

# MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

## ANÁLISES CLÍNICAS

Brasília - DF  
2022

## **APRESENTAÇÃO**

O Laboratório Escola de Análises Clínicas está situado no campus I da Universidade Católica de Brasília no Bloco - São Gaspar Bertolli (Bloco M), Sala 220. O local é dividido em área de uso comum (com bancadas, pias, armários e equipamentos), sala de lavagem e esterilização de materiais, sala de separação e armazenamento de materiais e amostras e sala administrativa.

É um Laboratório de uso comum, atendendo a aulas práticas dos cursos de Biomedicina, Farmácia e Medicina. Atende aos estágios supervisionados de Biomedicina e Farmácia, minicursos, monitorias, trabalhos de conclusão de curso e projetos de pesquisa. Não realizando análises externas e liberação de laudos.

<b>1 – OBJETIVO</b>	<b>5</b>
<b>2 – RESPONSABILIDADES</b>	<b>5</b>
✓ 2.1 PLANO DE AVALIAÇÃO PERIÓDICA DOS ESPAÇOS	5
✓ 2.2 PLANO DE MANUTENÇÃO E GUARDA PATRIMONIAL	5
✓ 2.3 PLANO DE LIMPEZA E ORGANIZAÇÃO	5
✓ 2.4 PLANO DE ATUALIZAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS	6
✓ 2.5 AGENDAMENTO DE AULAS PRÁTICAS	6
✓ 2.6 CURSOS QUE UTILIZAM O LABORATÓRIO:	6
✓ 2.7 PESSOAS ENVOLVIDAS DIRETAMENTE COM O LABORATÓRIO:	6
<b>3– NORMAS DO LABORATÓRIO</b>	<b>7</b>
<b>4 - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS</b>	<b>8</b>
<b>5 – PROCEDIMENTOS</b>	<b>9</b>
✓ 5.1 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL – EPI	9
✓ 5.2 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO COLETIVA – EPC	9
✓ 5.3 HIGIENIZAÇÃO/DESINFECÇÃO	10
✓ 5.4 OPERAÇÕES DOS EQUIPAMENTOS	11
<i>Homogeneizador de soluções</i>	11
<i>Microcentrifuga de Eppendorf</i>	11
<i>Estufa de secagem e esterilização</i>	11
<i>Destilador de água</i>	12
<i>Banho Maria Redondo</i>	12
<i>Agitador de tubos tipo vortex</i>	13
<i>Agitador Magnético sem aquecimento:</i>	13
<i>Autoclave vertical (Phoenix):</i>	15
<i>Cuba eletroforética vertical</i>	15
<i>Cuba de eletroforese horizontal</i>	15
<i>Fonte de eletroforese digital</i>	16
<i>Balança analítica</i>	16
<i>Microscópios</i>	17
<i>Espectrofotômetro semi-automático BTS- 350 Biosystems</i>	17
<i>Centrifuga Excelsa II – Fanem:</i>	18
<i>Centrifuga K14-4000 – Kasvi:</i>	18
<i>Contador hematológico - Micros 60</i>	19
<i>Coagulômetro – Start4 Stago</i>	20
<i>Termobloco Banho Seco Digital</i>	21
✓ 5.5 TÉCNICAS REALIZADAS NO LABORATÓRIO	24
○ <i>Coleta sanguínea</i>	24
○ <i>Contagem de Leucócitos em Câmara de Neubauer</i>	29
○ <i>Hemograma Automação</i>	31
○ <i>Confecção de Esfregaço Sanguíneo , Coloração e Leitura da Lâmina:</i>	44
○ <i>Procedimento de Coloração : Panótico Rápido</i>	46
○ <i>Coagulograma (Automação)</i>	47
○ <i>Coagulograma (Tempo de Sangramento, Tempo de Coagulação e Prova do Laço)</i>	53
○ <i>Tempo de Coagulação</i>	55
○ <i>Prova do Laço</i>	57
○ <i>Imunohematologia – Sistema ABO e Rh</i>	59
○ <i>Contagem de Reticulócitos - (Azul de cresil brilhante)</i>	63
○ <i>Bioquímica Clínica Manual</i>	68
○ <i>Glicose Monoreagente</i>	69
○ <i>Colesterol Monoreagente</i>	74
○ <i>Triglicérides Monoreagente</i>	84
○ <i>Proteínas Totais</i>	89
○ <i>Albumina</i>	93
○ <i>Amilase</i>	98
○ <i>Uréia Enzimática</i>	103
○ <i>Aspartato Amino Transferase (AST ou TGO)</i>	108

