turbidimetria 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 turbidimetria é a quantificação da **redução na transmissão da luz causada pela formação de uma partícula**.

Gabarito: alternativa D.



GABARITO



GABARITO

1. B
2. A
3. A
4. Errado
5. Certo

6. Certo
7. Certo
8. Certo
9. C
10. D

11. E
12. D



REFERÊNCIAS

- 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.
- 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.
- MCNAIR, Harold M.; MILLER, James M.; SNOW, Nicholas H. Basic gas chromatography. John Wiley & Sons, 2019.
- OLIVEIRA, Evelyn de *et al.* Eletroforese: conceitos e aplicações. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11, n.22, p. 1129-1149, 2015.
- SCOTT, Raymond PW. Introduction to analytical gas chromatography, revised and expanded. CRC press, 2017.
- 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>>.
- 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/>>.



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.