

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA CURSO DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

#### MARIA LUZILANE PAIVA RODRIGUES

IMPORTÂNCIA DA AUTOMAÇÃO NO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS, COM ÊNFASE NOS EXAMES BIOQUÍMICOS

> FORTALEZA 2022

#### MARIA LUZILANE PAIVA RODRIGUES

#### IMPORTÂNCIA DA AUTOMAÇÃO NO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS, COM ÊNFASE NOS EXAMES BIOQUÍMICOS

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química com habilitação em Química.

Orientador: Prof. Dr. Antoninho Valentini

# Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal do Ceará Biblioteca Universitária Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R614i Rodrigues, Maria Luzilane Paiva.

Importância da automação no laboratório de análises clínicas, com ênfase nos exames bioquímicos / Maria Luzilane Paiva Rodrigues. – 2022.

42 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2022.

Orientação: Prof. Dr. Antoninho Valentini.

1. Automação laboratorial. 2. Laboratório de bioquímica. 3. Exames bioquímicos. I. Título.

CDD 540

#### MARIA LUZILANE PAIVA RODRIGUES

#### IMPORTÂNCIA DA AUTOMAÇÃO NO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS, COM ÊNFASE NOS EXAMES BIOQUÍMICOS

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química com habilitação em Química.

Aprovada em:	_//
	BANCA EXAMINADORA
	Prof. Dr. Antoninho Valentini (Orientador) Universidade Federal do Ceará (UFC)
	Profa. Dra. Adriana Nunes Correia Universidade Federal do Ceará (UFC)
Δn	a Cristina Barbosa Santana (Orientadora profissiona

Farmacêutica Bioquímica

A Deus, aos meus pais, Rosa e Paulo, meu esposo Junior e sogra Carmelita, meus irmãos Natalia, Paulo Robson, Paulo Henrique e João Neto, aos meus sobrinhos, e a minha vó Luiza.

#### **AGRADECIMENTOS**

À DEUS pelo cuidado e direção durante esses anos, por ter renovado minhas forças e ter me guiado por toda trajetória até aqui.

Aos meus pais, Rosa e Paulo por todo empenho, por terem acreditado no meu sonho e me proporcionado recursos e atenção, por terem me animado quando as coisas estavam difíceis. Em especial minha mãe que sempre esteve ao meu lado acreditando e orando por mim, que mesmo na dificuldade não media esforços para doar o pouco que tinha.

À meu irmão Paulo Robson por incentivar e ser um exemplo para mim, ao meu irmão Paulo Henrique por acreditar que conseguiria chegar até aqui, pelas palavras de motivação. À minha irmã Natalia por esta sempre ao meu lado e acreditar no meu potencial. À minha vó Luiza que mesmo não estado mais aqui do nosso lado, foi uma mulher forte, feliz e inspiradora que sempre apoiou as minhas escolhas, e fez o impossível para me proporcionar um lar.

À meu esposo Junior, pelo companheirismo, incentivo, amor e dedicação. Por sempre me fazer sorrir quando estava difícil, e me motivar a continuar prosseguindo. Por acreditar nos meus sonhos e fazer o possível para me ajudar a realizá-los.

À Najara, por seu empenho e dedicação ao me ajudar com o estágio obrigatório. Ao meu orientador Antoninho, que se dispôs a me ajudar. À minha orientadora de estágio no hospital Sarah, Ana Cristina, por todo o conhecimento repassado, pelas orientações e palavras de incentivo. A todos os profissionais do laboratório de patologia clínica, que não mediram esforços ao repassar todo precioso conhecimento e experiência vivida ao longo dos anos.

"Mas esforçai-vos, e não desfaleçam as vossas mãos, porque a vossa obra tem uma recompensa"

#### **RESUMO**

O presente trabalho teve como objetivo ressaltar a importância que a automação laboratorial vem apresentando ao longo dos anos nos laboratórios de análises clinicas, apresentando de forma mais enfática os exames realizados pelo setor de bioquímica clínica. Sendo analisado cada fase analítica envolvida no processo da realização dos exames. Como a coleta a vácuo e os novos tubos tem proporcionado maior integridade da amostra, sendo avaliado as vantagens apresentadas em cada etapa. Comparando métodos antigos como palheta de cores para medição da absorbância, com a pró eficiência dos equipamentos automatizados envolvendo química liquida e seca, apresentando uma maior confiabilidade e reprodutibilidade dos exames liberados, diagnosticando erros sistemáticos e aleatórios, minimizando os mesmos através da evolução da tecnologia em automação laboratorial. Ressaltando a necessidade de profissionais qualificados e treinados para operação desses equipamentos. Apresentando uma visão de como a prática leva a uma maior interpretação e aprendizado da teoria.

**Palavras-chave:** Automação laboratorial, laboratório de bioquímica, exames bioquímicos.

#### **ABSTRACT**

The present work aimed to highlight the importance that laboratory automation has shown over the years in clinical analysis laboratories, presenting in a more emphatic way the tests performed by the clinical biochemistry sector. Being analyzed each analytical phase involved in the process of carrying out the exams. As the vacuum collection and the new tubes have provided greater sample integrity, the advantages presented in each step are evaluated. Comparing old methods such as a color palette for measuring absorbance, with the pro-efficiency of automated equipment involving liquid and dry chemistry, presenting greater reliability and reproducibility of the exams released, diagnosing systematic and random errors, minimizing them through the evolution of technology in laboratory automation. Emphasizing the need for qualified and trained professionals to operate this equipment. Presenting a view of how practice leads to greater interpretation and learning of theory.

**Keywords:** Laboratory automation, biochemistry laboratory, biochemical tests.

### SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	EXAMES REALIZADOS NA BIOQUÍMICA CLÍNICA	13
3.	FASE PRÉ-ANALÍTICA	15
3.1. N	Material biológico	15
3.2. 0	Coleta	15
3.3. 1	Tubos de coleta	17
4.	FASE ANALÍTICA	23
4.1. F	Reagentes	23
4.2. <i>A</i>	Água	23
4.3.	Calibração de maquinários	23
4.4. 0	Controles	24
4.5. E	Branco	25
4.6. 1	Γipos de reação	26
4.7. C	Química Seca	37
5.	FASE PÓS-ANALÍTICA	39
6.	CONCLUSÃO	40
7.	REFERÊNCIAS	41

#### 1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos tem sido notório o avanço das tecnologias, com abrangência em vários campos. Dentre eles está a medicina laboratorial, responsável por executar e interpretar os exames do laboratório clínico (Burtis e Ashwood,1998). Com a introdução da tecnologia da automação nesse setor, um impacto significativo foi gerado nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica.

A automação é definida pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) como "a substituição do esforço de manipulação humana, facilitando a execução de um dado processo através de recursos mecânicos e instrumentais regulados mediante a retro informação, de tal forma que um equipamento seja auto-monitorável ou auto-ajustável" (Oliveira (2011). A figura 01 apresenta benefícios que podem ser alcançados com a automação laboratorial.



Figura 01. Benefícios da automação dos processos Fonte: Adaptada do manual GFAL(2011)

O objetivo principal de uma automação é o desejo de otimizar o processo analítico, racionalizando os procedimentos laboratoriais, que segundo a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina laboratorial (SBPC/ML 2019) é preciso levar em conta o exame certo, solicitado ao paciente, no momento correto, ao custo certo e levando ao desfecho correto.

Ainda para a SBPC/ML (2019), os laboratórios de análises clínicas vêm passando por várias mudanças devido a implementação das tecnologias de automação, incluindo a área da tecnologia da informação que tem incrementado novos recursos de *software*, *hardware* e *middlewere*, agindo assim em conjunto. Antes, os esforços da indústria diagnóstica envolviam apenas a área de bioquímica clínica, entretanto hoje todas as áreas do laboratório de análises clinicas são beneficiados por essas inovações.