<u>Transaminase ALT (TGP) Cinética</u> -----	113
<u>Transaminase TGO</u> -----	118
<u>Transaminase TGP</u> -----	123
<u>Magnésio Monoreagente</u> -----	128
<u>Fosfatase Alcalina</u> -----	133
<u>Fósforo</u> -----	137
<u>Ferro Sérico</u> -----	142
<u>Bilirrubina</u> -----	146
<u>BIO - Látex PCR</u> -----	152
<u>VDRL Pronto Para Uso</u> -----	156
<u>HCG STRIP</u> -----	165
○ <u>REUMATEST</u> -----	169
○ <u>PCR TEST</u> -----	173
○ <u>IMUNO- CON FTA-Abs Sífilis</u> -----	178
○ <u>Chagas HAI</u> -----	183
○ <u>TOXO HAI</u> -----	187
○ <u>CHAGAS ELISA (Wiener)</u> -----	193
○ <u>EAS</u> -----	201
○ <u>Espermocitograma</u> -----	209
○ <u>Regulação Matabólica</u> -----	211
✓ 5.6 MANUSEIO DE PRODUTOS QUÍMICOS .....	215
✓ 5.5 COLETAS, ACONDICIONAMENTO E RECOLHIMENTO DOS RESÍDUOS .....	216
<b>6 - CONDUTAS A SEREM ADOTADAS EM CASOS DE ACIDENTES</b> -----	<b>216</b>
✓ 6.1 CONTATOS DE EMERGÊNCIA .....	217
<b>7 - ANEXOS</b> -----	<b>217</b>
<b>8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> -----	<b>217</b>

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 5 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

<b>Elaboração:</b> Amanda Lúcia Gomes	<b>Assinatura ou Rubrica</b>	<b>Data:</b> 10/04/2015
<b>Revisão:</b> Nathalya Evelyn Silva Araujo	<b>Assinatura ou Rubrica</b>	<b>Data:</b> 15/12/2022
<b>Aprovação:</b> Fernanco Pucci	<b>Assinatura ou Rubrica</b>	<b>Data:</b> 15/12/2022

## 1 – OBJETIVO

Descrever de forma simples e objetiva as técnicas, atividades e operações realizadas no laboratório.

## 2 – RESPONSABILIDADES

### 2.1 Plano de avaliação periódica dos espaços

A verificação dos laboratórios é feita diariamente pelo técnico que identificando algum problema de infraestrutura abrirá um chamado via sistema SISPREL para que a equipe de manutenção providencie os reparos necessários.

### 2.2 Plano de manutenção e guarda patrimonial

Anteriormente ao início do semestre a limpeza dos equipamentos e geladeiras são feitos, e se necessário, as calibrações internas de equipamentos específicos sempre no início e no fim dos semestres afim de preparar os equipamentos para início das aulas práticas.

### 2.3 Plano de limpeza e organização

O piso é limpo todos os dias pelos servidores do serviço de limpeza e conservação, conforme escala estabelecida pela gestão de Higienização da UCB.

As bancadas são limpas com sabão neutro e álcool 70° no início e ao término de todas as aulas. Equipamentos e materiais são encaminhados para a limpeza e desinfecção ao término de cada aula (ex: tubos de ensaio, espátulas, almotolias etc.), primeiramente ficam por cerca de 24h de molho em solução de cloro a 1%, em seguida são enxaguados

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 6 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

e lavadas normalmente com sabão neutro e novamente enxaguadas com água corrente e preferivelmente pelo menos três enxagues com água destilada. No caso de derramamento fluidos biológicos dentro de equipamentos (centrífugas, estufas etc.) deve imediatamente ser descontaminados com hipoclorito 1% e em seguida passar álcool 70%.

O laboratório possui identificações quanto ao que está em cada armário e gaveta, bem como os riscos químicos e biológicos.

#### **2.4 Plano de atualização dos equipamentos**

Anualmente ocorre uma previsão orçamentária de Investimentos para o laboratório, seu grau de importância e urgência.

#### **2.5 Agendamento de aulas práticas**

Ao início do semestre é solicitado aos professores que utilizam os laboratórios, bem como os coordenadores dos cursos, os planos de ensino com as datas e roteiros das práticas. O agendamento é solicitado por email para o [reservasala@ucb.br](mailto:reservasala@ucb.br) e são acompanhadas via sistema VBI, bem como planilha compartilhada com os laboratórios de Microbiologia, Parasitologia e Tecnologia de Alimentos para controle pessoal.

#### **2.6 Cursos que utilizam o laboratório:**

Regular

- Biomedicina
- Farmácia
- Medicina
- Estágio Supervisionado I (Biomedicina e Farmácia)
- Atividades de alunos de pós-graduação (Mestrado, Doutorado etc.)
- Monitorias com agendamento prévio
- Trabalho de Conclusão de Curso
- Minicursos

#### **2.7 Pessoas envolvidas diretamente com o laboratório:**

-Coordenação do EAP's

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 7 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Thalita Tormim

- Coordenador da biomedicina:

Fernando Pucci

- Técnicos:

Nathalya Evelyn Silva Araujo

### **3– NORMAS DO LABORATÓRIO**

- Não é permitida a presença de pessoas não autorizadas no laboratório.
- A chave do laboratório está na responsabilidade do técnico do laboratório ou professor e somente será liberada aos alunos e pesquisadores que tiverem autorização prévia da coordenação do curso junto a gestão do EAP's.
- É obrigatório o uso de EPI – *Equipamento de Proteção Individual* (jaleco, sapato fechado, calça cumprida, luvas durante a realização de qualquer procedimento, além de touca e máscara caso se faça necessário) dentro do laboratório (Portaria da reitoria nº 143 NR06).
- Todos os alunos que utilizarem o laboratório devem ser orientados pelo professor quanto ao seu funcionamento antes do início das atividades no laboratório.
- É proibida a entrada e o consumo de qualquer tipo de alimento ou bebida em áreas de análises.
- Fica proibido a entrada e permanência do aluno que estiver com sandália, sapato que não cubra totalmente os pés, shorts, saias, bermudas, cropped, salto alto, tamanco e similares e jaleco de manga curta.
- Após os procedimentos realizados no laboratório o aluno deverá deixá-lo limpo e organizado, e verificar se desligou todos os equipamentos que utilizou.
- Objetos de uso pessoal como bolsas, mochilas, celular, garrafas de água, entre outros, não devem ficar sobre as bancadas, somente deverá ficar sobre as bancadas os materiais necessários para as atividades do laboratório. Os demais materiais devem ser guardados em local próprio especificado pelo professor e/ou técnico do laboratório.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	<b>UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS</b>	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 8 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Mantenha a porta do laboratório sempre fechada para controle e restrição de acesso ao local durante as atividades, salvo em casos em que a ventilação natural seja necessária.
- Evitar brincadeiras, distrações, uso de fones de ouvido, gritos e conversas paralelas durante os procedimentos, pois podem causar sérios acidentes.
- Estar devidamente familiarizado com o equipamento que estiver sendo manuseado, preferencialmente, fazendo-o sob supervisão do técnico ou professor responsável pela disciplina.
- Zelar por sua própria segurança e dos companheiros de laboratório, informando ao professor qualquer irregularidade ou situação de risco que possa comprometer aos que estão no laboratório.
- Observar o local adequado de descarte dos resíduos produzidos durante as aulas/atividades e sempre que necessário em caso de dúvidas buscarem orientação dos técnicos sobre as normas de condutas para descarte dos resíduos laboratoriais.