Dando ênfase na área de bioquímica clínica, para a Gestão da Fase Analítica do Laboratório GFAL (2011), é possível notar que esses avanços foram de suma importância trazendo benefícios perceptíveis externamente e internamente, decorrentes da redução do tempo para exames críticos, da movimentação de amostras intralaboratoriais e da prevenção de erros na aliquotagem.

Segundo Burtis e Ashwood (1998), o que antes era realizado manualmente e depois semi-automatícamente, hoje é automatizado. Existe uma diversidade de exames realizados pela bioquímica, que se baseia na comparação da cor produzida por uma reação química com uma cor padrão, dependendo da intensidade da cor produzida é possível quantificar a concentração de determinado analito.

O método mais seguro que se pode verificar a coloração de uma reação é pelo uso do espectrofotômetro (Espectrofotometria), que faz essa comparação de intensidade de cor com a cor padrão. Esse método é o mais utilizado em análises laboratoriais de bioquímica clínica (Oliveira ,2011).

Ressaltando o método cinético onde o analito é uma enzima na reação. A atividade da enzima é analisada por meio de uma reação com um composto químico denominado substrato, gerando assim um produto. Essa reação é acoplada a uma reação colorimétrica, à medida que ocorre a conversão enzimática o produto é gerado, levando a uma mudança de cor observada através do espectrofotômetro (Burtis e Ashwood ,1998).

#### **Substrato** Analito (enzima) **Produto** (reação colorimétrica)

Segundo a Labstest (2013), há também o método cinético enzimático que é muito semelhante ao anterior, porem o analito agora é o substrato que será utilizado por uma enzima especifica. O primeiro produto formado é captado por outra enzima que estará acoplada a uma reação colorimétrica de liberação de gás ou formação de precipitado.

Analito(substrato) enzima 1 Produto 1
Produto 1 enzima 2 Produto final

- Reação colorimétrica;
- Liberação de gás ou
- Formação de precipitado

Antes esses métodos eram realizados manualmente, mas com a evolução da automação laboratorial, equipamentos cada vez mais modernos e precisos foram ganhando espaço. É possível notar que os laboratórios de grande porte já estão praticamente todos automatizados e os de pequeno porte também estão se atualizando (Barbedo, 2012).

O mercado de trabalho nessa área vem acompanhando essa evolução, necessitando cada vez mais de mão de obra qualificada e treinada para enfrentar essa empreitada. Ainda para Trindade (2008), levando em conta que os equipamentos de ponta disponíveis no mercado são cada vez mais auto-monitoráveis e auto-ajustáveis. Por consequência disso, tem-se a visão que a mão de obra humana esteja entrando em declínio, e que a cada dia o número de pessoas em laboratórios seja menor. No entanto, a análise das fases pré-analítica, analítica e pós-analítica ainda precisa de profissionais que saibam o que está acontecendo em cada processo automatizado, sabendo interpretar resultados, avaliando cada etapa, sabendo diagnosticar erros e solucionar dentro dos parâmetros estabelecidos. Profissionais devidamente capacitados dificilmente perderão seu lugar no mercado, pelo contrário, contribuirão de forma significativa nesse avanço.

Grande parte dos estudantes de graduação em química, ainda tem pouco acesso a esse mundo da inovação tecnológica em laboratórios e industrias. O pequeno acesso ainda se limita aos equipamentos disponíveis nos laboratórios das universidades, isso quando a instituição possui. Alunos de iniciação científica ainda possem a oportunidade de manuseá-los, já aqueles que não são, as vezes apenas

observaram em alguma aula de visitação. Grande parte do contato ocorre nos estágios obrigatórios no fim do curso.

O objetivo desse trabalho é mostrar o quanto a evolução da automação tem proporcionado uma melhor analise de processos bioquímicos nos laboratórios, apresentando a fase pré-analítica, analítica e pós-analítica, apresentando os benefícios que essa tecnologia trouxe ao mundo das análises clinicas, levando em consideração que muitos cuidados ainda devem ser considerados. Todo resultado liberado é de responsabilidade do analista clinico, se algum erro ocorreu em uma das três fases analíticas isso poderá interferir no diagnóstico de uma pessoa (Barbedo, 2012). E ressaltar a importância de alunos terem acesso ao conhecimento e até manuseio dessas tecnologias.

#### 2. EXAMES REALIZADOS NA BIOQUÍMICA CLÍNICA

Para Barques (2016), a principal função de um laboratório de bioquímica é realizar análises tanto quantitativas como qualitativas em amostras biológicos como, sangue, urina, fezes, tecidos, dentre outros materiais. Os resultados obtidos dessas análises servirão de auxílio para médicos no diagnóstico e tratamento de doenças. Por essa razão os testes devem ser realizados com máxima precisão e exatidão, requerido assim métodos analíticos idôneos e boa aparelhagem (Burtis e Ashwood ,1998). Na tabela 1 estão destacados alguns dos testes realizados na bioquímica clínica:

Exames realizados na bioquímica clínica Ácido Úrico **Albumina** Bilirrubina Total Bilirrubina Direta Reação de Ponto final Cálcio **Colesterol LDL** Monocromático. **Colesterol HDL Ferro** Glicose Magnésio **Proteína Total** Triglicerídeos Reação Cinética de 2 Pontos. Creatinina Ureia Creatinina Quinase (CK) Transaminase oxalacética (TGO) Transaminase pirúvica (TGP) Reação Cinética Contínua. **Amilase Fosfatase Alcalina** Gama-glutamiltransferase (GGT) Lactato desidrogenase (LDH) Creatinoquinase (CKMB)

Tabela 1. Exames realizados na bioquímica clínica.

Fonte: Própria autora

Para realização desses exames é preciso seguir uma sequência de cuidados que interferem direta ou indiretamente no resultado dos mesmos. O processo laboratorial é dividido em três fases essenciais: Pré-analítica, analítica e pósanalítica. A fase pré-analítica é de essencial importância, e é nela que estão concentrados cerca de 60 a 70 % dos erros de um laboratório. Há inúmeras variáveis que contribuem para esses dados, explicita Rao (2016).

#### 3. FASE PRÉ-ANALÍTICA

A fase pré-analítica inclui todas as etapas que ocorre quando uma amostra biológica é coletada ou recebida, até quando essa amostra é levada ao setor analítico. Sendo mais especifico essa fase começa no consultório do médico, pois é nesse momento que é realizado a solicitação dos exames, (SBPC/ML,2019).

#### 3.1. Material biológico

Segundo o manual de coleta da ANVISA (2020), o sangue para análise pode ser obtido de veias, artérias ou capilares. Sendo o sangue venoso o escolhido como amostra principal, que é obtido através de uma punção venosa. Com o avanço da automação laboratorial, hoje dispomos de equipamentos que facilitam a punção venosa. É o caso do *VeinViewer*, esse equipamento utiliza luz infravermelha que é absorvida pelo sangue nas veias e refletida pelos tecidos ao redor. Como mostrado na figura 2, esta informação é transmitida para o *software* da máquina que calcula onde os vasos estão, facilitando assim uma melhor visualização do acesso as veias, causando menor dor ao paciente, pois não precisará que o mesmo seja perfurado várias vezes, conforme indicado nas especificações do fabricante.



Figura 2. VeinViewer, em A apresenta uma punção venosa feita a olho nu, em B e C mostra o equipamento auxiliando, em D mostra o resultado da técnica.