#### **4 - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS**

Aulas Práticas dos Cursos de Biomedicina, Farmácia e Medicina que são ministradas no Laboratório de Análises Clínicas contemplam as disciplinas de Hematologia Clínica, Bioquímica Clínica, Imunologia Clínica, Fluidos Corporais e Urinálise, Bases do diagnóstico Clínico, Citopatologia Ginecológica, e Práticas Profissionais em Biomedicina, assim como disciplinas da formação básica da Escola de Saúde e Medicina.

As principais atividades realizadas no laboratório são: coleta sanguínea, contagem de células em câmara de Neubauer, confecção de esfregaços sanguíneos, contagem diferencial de leucócitos, hemograma em automação, imunohematologia – Sistema ABO e Rh, contagem de reticulócitos através da técnica de coloração com azul de cresil brilhante, coagulograma manual, diluição, aglutinação (FR, VDRL, PCR), imunocromatografia, imunofluorescência, hemaglutinação, Elisa, exame físico, químico e microscópico da urina, concentração de espermatozoides, motilidade, morfologia e vitalidade dos espermatozoides, dosagens bioquímicas diversas em equipamento semi-automatizado, teste de resistência globular e construção de curva padrão, execução de



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 9 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

técnicas de coletas ginecológicas e fixação (Brainstoming) em boneca e microscopia em geral.

O Estágio Supervisionado do curso de Biomedicina e Farmácia consiste em rodízios, normalmente três grupos compostos por 5 a 6 alunos) . Cerca de duas vezes na semana os alunos realizam uma rotina laboratorial realizando análises de Hematologia Clínica, Bioquímica Clínica, Uranálise, Imunologia Clínica e confeccionam os laudos fictícios das amostras analisadas e o relatório da atividade realizada em cada dia.

Monitorias, minicursos, projetos de pesquisas e demais atividades também são previstas a ocorrer no laboratório mediante agendamento prévio do professor responsável da disciplina ou do projeto com a gestão do EAP's.

## **5 – PROCEDIMENTOS**

### **5.1 Equipamentos de Proteção Individual – EPI**

- Para manipulação de reagentes de kits manuais: Jaleco, luvas e touca.
- Para manipulação de corantes: jaleco e luvas.
- Para manipulação de quaisquer tipos de amostras biológicas (sangue, soro, urina, esperma entre outros) é obrigatório o uso de jaleco, luvas, touca e máscara.

### **5.2 Equipamentos de Proteção Coletiva – EPC**

- O chuveiro de emergência é utilizado em casos de acidentes em que haja projeção de grande quantidade de sangue, substâncias químicas ou outro material biológico sobre o profissional.
- O jato de água deve ser forte e acionado por alavancas de mão, cotovelos ou joelhos, para possibilitar a remoção imediata da substância reduzindo os danos para o indivíduo.
- O lava-olhos é um equipamento utilizado para acidentes na mucosa ocular, o jato de água também deve ser forte e dirigido aos olhos. Quando ocorrer acidente com

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 10 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

derrame de material nos olhos, estes devem ser lavados por, no mínimo 15 minutos, para remoção da substância, reduzindo danos ao indivíduo.

- Em geral o lava-olhos é instalado junto dos chuveiros ou junto das pias do laboratório, porém a proteção com óculos pode evitar esses tipos de acidentes, que às vezes pode levar a danos irreversíveis. Os chuveiros e os lava-olhos devem ser higienizados semanalmente.
- Os laboratórios são obrigados a manter em boas condições de funcionamento todos esses equipamentos citados. Esses equipamentos devem estar sinalizados com placas indicativas, instalados ou colocados em locais conhecidos de todos e de fácil acesso.

### **5.3 Higienização/Desinfecção**

- O piso é limpo todos os dias pelos servidores do serviço de limpeza e conservação, conforme escala estabelecida pela gestão de Higienização da UCB.
- As bancadas são limpas com sabão neutro e álcool 70° no início e ao término de todas as aulas.
- Equipamentos e materiais são encaminhados para a limpeza e desinfecção ao término de cada aula (ex: tubos de ensaio, espátulas, almotolias etc), primeiramente ficam por cerca de 24h de molho em solução de cloro a 1%, em seguida são enxaguados e lavados normalmente com sabão neutro e novamente enxaguados com água corrente e preferivelmente pelo o menos três enxagues com água destilada.
- No caso de derramar fluidos biológicos dentro de equipamentos (centrífugas, estufas etc.) deve imediatamente ser descontaminados com hipoclorito 1% e em seguida passar álcool 70%

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 11 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## 5.4 Operações dos equipamentos

### Homogeneizador de soluções

- Na parte frontal do aparelho existem duas chaves. Uma com as descrições liga/desliga e a outra min e max.
- Coloque os tubos nas garras de aço inox e posicione a chave liga/desliga na posição liga, o eixo com os frascos começará a girar. No botão do potenciômetro, pode-se selecionar a rotação desejada.

### Microcentrifuga de Eppendorf

- Sempre utilize a tampa do rotor por segurança e para permitir que o rotor alcance a velocidade apropriada.
- A velocidade pode ser selecionada entre 500 a 13.300 rpm com o botão da direita. Gire o botão para aumentar ou diminuir o valor.
- O tempo de operação pode ser selecionado entre 0,5 min a 30 min girando o botão timer a esquerda.
- Quando o tempo pré-selecionado expirar, a centrifuga irá parar automaticamente. Para parar a centrifuga antecedentemente ao termo do tempo estabelecido, pressione o botão de timer.

### Estufa de secagem e esterilização

- Ligar a chave geral;
- Programar a temperatura desejada no controlador;
- Inserir o material para secagem sobre as bandejas e manter espaço entre elas para que o ar possa deslocar-se sem dificuldade.

**Atenção:** para secagem de material com solventes, deixar a porta semi-aberta para que não haja o risco de formação de gases e consequentemente a explosão do equipamento.

**Segurança:** após programar a temperatura, ajustar o limite de superaquecimento a uma temperatura de 15 a 30°C acima do programado no controlador. Se houver algum

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 12 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

problema no controlador de temperatura, a resistência é desligada, protegendo assim suas amostras.

### **Como programar a temperatura**

- Indicação de saída de controle Principal
  - Indicação de saída do alarme (Não utilizada)
  - Display
  - Tecla diminui o valor de set-point
  - Tecla aumenta o valor de set-point
  - Tecla utilizada para acessar o set-point e rolagem dos parâmetros
  - Tecla utilizada para acessar o menu de set-point e parâmetros de configuração
- Para programar a temperatura desejada, pressionar as teclas , onde aparecerá a sigla “SP”, e a que mostrará o parâmetro de modificação de temperatura.
  - Pressionar a tecla para aumentar o valor de “SP”, e a tecla para diminuir o valor e”SP”.
  - Para confirmar a programação, pressione as teclas e.
  - Para o registro de um novo valor na memória, pressione a tecla duas vezes.

### **Destilador de água**

- Abrir a torneira para o estabelecimento da caldeira
- Através do registro de regulagem, abastecer a caldeira com água, até que o sistema nivelador comece a descartar água.
- Ligar os disjuntores e aguardar o aquecimento, até que a água na caldeira entre em ebulição.
- A água destilada sairá no bico até o barrilete coletor.