Fonte: https://veinviewer.com.br/veinviewer-vision2

#### 3.2. Coleta

Antigamente as amostras de sangue eram colhidas por seringa e agulha, denominado "sistema aberto". Havendo assim comprometimento da qualidade da amostra, devido ao erro da proporção a ser coletada, havia um maior risco de acidentes com material perfuro cortantes, e uma maior probabilidade de acontecer formação de hemólise, micro coágulos e fibrina. Podemos ressaltar também o desconforto ao paciente, por ser preciso novas perfurações para colher outras amostras, cita a SBPC/ ML (2019).

Hoje dispomos da técnica de coleta de sangue a vácuo, conhecida como "sistema fechado". Nessa técnica usa-se uma agulha bipolar com um suporte para auxiliar na manipulação levando a uma correta punção venosa, a agulha é introduzida na veia do paciente, e logo depois o tubo a vácuo é colocado no suporte, sendo pressionado para frente, isso faz com que a agulha traseira perfure o tudo enchendo-o. Esse método tem sido mais eficaz pois permite a coleta de vários tubos com apenas uma punção, o volume de amostra é preciso, pois o volume de anticoagulante tornase compatível (Rao, 2016).

Com o passar do tempo muitas inovações vem surgindo com o intuído de melhorar essa etapa dolorosa da coleta. Na figura 3 é apresentado uma das inovações tecnológicas em agulhas, para uma melhor experiência do paciente e também trazendo maior segurança ao trabalhador em decorrência dos acidentes com material biológico. Lançado em 2018 pela BD uma empresa de tecnologia laboratorial visando tornar a coleta de acesso venoso difícil mais eficiente. Esse escalpe ainda possui câmara de visualização, botão automático para retração da agulha e uma parede ultrafina possibilitando a utilização de calibres menores sem causar hemólise (SBPC/ML, 2019).



Figura 3. Escalpe BD *Vacutainer UltraTout Push Button*Fonte: https://www.bd.com/pt-br

#### 3.3. Tubos de coleta

Conforme tabela 2, os tubos são separados em cores para facilitar a identificação do tipo de anticoagulante presente (Barbedo, 2012).

Cor da Aditivo Ação do aditivo Tipo de amostra Aplicação do tubo tampa Citrato de Testes de coagulação (TP, TTP, Azul Anticoagulante Plasma Sódio Fibrinogênio) Ativador de Testes de bioquímica, Vermelho Pró-coagulante Soro coágulo imunologia e hormônios Ativador de Testes de bioquímica, Amarelo coágulo + gel Pró-coagulante Soro imunologia e hormônios separador Verde Heparina Anticoagulante Plasma Testes de bioquímica Roxo/Lilás **EDTA** Anticoagulante Sangue total Testes de Hematologia Fluoreto + Glicose, lactato e hemoglobina Anticoagulante Plasma EDTA alicada

Tabela 2. Tabela de tubos de coleta de sangue

Fonte: https://farmaceuticando.com/tubos-de-coleta/

**Tubo Azul:** O citrato de sódio conforme mostrado na figura 4, é um quelante de cálcio que ao reagir com o cálcio livre do sangue produz citrato de cálcio, que possui baixa solubilidade, evitando a cascata de coagulação, que consiste na ativação sequencial de uma série de proenzimas, gerando pôr fim a fibrina e reforçando o tampão plaquetário (Burtis e Ashwood ,1998).

$$3 \text{ Ca}^{2+} + 2 \text{Na}_3 \text{C}_6 \text{H}_5 \text{O}_7 \longrightarrow \text{Ca}_3 (\text{C}_6 \text{H}_5 \text{O}_7)_2 + 6 \text{ Na}^+$$
 (1)

#### Figura 4. Citrato de sódio

Fonte: https://www.sysmex-europe.com/products/diagnostics/coagulation.html

**Tubo Vermelho:** São revestidos com partículas de sílica (SiO<sub>2</sub>), é uma sílica hidrófila (molhável com água) sendo fisiologicamente inerte em contato com o sangue. Agindo apenas como acelerador da coagulação sanguínea, reduzindo o tempo de 60 min para 30 min (Burtis e Ashwood ,1998).

**Tubo Amarelo**: Com as mesmas características do tubo vermelho, acrescentado de gel separador inerte, a elevada massa molar do gel evita que substancias de alto peso molecular entre em contato com o soro e haja contaminação (Oliveira, 2011).

**Tubo Verde**: Para *Costa* (2012), o interior do tubo é revestido com heparina lítica (figura 5), heparina sódica ou heparina amônica. Essa heparina ativa antitrombinas, levando ao bloqueio da cascata de coagulação. Produzindo assim amostra de sangue total, sendo ideal para analises rápidas e analises de pacientes sob tratamento com anticoagulantes.

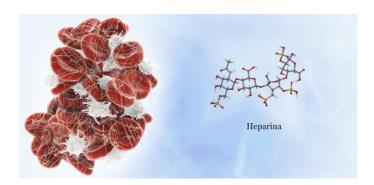


Figura 5. Heparina

Fonte:https://www.sysmex-europe.com/products/diagnostics/coagulation.html

**Tubo Roxo ou Lilás**: Contém anticoagulante EDTA conforme figura 6, que é um agente quelante, preservando os componentes celulares no sangue, impedindo

a agregação plaquetária e protegendo o volume e a forma das células sanguíneas por um longo período (Burtis e Ashwood ,1998).

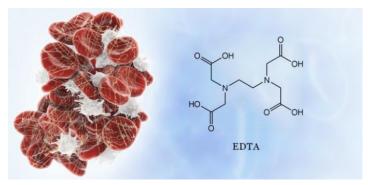


Figura 6. EDTA

Fonte: https://www.sysmex-europe.com/products/diagnostics/coagulation.html

**Tubo cinza:** Conforme Barbedo (2012), o anticoagulante presente nesse tubo é uma mistura de EDTA e fluoreto de sódio (figura 7), enquanto um inibe a coagulação o outro bloqueia a glicose-desidrogenase inibindo os sistemas enzimáticos da glicólise. O fluoreto de sódio é um anticoagulante fraco, para que seja usado sozinho é necessário concentrações de três a cinco vezes maiores do que se é usado comumente (2mg /ml).

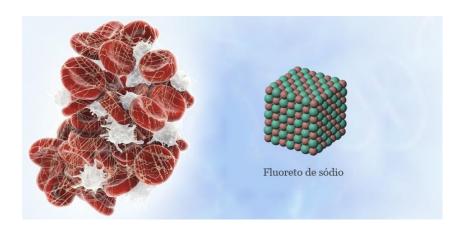


Figura 7. Fluoreto de sódio
Fonte:https://www.sysmex-europe.com/products/diagnostics/coagulation.html

Organizações como a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), Organização Mundial da Saúde (OMS) e *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI), foram as responsáveis por criar diretrizes e recomendações para assegurar uma boa qualidade na coleta.

Para SBPC/ML (2019), uma importante etapa no sistema a vácuo é a ordem em que os tubos são usados (Figura 8), essa ordem veio evoluindo ao longo do tempo. Atualmente, a ordem de coleta estabelecida é a seguinte: hemoculturas, citrato de sódio, soro com ou sem ativador de coágulo, heparina, EDTA, oxalato/fluoreto. Essa sequência da ordem de coleta deve ser levada em consideração para que não ocorra contaminação das amostras.