### **Banho Maria Redondo**

- Encha a cuba com água até a cobertura da resistência tubular, lembre-se que o nível deve cobrir ao menos 3 cm por cima da última espiral da resistência.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 13 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Para maior durabilidade do aparelho use água destilada ou deionizada.
- Confira se a voltagem da rede elétrica é a mesma da etiqueta de identificação do aparelho.
- Confira a bitola dos fios que alimentam os aparelhos, os mesmos deverão suportar até 3,5 ampères.
- Ligue o aparelho girando o led de aquecimento irá acender.
- Posicione um termômetro de vidro ou digital (4 cm imerso na água).
- Selecione a temperatura desejada com o knob do regulador de temperatura conferindo sempre a leitura no termômetro já que a escala do knob é analógica.
- Quando o led de aquecimento apaga, indica que atingiu a temperatura de termostatização e iniciará os ciclos de liga-desliga para manter a temperatura.
- Se houver muita evaporação é estritamente necessário repor a quantidade de água evaporada.

#### **Agitador de tubos tipo vortex**

- Verifique se a voltagem do equipamento está em conformidade com a da rede elétrica.
- Reserve uma bancada de trabalho limpa, seca e não combustível.
- Reserve uma distância de 15 cm de cada lado do equipamento com área de segurança.
- Conecte o cabo na rede elétrica.
- Pressionar o tubo de ensaio sobre a plataforma de silicone. O processo de agitação interrompe-se levantando o tubo de ensaio.

#### **Agitador Magnético sem aquecimento:**

- Use um recipiente de vidro ou plástico com o fundo totalmente plano (interno e externo) e uma barra magnética (acompanha o equipamento).
- Coloque o produto e a barra dentro do beaker e este sobre a plataforma do equipamento, cuidando para que o conjunto fique estável sobre a bancada.
- Utilize o controle de agitação para programar a rotação desejada.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 14 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Após algum tempo a rotação desejada será alcançada, este tempo depende das características do produto a ser agitado. Esta aceleração é indicada pelo piscar do led azul.

Lavadora de microplaca ??

**Preparar lavadora:** Faz com que a lavadora encha sua tubulação com a solução de lavagem.

- **Programação:** Permite modificar os parâmetros da programação da lavadora. Também permite salvar até 100 diferentes programações.
- **Lavar microplaca:** Inicia a operação que lava a microplaca de acordo com o último protocolo escolhido.
- **Limpar lavadora:** Faz com que a lavadora encha sua tubulação com água destilada ou deionizada.
- **Configuração:** Configura parâmetros gerais da Aquari®.
- **Gestão:** Permite ao programador definir e programar a gestão do usuário que vai manusear o equipamento.
- **Dispensar:** Permite ao usuário dispensar solução de lavagem na microplaca.

Verifique se há necessidade de esvaziar o descarte. Nunca opere a lavadora com o descarte cheio! A garrafa de descarte tem um sensor de nível, quando a garrafa está cheia a lavadora interrompe a operação. Porém, se o usuário conseguir fazer a lavadora aspirar líquido pela tubulação de ar (mangueira branca) pode danificar a bomba de vácuo e danificar o equipamento. Verifique se há necessidade de encher os reservatórios de solução de lavagem e água destilada ou deionizada.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 15 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Autoclave vertical (Phoenix):**

- Abrir a tampa e colocar água na caldeira até atingir o descanso do cesto e introduzir o material a ser esterilizado, acondicionados devidamente em sacos para autoclavação. Se necessário, no caso de falta de sacos de específicos para autoclave, usar 2 sacos de lixo com indicação de risco biológico contendo diversos orifícios ao longo das bordas. .
- Fechar a tampa apertando os manípulos (B) em forma de cruz;
- Abrir o registro de vapor (C) e ligar a chave comutadora no calor (MAX);
- Aguardar a saída de vapor no bico do registro (E) e em seguida fechá-lo;
- Mudar a chave comutadora para o calor médio (MED) para manter a pressão;
- Terminando o tempo de esterilização, desligar a chave comutadora (DESL), abrir o registro de vapor (C) esperar o manômetro (A) voltar a zero e em seguida abrir a tampa.