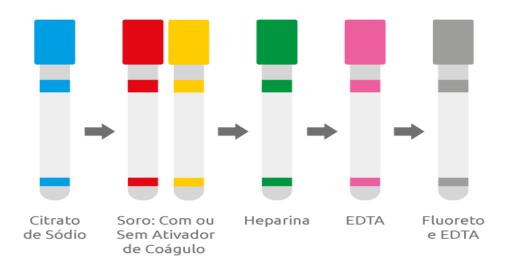


Figura 8. Ordem de coleta

Fonte: http://kasvi.com.br/tubos-de-coleta-vacuo-analise-sangue-cores-beneficios/

Levando em consideração as orientações do Manual de coleta da ANVISA (2020), quando essa ordem não é seguida ocorre um erro pré-analítico que interferirá nos resultados do paciente.

É de fundamental importância a conferência do nome completo e data de nascimento do paciente na pulseira de identificação, e na etiqueta que irá ser colocada em cada tubo, além da confirmação com o próprio paciente. Descartando assim mais um erro, cita Oliveira (2011). Ainda seguindo essas orientações é preciso levar em conta que existem fatores além da doença que levam à alteração dos líquidos biológicos, alguns não podem ser modificados ou controlados pelo médico ou profissional do laboratório, como é o caso de gravidez, sexo, idade e etnia, para esses, já existem referências especificadas na literatura.

Os fatores que afetam a composição dos líquidos do organismo são:

**Postura**: Segundo Burtis e Ashwood (1998) o volume de sangue de uma pessoa adulta em posição ereta (em pé) é de 600 a 700 ml menor do que se estivesse deitada. Essa mudança acarreta uma redução de 10 % do volume do sangue,

causando mudança nas concentrações dos componentes séricos. Isso ocorre devido a ocorrência de afluxo da água e substâncias filtráveis do espaço intravascular, levando ao aumento da concentração das substâncias não filtráveis, podemos citar as proteínas com alto peso molecular e os elementos celulares. Leva um tempo para que se reestabeleça o equilíbrio hídrico. Dessa forma, teremos níveis aumentados de albumina, colesterol, triglicerídeos, hematócrito, hemoglobina e algumas drogas que se ligam a proteínas. É observado também um aumento de K+ (potássio) se o paciente permanece pelo menos 30 min na posição ereta, devido a liberação de potássio intracelular do músculo.

Exercício: Segundo Burtis e Ashwood (1998), se não for orientado ao paciente que os exercícios físicos devem ser evitados pelo menos um dia antes dos exames clínicos, ocorrerá uma influência sob a composição dos líquidos orgânicos, que dependerá da intensidade e duração dessa atividade. Há uma resposta de estresse provocando o aumento da glicose do sangue, levando a secreção de insulina, o piruvato e o lactato também irão ser aumentados proporcionalmente ao aumento da atividade metabólica do músculo esquelético, um simples exercício leve pode duplicar o lactato no plasma. O pH e pCO<sub>2</sub> presentes nas artérias são reduzidos pelo exercício. Além de provocar o aumento da atividade sérica de algumas enzimas como: creatina quinase, aldolase e asparato aminotransferase.

**Jejum**: É recomendado ao paciente que o período de jejum adequado para realização do exame seja de 8 a 12 horas. Quando não é seguida essa orientação, ocorre um aumento da concentração de glicose, ferro, lipídios totais e fosfatase alcalina, devido a ingestão de alimentos, cita Berlitz (2005).

**Ingestão de cafeína**: A cafeína é utilizada em muitas bebidas, as mais comuns são, café, chás e cola. A ingestão dessas bebidas leva a uma considerável alteração na concentração de constituintes do sangue.

A cafeína estimula a medula adrenal, causando um aumento de excreção das catecolaminas e de seus metabolitos, e um leve aumento da concentração de glicose no plasma, prejudicando a tolerância a glicose. O córtex adrenal também é afetado; aumenta o cortisol no plasma, acompanhado de excreção aumentada de cortisol livre, 11-hidroxicorticóides e ácido 5-hidroxiindolacético. O efeito da cafeína pode ser tão pronunciado que a

variação diurna normal do cortisol do plasma pode ser eliminada. (BURTIS; ASHWOOD, 1998, pag. 45).

**Fumo**: Para Burtis e Ashwood (1998), pela ação da nicotina presente no fumo os testes de laboratórios podem ser alterados, e essa alteração está ligada ao número de cigarros fumados ou a quantidade de fumaça inalada. A concentração de glicose já é aumentada cerca de 0,56 mmol/L em 10 min após um cigarro ser fumado, podendo permanecer alta até 1 hora. Em fumantes as concentrações plasmáticas de lipoproteína B, colesterol e triglicerídeos são maiores, e os níveis de colesterol bom (HDL) são menores. Além disso possuem pO<sub>2</sub> sanguínea menor que os não fumantes, enquanto a concentração de pCO<sub>2</sub> não é alterada.

**Ingestão de Álcool:** Burtis e Ashwood (1998) explicam que a ingestão de uma dose capaz de inebriar levemente pode aumentar a concentração de glicose no sangue de 20% a 50%. E esse aumento pode ser mais elevado se o paciente for diabético.

Hemólise: Segundo a SBPC/LM (2020), hemólise é definida como a destruição da hemácia que ocorre quando a membrana dos eritrócitos é rompida levando a liberação de seu conteúdo intracelular, principalmente a hemoglobina. Quando a concentração de hemoglobina no soro ou plasma excede o nível de 50 mg/dl já é possível notar a hemólise, quando essa concentração ultrapassa 150 a 200 mg/dl a aparência do soro ou plasma é visualizada em cor rósea ou vermelho-vivo. Essa hemólise pode ser decorrente de um garroteamento prolongado na hora da coleta, por ter sido difícil a punção venosa, ou pelo mal acondicionamento da amostra e até erro no transporte da mesma. É preciso ressaltar também, que coletas em crianças, sempre são mais difíceis, e a probabilidade de hemólise em amostras de crianças é maior que em adultos. Esses índices são elevados em adultos e crianças obesas, pois a punção venosa é feita com mais dificuldade.

A fase pré-analítica possui inúmeras variáveis que pode alterar os líquidos orgânicos em analise, ter o conhecimento dessas variáveis é o primordial para detectar e inibir erros nessa fase. Oliveira (2011) continua explicando que após a coleta, os tubos são levados ao setor de distribuição, onde é centrifugado e separado o material para cada setor. Essa é uma etapa crucial para a próxima fase, já que as amostras devem ser separadas corretamente. Laboratórios de grande porte já possuem maquinário que faz todo o trabalho de centrifugação e direcionamento para

cada setor. A identificação por código de barras é uma inovação com resultados notórios, promovendo maior segurança e rastreabilidade da amostra.

#### 4. FASE ANALÍTICA

Segundo Oliveira (2011), a amostra utilizada no setor de bioquímica para análise é o soro contido nos tubos de coleta de cor amarela. Antes mesmo desse material chegar ao setor, a fase analítica já tem sido iniciada, pois é preciso realizar uma série de procedimentos e cuidados antes da realização das análises.

#### 4.1. Reagentes

Para SBPC/LM (2020), os reagentes são guardados em geladeira para manter suas propriedades ativas por mais tempo, e devem permanecer fora da temperatura adequada apenas pelo tempo necessário para retirada de seu volume a ser utilizado nas análises. Deve-se evitar contato direto com luz solar, mantendo o cuidado para que não ocorra contaminação cruzada entre os reagentes. Se o reagente permanece por muito tempo em temperatura ambiente ocorrerá evaporação do mesmo, ocasionando perda de desempenho.

#### 4.2. Água

A água é o reagente mais comum e barato em um laboratório, porém precisase manter um cuidado especial. A água deionizada é utilizada como reagente químico
denominando-se PURA, pois apresenta o mínimo de contaminantes, como:
microrganismos, matéria orgânica e íons. Ainda para Barques (2016), esses
contaminantes aceleram ou inibem várias reações, principalmente as que são
mediadas por enzimas, além de prejudicar o desempenho de alguns reagentes,
controles e calibradores. Por isso o uso da água deionizada é mais adequado. Devese trocar a água diariamente, afim de manter suas propriedades.

#### 4.3. Calibração de maquinários

Para Barques (2016), os maquinários de automação utilizados no laboratório precisam passar por uma calibração por calibrador protéico, na sua maioria

são multicalibradores, que são materiais com características físico-químicas que apresentam proximidade da amostra humana. Esse calibrador possui uma quantidade conhecida de um determinado analito que é informada ao equipamento para ser usado como referência nas análises.

É importante ressaltar que se deve usar de preferência calibradores e reagentes do mesmo fabricante, para que não haja dificuldades posteriores, pois utilizando materiais fornecido de fabricantes diferentes as concentrações dos reagentes podem ser diferentes das que o calibrador foi testado, ou seja a calibração não será confiável, podendo dar discrepância. Sempre que houver mudança do lote ou fabricante do calibrador é preciso informar manualmente ao maquinário as especificações contidas no rótulo do mesmo. Para equipamentos manuais ou semi automáticos essa calibração pode ser realizada tanto com um padrão ou calibrador, cita Barques (2016). O padrão é um material calibrador não protéico, em sua maioria são para um único analito especifico, o padrão da glicose é um exemplo.

O equipamento calculará a curva de calibração, onde é obtida pela relação entre as medidas do processo analítico (absorbância) e a quantidade da substância no material calibrador. Quando a reação segue a lei de Beer, é possível obter o fator de calibração determinado pela equação (Burtis e Ashwood ,1998).

$$Fator\ de\ calibração\ = \frac{Concentração\ do\ Calibrador}{Absorbância\ do\ Calibrador}$$
(2)

#### 4.4. Controles

Segundo Oliveira (2011), os controles atuam como monitoradores do sistema e avaliam sua estabilidade, ou seja, sua precisão. São comercializados na forma liofilizada (desidratado, precisam ser hidratados antes do uso, em seu rótulo já vem especificado o volume de água que deve ser adicionado), ou pronto para uso.

Segundo GFAL (2011), esses controles são disponibilizados com uma média e intervalo proposto pelo fabricante. Deve-se sempre manter as pipetas volumétricas calibradas para maior precisão de medidas, armazenamento adequado dos controles, e homogeneização adequada, evitando assim erros analíticos. É muito importante que o laboratório tenha um controle de qualidade interno e também participem de um programa de avaliação externa da qualidade, onde haverá uma

avaliação ampla comparando a outros laboratórios que realizam as mesmas análises pelo mesmo método.

Temos dois tipos de erros que são levados em consideração apresentados na tabela 3, são os erros aleatórios e sistemáticos.

Tabela 03. Tipos de erros e sugestões de causas potenciais

Tipos de erro	Causas
Erro aleatório	<ul> <li>Bolhas nos reagentes</li> <li>Bolhas na tubulação do equipamento</li> <li>Erro no preparo de reagentes</li> <li>Temperatura de incubação instável</li> <li>Energia elétrica instável</li> <li>Erro do operador na pipetagem ou cronometragem</li> </ul>
Erro sistemático	<ul> <li>Mudança de lote do reagente ou calibrador</li> <li>Deterioração dos reagentes</li> <li>Armazenamento inadequado</li> <li>Alterações no sistema de pipetagem</li> <li>Mudança na temperatura de incubação</li> <li>Deterioração da lâmpada do fotômetro</li> <li>Erro de procedimento em testes manuais</li> </ul>

Fonte: Adaptada do GFAL(2011)

#### 4.5. Branco

Para GFAL (2011), o branco consiste na realização de uma análise submetida às mesmas condições experimentais que será usada na análise da amostra biológica, porém é realizado na ausência do constituinte de interesse, ou seja, usa-se apenas água deionizada e o reagente. Através da realização do branco é possível detectar interferências de outras espécies, minimizando a chance de um erro analítico acontecer. Esse valor do branco é indispensável para obtenção de resultados com confiabilidade, incluindo o limite de detecção, e deve ser feito sempre que as amostras forem analisadas.

É comum que alguns dos resultados dos brancos não estejam dentro do valor esperado, é papel do analista clinico identificar qual o motivo desses resultados e resolver o problema para que um novo branco seja realizado e esteja dentro dos

valores esperados. A liberação de um resultado com um branco inadequado é um erro crítico, já que o valor da analise estará sendo influenciada por essa discrepância, levando a um falso resultado, cita Oliveira (2011).

Esses parâmetros devem ser seguidos rigorosamente, conforme GFAL (2011), a analise será influenciada por cada processo realizado. Com todos esses cuidados e procedimentos realizados, as amostras poderão ser processadas com maior confiabilidade.

#### 4.6. Tipos de reação

Segundo Costa (2012), o principal tipo de reação que é realizado no laboratório de bioquímica clinica é pelo método colorimétrico, onde o produto da reação é corado e medido na faixa visível do espectro.

Reação de Ponto Final: Para Barques (2016), as reações de aglutinação, turvação ou precipitação são, em muitas situações, reações de ponto final, contudo o termo é especialmente dedicado àquelas reações que formam um produto cuja concentração chega a um ponto máximo, permanecendo inalterada por um determinado tempo em função da estabilidade do produto formado. Elas podem ser colorimétricas ou ultravioletas. Muitos ensaios utilizam as reações de ponto final (gráfico 1), onde se mede a concentração do produto formado por fotometria.

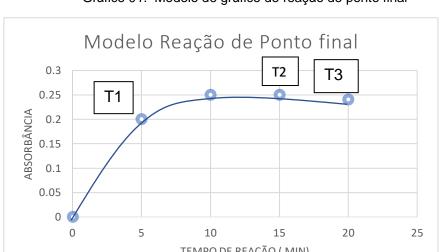


Gráfico 01. Modelo de gráfico de reação de ponto final

T0

Fonte: Adaptada de Barques (2016)

Onde é possível observar que de T0 à T1 a reação está iniciando. De T1 à T2 é o tempo que representa a completa reação e estabilidade, além de ser o intervalo onde a leitura da reação é realizada. De T2 à T3 a reação começa a perder sua estabilidade. Assim é mostrado as três etapas, o início e incremento na formação do produto (T0-T1), a etapa de estabilidade (T1-T2), e o decaimento do produto por perda da estabilidade (T2-T3). Através da leitura em um único comprimento de onda a absorbância é calculada.

Os testes bioquímicos em que essa metodologia é usada são apresentados na tabela 4.

Tabela 04. Testes através de reação de ponto final

Ácido Úrico	Albumina	Bilirrubina Total	Bilirrubina Direta
Cálcio	Colesterol LDL	Colesterol HDL	Ferro
Glicose	Magnésio	Proteína Total	Triglicerídeos

Fonte: Própria autora

Dentre estes testes podemos citar como exemplo detalhado o teste de proteínas totais. Para essa análise é utilizado o reagente Biureto que sua obtenção é originada a partir da decomposição da uréia (figura 10), quando essa é submetida a uma temperatura de, aproximadamente, 180 °C.

Figura 10. Reação de obtenção do Biureto.

Fonte: http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas\_proteinas/reacoes\_coradasdois3.htm

Segundo a Labtest (2013), o princípio envolvido nessa reação, parte da interação entre os íons Cu<sup>2+</sup> em meio alcalino com as ligações peptídicas das proteínas séricas formando uma solução de cor púrpura (figura 11), que apresenta absorbância máxima em 545 nm, sendo proporcional à concentração das proteínas na amostra.