### **Cuba eletroforética vertical**

- Remova a tampa. Note que se a tampa não for removida, o encaixe dos cabos pode resultar em não aperto do plugue de ouro e danificar o eletrodo.
- Parafuse os cabos nos buracos o máximo que conseguir.
- Coloque a tampa novamente.
- Altitude máxima 2.200m, faixa de temperatura entre 4° e 65°C, umidade relativa máxima de 80% para temp de até 31°C decrescendo linearmente para 50% de umidade relativa a 40°C.
- Não é para utilização externa.

### **Cuba de eletroforese horizontal**

- Remova a tampa. Note que se a tampa não for removida, os encaixes dos cabos pode resultar em não aperto do plugue de ouro e danificar o eletrodo.
- Parafuse os cabos nos buracos o máximo que conseguir.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 16 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Coloque a tampa novamente.
- Altitude máxima 2.200m, faixa de temperatura entre 4° e 65°C, umidade relativa máxima de 80% para temp de até 31°C decrescendo linearmente para 50% de umidade relativa a 40°C.
- Não é para utilização externa.

### **Fonte de eletroforese digital**

- Ao ligar o equipamento, ele irá entrar no modo de configuração.
- O cursor piscará U = 000V. você pode ajustar o valor da tensão constante de 10 – 1000V pressionando o botão para cima e para baixo.
- O cursor piscará I = 000mA quando você pressionar o botão ENT. Você pode ajustar esse valor de 1 – 500mA.
- O cursor piscará P = 000W quando você pressionar o botão ENT. Você pode ajustar esse valor da potência de 1 – 300W.
- O cursor retornará e piscará U = 000V quando você pressionar o botão RUN/STOP, a fonte começará a corrida e entrará no modo de operação. Mas se você pressionar RUN/STOP, a fonte irá parar e retornar ao modo de ajuste.

### **Balança analítica**

- Verificar o nivelamento da balança
- Pré-aqueça a balança antes de efetuar as medidas, pelo menos 30 min.
- Pressione a tecla power
- A indicação off se apaga e o display inteiro acende.
- Faça a calibração sempre antes de utilizar a balança
- Tarar o recipiente de pesagem da amostra coloque-o sobre o prato e aguarde o símbolo de estabilidade acender, e então pressione a tecla O/T. Note que o zero é mostrado no display.
- Coloque a amostra no prato e faça a leitura depois que a marca de estabilidade aparecer.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 17 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## **Microscópios**

- Antes de ligar retire todas as coberturas do produto.
- Manuseie as lâmpadas, movimente a platina, ajuste o microscópio para a observação desejada da imagem, ajuste a dioptria, ajuste a abertura do diafragma, coloque a lâmina na platina, focalize, selecione a objetiva, refocalize.

## **Espectrofotômetro semi-automático BTS- 350 Biosystems**

- Verificar a Voltagem do equipamento antes de ligá-lo na tomada
- Verificar a conexão da mangueira do descarte de resíduos a parte de trás do equipamento bem como se não há nenhuma obstrução da mangueira
- Abrir a porta superior do equipamento, e verificar se a mangueira da bomba peristáltica encontra-se devidamente encaixada nos suportes.
- Apertar o Botão de Ligar ON/OFF
- Aguardar a checagem do equipamento
- Aperte ENTER para ir ao Menu
- Escolher o método de Leitura: Absorbância ou Concentração
- Definir a faixa do comprimento de onda de Leitura
- Passar as amostras a serem testadas seguindo a seguinte ordem ou conforme a bula de procedimento do devido kit utilizado:
  - I. Branco (Linha de Base)
  - II. Padrão
  - III. Teste
- Aguardar a Impressão dos Resultados
- Quando mudar de técnica, lave o sistema de aspiração com água destilada e solução de lavagem.
- Ao finalizar o uso do equipamento sempre passar água destilada e solução de lavagem

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 18 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Centrifuga Excelsa II – Fanem:**