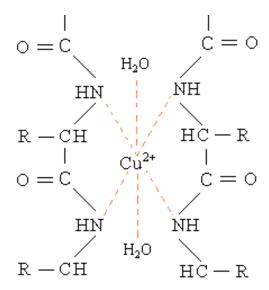


Figura 11. Interação entre os íons Cu<sup>2+</sup> e o reagente Biureto
Fonte:http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas\_proteinas/reacoes\_coradasdois3.htm

A análise realizada manualmente consiste em tomar 3 tubos de ensaio e prosseguir conforme indicado na tabela 5.

Tabela 05. Tubos de testes

	Branco	Teste	Padrão
	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3
Amostra		0,02 ml	
Padrão			0,02 ml

Água deionizada	0,02 ml		
Reagente Biureto	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Fonte: Adaptada da Labtest (2013)

Deve-se colocar em banho maria na temperatura de 37 °C durante 10 minutos. A absorbância é medida. A cor fica estável por até 1 hora, conforme figura 12.

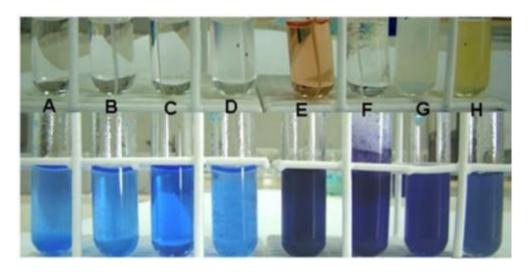


Figura 12. Testes de quantificação de proteínas Fonte:http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc35\_1/06-EEQ-79-11.pdf

A figura 12 mostra os tubos com: amostra de água (referência) (A); sal (B); açúcar (C); amido (D); extrato (caldo) de carne (E); clara de ovo (F); leite (G); e suco de soja (H), respectivamente. E o resultado após a reação com sulfato de cobre. O aspecto leitoso das amostras se deve à precipitação de Cu(OH)<sub>2</sub> ou CuO em meio alcalino. Esse exemplo mostra como a reação acontece.

Ainda segundo a Labtest, alguns cálculos precisam ser realizados para identificar a linearidade da reação.

$$Proteínas\ Totais = \frac{Absorbância\ do\ Teste}{Absorbância\ do\ Padrão} \cdot Concentração\ do\ Padrão \quad (3)$$

Como essa metodologia é de grande reprodutibilidade, usa-se o método do fator para calcular as concentrações dessas amostras dentro do intervalo de confiança.

$$Fator de Calibração = \frac{Concentração do Padrão}{Absorbância do Padrão}$$
(4)

Assim:

$$Proteínas Totais = Absorbância do teste \cdot Fator$$
 (5)

Através desses cálculos é obtido o valor da concentração das proteínas totais no sangue, gerando uma maior confiabilidade no teste.

#### Reação Cinética Continua

São reações onde a velocidade da formação do produto é medida durante um intervalo de tempo, que pode ser horas, minutos ou segundos e a denominação cinética é decorrente do relacionamento da reação com o tempo. Muitos consideram que as reações cinéticas são aquelas em que se mede a formação de produto usando pequenos intervalos de tempo, minuto a minuto, na faixa ultravioleta do espectro (340 a 365 nm). Estas reações, sem dúvida, são cinéticas, mas também são aquelas reações em que se mede a formação de um produto em 5, 10 ou 30 minutos de incubação. (BARQUES, 2016; pag.10)

Ainda segundo Barques (2016), essa reação poderá ser crescente ou decrescente. Apresenta velocidade constante após um período de estabilização, se mantendo nesse estado até que o substrato seja consumido. É justamente nesse intervalo de estabilização que as medições são obtidas, a diferença do valor da absorbância entre esse intervalo é chamado de  $\Delta$  (delta), sendo utilizado para cálculo

a divisão entre ΔA/min. A seguir é mostrado o modelo gráfico 2 de uma reação cinética continua:

Reação Cinética Continua

1,8
1,6
1,4
1,9
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Tempo de Reação (min)

Gráfico 02. Modelo de Reação Continua

Fonte: Adaptada da Barques (2016)

Na fase inicial da reação a velocidade não é constante; na segunda fase a reação apresenta velocidade constante onde são obtidas as diferenças de absorbância/minuto (ΔA/min), usadas para calcular o resultado; no fim acontece a redução da velocidade de reação por que o substrato vai se esgotando. Os exames realizados por meio dessa reação são mostrados na tabela 6.

Tabela 06. Exames pelo método cinética continua

Creatinina Quinase (CK)		
Transaminase oxalacética (TGO)		
Transaminase pirúvica (TGP)		
Amilase		
Fosfatase Alcalina		
Gama-glutamiltransferase (GGT)		
Lactato desidrogenase (LDH)		
Creatinoquinase (CKMB)		

Fonte: Própria autora

Segundo a Labtest (2013), um exemplo de teste para essa análise é o Transaminase oxalacética (TGO) ou hoje em dia conhecido como aspartato aminotransferase (AST).

Para Barques (2016), a AST é responsável pela catalização da transferência do grupo amina do ácido aspártico para o cetoglutarato levando a

formação de glutamato e oxalacetato. Em seguida o oxalacetato é reduzido a malato, por ação da malato desidrogenase (MDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD. Dessa forma haverá uma redução da absorbância em 340 a 365 nm, essa oxidação do NADH é monitorada fotometricamente, sendo diretamente proporcional a atividade da AST na amostra.

Essa analise utiliza três reagentes, conforme mostrado na tabela 7, assim temos:

Tabela 07. Teste do AST

	Tubo 1	Tubo 1 após 30 min
Reagente 1 + Reagente 3	0,8 ml	
Reagente 2		0,200 ml
Amostra	0,100 ml	

Fonte: Adaptada da Labtest

Homogeneizar e incubar em banho maria a 37°C por 5 minutos o tubo 1.

Após a adição do reagente 2, homogeneizar e esperar 1 min em banho maria. Com um fotômetro zerado em 340nm registrar a absorbância inicial (A<sub>1</sub>), disparar o cronometro e após 2 min registrar a absorbância(A<sub>2</sub>).

Para encontrarmos a atividade da AST também é necessário calcular o fator de calibração. Nesse caso temos:

$$\Delta A = \frac{(A1 - A2)}{2} \tag{8}$$

$$Fator = \frac{Atividade \ do \ Calibrador}{\Delta A \ /min \ Calibrador}$$
(9)

$$AST(U/L) = \Delta A/min \ Teste \cdot Fator \tag{10}$$

**Reação cinética de 2 Pontos:** Consiste no mesmo princípio da reação cinética contínua, no entrando mede-se a absorbância após 30 s e após 90 s, utilizando o ΔA para cálculo da concentração da amostra, segundo Barques (2016).

Os testes realizados com esse método são: Creatinina e Uréia.

Usando a análise da ureia como exemplo temos: A ureia é hidrolisada pela urease produzindo amônia e dióxido de carbono.

Ureia + 
$$H_2O$$
 Urease 2  $NH_3 + CO_2$  (11)

Segundo a Labtest (2013), a amônia irá reagir com o 2-cetoglutarato e NADH em uma reação catalisada pela glutamato desidrogenase (GLDH), promovendo a oxidação do NADH a NAD. Essa redução da absorbância medida em 340 nm é proporcional a concentração de ureia na amostra.

Esse é um sistema enzimático para a determinação da ureia no soro, plasma ou urina, conforme a tabela 8 seu teste consiste em:

Tabela 08. Teste da Ureia

	Tubo 1 (Padrão)	Tubo2 (Amostra)
Padrão	0,01 ml	
Reagente 1	1 ml	1 ml
Amostra		0,01 ml

Fonte: Adaptada da Labtest

Ao adicionar o reagente 1 ao tubo deixa-se por 1 minuto em banho maria a  $37^{\circ}$ C, em seguida adiciona a amostra ou o padrão, homogeneizar e acionar o cronometro para medição da absorbância em 30 s e 90 s, essa diferença  $\Delta A$  entre os dois tempos ( $A_{30}$ –  $A_{90}$ ) será utilizado para os cálculos. O fotômetro deve está ajustado e zerado no comprimento de onda de 340 nm.

Da mesma forma que as reações anteriores usa-se para os cálculos o fator de calibração, assim temos:

$$Fator de \ Calibração = \frac{Concentração \ do \ Padrão}{\Delta A \ Padrão}$$
 (13)

$$Ur\acute{e}ia(mg / dl) = \Delta A \text{ Teste } \cdot \text{ Fator de Calibração}$$
 (14)

Segundo Barques (2016), todas essas reações necessitam de fotômetro para medição da absorbância. Antigamente usava-se a Colorimetria como método para avaliar a transmitância e absorbância da amostra especulando-se através da paleta de cores a concentração do analito. Além dos erros que poderiam acontecer durante o preparo da amostra como, erro de pipetagem, contaminação cruzada da

amostra, erro de cronometragem, erro de temperatura apropriada, dentre outros, ainda tinha uma maior probabilidade de erro na interpretação das cores correspondentes a concentração das amostras.

Para a SBPC/ML(2019), com o avanço da automação novos equipamentos foram desenvolvidos visando melhorar e minimizar os erros sistemáticos e aleatórios e demais erros, que possam ocasionar interferência no valor final do teste bioquímico, dando maior confiabilidade nessas analises e diminuindo o tempo para liberação do resultado. Em laboratórios de bioquímica clinica dependendo do porte, em média por dia são coletadas cerca de 50 amostras, sendo que para cada amostra são solicitados no mínimo 4 exames bioquímicos, ou seja, 200 testes para serem realizados durante o dia. O tempo é de fundamental importância nessas analises já que esses exames auxiliarão o médico no diagnóstico do paciente e muitas vezes pacientes internados precisam do resultado o mais breve possível. A tecnologia laboratorial foi sendo incrementada e aperfeiçoada ao longo do tempo e hoje é indispensável no meio laboratorial.

A bioquímica possui o equipamento analisador de química clínica totalmente automatizado mostrado na figura 13: Selectra Pro M



Figura 13. Analisador de química clínica Selectra Pro M Fonte: https://www.elitechgroup.com/product/selectra-pro-m#tab-features

Segundo o fabricante ELITechGroup esse equipamento possui:

Sondas únicas de amostra e reagente com sensores de líquidos e uma medição de precisão.

- Um ambiente de teste otimizado gerando resultados precisos além de controlar a temperatura em 37 °C.
- Rotor de cuvette descartável com lavagem a bordo automatizada cerca de 10.000 teste por rotor cuvette.
- Rotor de reagentes com resfriamento integrado, permitindo assim estabilidade a bordo de 28 dias para a maioria dos reagentes (figura 14).
- 32 posições de reagentes- Reagentes prontos para uso e estáveis líquidos, usando metodologias referenciadas aos padrões da indústria.



Figura 14. Rotores da selectra.

Fonte: https://www.elitechgroup.com/product/selectra-pro-m#tab-features

- Reagentes com código de barras para fácil carregamento e rastreamento.
- Rotor amostral com identificação amostral positiva, aumentando a produtividade e reduzindo os erros.
- Acomoda 50 amostras, e 12 posições auxiliares.
- Tecnologia de eletrodos de íons secos (ISE), reduzindo os desperdícios de reagentes e custos operacionais.
- Recursos de software simplificando a operação, programação automatizada de amostras com interfase, (figura 15).
- Cerca de 180 testes por hora.



#### Figura 15. Leitor de código de barras da selectra.

Fonte: Selectra Pro M – ELITechGroup: In Vitro Diagnostic Equipment &Reagentes

- Resfriamento a 10 °C em condições normais de laboratório.
- Sistema de pipetação com seringa de 1000μl podendo realizar pipetagem precisa mesmo sendo de um pequeno volume. Seringa para amostra de 100 μl sendo programável para pipetagem de 0,1 μl.
- Índices de diluição programáveis de 1:5 até 1: 200 em incrementos de uma etapa com 3 possíveis diluentes.
- Sonda pré-aquecida com detecção de nível e proteção contra colisão além de misturador integrado.
- Rotor de cuvette semi-descartável e econômico com 48 cuvetas, sendo possível até 10.000 testes por rotor. Consumindo apenas 220 μl por teste, e com temperatura controlada para medição em 37 °C.
- ➤ Lâmpada de quartzo-iodo 12V-20W
- ➤ Faixa de comprimento de onda com unidade óptica possuindo filtro de 8 posições. 340, 405, 505, 546, 578, 620 e 700 nm como comprimento de onda padrão.
- ➤ Alcance fotométrico de -0,1 a 3,0 absorvimento com resolução de 0,001 Abs.

#### Os modos analíticos baseiam-se em:

- Medição cinética com verificação de linearidade
- Medição de ponto final mono e bicromático com ou sem reagente bimatico ou correção em branco da amostra.
- Medição de dois pontos, com ou sem inclinação em branco.
- Gráfico de todos os pontos de medição.
- Testes calculados.
- Tecnologia de ensaio: Colorimetria e imunoturbimetria.

➤ Modulo ISE: K, Na, CI e CO₂ com medição indireta.

O quão magnifico foi para o laboratório de bioquímica clínica o desenvolvimento desse equipamento, onde os erros podem ser minimizados e a confiabilidade dos resultados se sobressai. Segundo SBPC/ML (2019), a minimização do tempo de processamento para liberação do resultado foi um avanço de suma importância para o auxílio no diagnóstico rápido de pacientes em situação de emergência. É importante ressaltar que a mão de obra humana antes necessária foi minimizada, mais profissionais que avançaram no conhecimento e buscaram qualificação para atuar nesse ramo conquistaram o seu lugar empregatício.

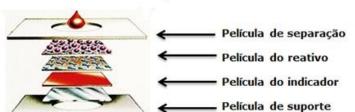
Mesmo com um maquinário moderno ainda é preciso tomar todos os cuidados citados anteriormente, erros ainda acontecem nessa fase analítica, todo cuidado é importante para liberação de um resultado confiável.

#### 4.7. Química Seca

Para Hernándes (2016), o método de química seca se baseia na reflectometria que é uma técnica de detecção com características de uma reflexão de sinal conhecida dentro de um meio para se determinar de maneira exata a localização espacial e a natureza dos constituintes presentes na amostra. Dessa forma, para realização de um teste laboratorial clínico os materiais necessários para se processar uma reação são: um refletômetro, um analisador e as lâminas reativas de slides. Nesses slides conforme mostrado na figura 16, são estabilizados os componentes necessários para as análises (como indicadores, enzimas e reagentes auxiliares) por pré-tratamento e secado em papel de filtro, sendo fixados por uma tira de material sintético. Existem três tipos de slides:

- Enzimáticos: Precisa de várias leituras durante o curso da reação.
- Potenciométrico: Medem o diferencial de potencial entre a amostra e o fluido de referência, utilizando um eletrodo de íon seletivo medindo a concentração dos eletrólitos.
- Colorimétricos: Realizam uma determinação de ponto final, uma vez que a reação tenha se processado por completo.

#### "SLIDE" COLORIMÉTRICO / ENZIMÁTICO



## Figura 16. Slide de utilizados em química seca Fonte:http://adamogama.blogspot.com/2012/08/quimica-seca.html

Segundo Reyes (2016), a química seca apresenta diversas vantagens, dentre elas estão:

- A calibração do equipamento só acontece a cada seis meses, já que essa é a validade dos slides, não há a necessidade de preparar calibradores, não havendo desperdício do mesmo.
- Não apresenta interferência se as amostras estiverem lipêmicas, hemolizadas ou com coloração amarelada (ictéricas).
- Apresenta uma excelente precisão e exatidão.
- Por não haver necessidade de preparação de reagentes, haverá uma diminuição de resíduos.

Atualmente os laboratórios já dispõem de equipamentos automatizados que utilizam esse método como mostrado na figura 17.



Figura 17. Equipamento de Quimica seca VITROS 5600 Fonte: https://www.orthoclinicaldiagnostics.com/pt-br/home/vitros-5600

Para Hermanes (2016), a implementação da química seca no laboratório trouxe uma revolução nas análises clínicas, pela sua facilidade, confiabilidade e rapidez em sua aplicação. Dentre as múltiplas vantagens, a que mais se destaca é o pequeno volume usado em uma determinação, cerca de 10 µL, e essa amostra pode ser soro, plasma, líquido cefalorraquidiano ou urina.

Estando com os resultados prontos, partindo do pressuposto que os erros na fase pré-analítica e analítica foram identificados e minimizados, como o *Selectra* e o *Vitros* 5600 possui interfaceamento, o analista clínico liberará os resultados para análise e interpretação do médico solicitante.

#### 5. FASE PÓS-ANALÍTICA

Para SBPC/ML (2019), um laboratório clinico poderá funcionar sem um sistema de gestão da informação conhecido como SIL, no entanto o preço a pagar é um precário controle e armazenamento de dados e de processos e registros de

análises. Por essa razão, a tecnologia da informação favoreceu os laboratórios dispondo *software* capazes de correlacionar dados de equipamentos.

Uma vez os resultados prontos, o analista liberará e de imediato o médico responsável poderá consultar esses exames. Isso ocorre em hospitais que possuem seus próprios laboratórios, possibilitando ao analista clinico uma melhor comunicação se algum resultado for critico ou de urgência. Nem todos os hospitais dispõem dessa ferramenta de comunicação analista e médico, muitas vezes o paciente realiza exames fora do hospital e o médico só tem conhecimento dos resultados na próxima consulta. Se algum índice nos exames for crítico o paciente sofrerá até que o médico tenha conhecimento sobre o que está acontecendo (Oliveira, 2011).

Para SBPC/ML (2019), outro feito que a automação proporcionou ao ambiente laboratorial foi o armazenamento das amostras (soroteca). As amostras podem ser congeladas e utilizadas para outros testes conforme solicitação do médico, evitando novas coletas e gastos desnecessários.

#### 6. CONCLUSÃO

Diante de todos os dados e informações explanados nesse trabalho, conclui-se que a tecnologia em automação para o laboratório de análises clínicas teve benefícios notórios, que proporcionou o crescimento de análises com reprodutividade e precisão. Em todas as etapas para que o exame clínico seja

realizado é necessário averiguar e inibir erros para que não haja interferência nos resultados. O analista clínico é responsável pela liberação desses resultados, por isso a necessidade de manter os controles internos e externos dentro dos parâmetros exigidos, além de levar em consideração a fase pré-analítica para interpretação dos exames antes de sua liberação. É surpreendente como a química está presente no laboratório de análises clínicas, e como sua contribuição é indispensável.

Ao ter o primeiro contato como o laboratório não imaginava a sequência de teoria que iria ver na prática, isso me fez relembrar e aprender novamente teorias vivenciadas em sala de aula, como colorimetria, espectrometria, biologia celular, cinética química, dentre outras. O mercado de trabalho ao qual alunos se preparam durante no mínimo quatros anos, vem sofrendo mudanças tecnológicas e o conhecimento e qualificação profissional vem seguindo a mesma linha. Acredito que seja hora da Graduação em Química Bacharelado com habilitação Química e Química Industrial da Universidade Federal do Ceará (UFC) proporcionar disciplinas e estágios nessas áreas de crescimento tecnológico.

#### 7. REFERÊNCIAS

Almeida, ML. Dosagens de ureia e creatinina em soro humano através da técnica de espectroscopia raman comparada com o método bioquímico. Programa de pósgraduação em bioengenharia, Universidade Camilo Castelo Branco; 2014.

Andriolo A. Breve história da automação em laboratórios clínicos. In: Recomendação da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Automação Laboratorial: histórico, seleção, implantação e gestão. São Paulo: Manole; 2018, P.1-30.

Barbedo, J. G. Automação Laboratorial. Campinas: Rebeca Freitas da Silva, 2012.

Barques, Frida Wilke Alves.Guia técnico bioquímica. Minas Gerais, 2016. Dísponivel em: https://labtest.com.br/wpcontent/uploads/2016/09/Guia\_Tecnico\_Bioquimica.pdf. Acesso em 15 Dezembro de 2021.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução RDC n. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre requisitos para o funcionamento dos laboratórios clínicos e postos de coleta laboratorial públicos ou privados que realizam atividades na área de análises clínicas, patologia clínica e citologia

.

Berlitz, F. A.; Haussen, m. L. Seis sigma no laboratório clínico: impacto na gestão de performance analítica dos processos técnicos. JBPML, 2005.

Burtis, C. A; Ashwood, Edward R. Tietz Fundamentos da Quìmica Clínica. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN S.A.1996.

Campana, g. a.; Oplustil, C. P. Conceitos de automação na medicina laboratorial: revisão de literatura • J Bras Patol Med Lab • v. 47 • n. 2 • p. 119-127 • abril 2011

Center of Disease Control (CDC). The state of aging and health in America .2007. Disponívelem: <a href="http://www.cdc.gov">http://www.cdc.gov</a> Acesso em 10 janeiro de 2022.

Costa VG, Moreli ML. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. J BrasPatol Med Lab. 2012;48(3):163-8

Hermandez, N. R. (2016). Evaluacion de losparámetros de verificaciondel método de química seca para elanálisis de glucosa, colesterol y trigliceridos em suero sanguíneo. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro.

LABTEST diagnósticos SA [homepage na internet]. Reagentes [acesso em Dez 2021]. Disponível em: http://www.labtest.com.br/reagentes.

Oliveira, C. A. de Mendes, M. E, Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática, ControlLab, Rio de Janeiro, RJ,2011. PRECARN. Laboratory Automation. Report, Canada, Feb. 2005.

Rao LV. Fatores que influenciam os exames laboratoriais. In: Wallach J. Interpretação de exames laboratoriais. 10<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. P. 1-9.

Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): boas práticas em laboratório clínico / organização NairoMassakazuSumita ... [et al.]. - 1. ed. - Barueri [SP]: Manole, 2020

Reyes. Maria Janin Rodrigues, Evolución de losparámetros de verificacióndel método de química seca para elanálisis de ácido úrico, urea y creatinina ensuerosanguíneo, Santiago, 2016.

SBPC/ML. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial: Inovação no Laboratório Clínico. São Paulo,2019.

Sociedade Brasileira De Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/MI): Coleta e Preparo da Amostra Biológica. [acesso em 28 deDez 2021]. Disponível,em:http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/livro\_coleta\_biologica2013.pd f

Trindade E. A incorporação de novas tecnologias nos serviços de saúde: o desafio da análise dos fatores em jogo. Cad Saúde Pública. 2008 24(5):951-64. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2008000500002.