- Antes de conectar o aparelho a rede elétrica, verificar se a rede na qual será conectado corresponde à voltagem e potência do equipamento;
- O equipamento possui tensão de 110V, sendo assim, é necessário ligá-lo em um estabilizador antes de ligar na tomada;
- Ligar o botão do estabilizador;
- Prepare os tubos, coloque as amostras dentro deles, checando visualmente se eles estão no mesmo nível;
- Carregue os tubos no rack simetricamente, caso contrário ocorrerá muita vibração no processo de centrifugação;
- Feche a tampa da centrífuga;
- Selecionar a velocidade, que vai de 0 a 7 (o número x 1000 corresponde à quantidade de RPM), a centrífuga irá começar o processo imediatamente;
- Marcar o tempo em um cronômetro, pois o equipamento não realiza a marcação do tempo;
- Após o término do tempo e a centrifugação terminar totalmente, abrir a tampa e retirar os tubos;
- Ao terminar, desligar o estabilizador e desconectar a centrífuga da tomada.

### **Centrifuga K14-4000 – Kasvi:**

- Conectar o cabo de energia na parte de trás do equipamento e verificar a chave de seleção de tensão 110V / 220V. Ligar na tomada apenas após selecionar a tensão;
- Ligar o equipamento, a tela irá acender;
- Prepare os tubos, coloque as amostras dentro deles, checando visualmente se eles estão no mesmo nível;
- Carregue os tubos no rack simetricamente, caso contrário ocorrerá muita vibração no processo de centrifugação;

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 19 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- **Atenção:** quando existir uma diferença de volume prejudicial a centrífuga, o equipamento irá parar o processo, apresentando a mensagem ERR9, para defeito no eixo motor;
- Feche a tampa e certifique-se que ela está travada;
- Ajuste os parâmetros desejados:
  - Pressione o botão **SEL** uma vez para ajustar a velocidade;
  - Pressione o botão **SEL** duas vezes para ajustar o tipo de rotor;
  - Pressione o botão **SEL** três vezes para ajustar a força g (RCF);
  - Pressione o botão **SEL** quatro vezes para ajustar o tempo;
  - Pressione o botão **SEL** cinco vezes para ajustar a aceleração de 0 a 9.
- Pressione o botão de **start**, o indicador de **start** irá acender e a centrífuga começará a funcionar. A tela irá mostrar a velocidade, o cronometro começa a contagem regressiva assim que a centrífuga atingir a velocidade selecionada;
- Quando o tempo de operação chegar ao zero (ou ao pressionar o botão **stop**), a velocidade vai diminuir até chegar a zero e, então, a centrífuga irá parar de funcionar, destravar a tampa e enviar um aviso sonoro de que a centrifugação terminou;
- Pressione o botão para posição **off** (para baixo) para desligar o painel. Ao terminar de usar o equipamento, desconectar a centrífuga da tomada.

#### **Contador hematológico - Micros 60**

- Antes de conectar o aparelho a rede elétrica, verificar se a rede na qual será conectado corresponde a voltagem e potência do equipamento.
- Ligar o equipamento na chave geral que encontra-se na parte de trás do equipamento
- Aperte a Tecla Start up, para inicializar uma prévia checagem do equipamento de manutenção diária.
- Passar o Controle de Qualidade (Conforme instruções descritas no tópico 4. Procedimentos)

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 20 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Passar amostras desejadas (Conforme instruções descritas no Tópico 4. Procedimentos)
- Ao finalizar a rotina, apertar o botão Stand-by antes de desligar o equipamento na chave geral e da tomada.

OBS: Na opção Menu , tópico 4. Serviços existem diversas opções de manutenções utilizadas para as seguintes ocasiões:

- Back Flush – suspeita de amostras com coágulo no sistema que pode obstruir os tubos e câmaras do equipamento.
- Drenagem de câmaras – deve ser realizada sempre antes da limpeza concentrada
- Prime – é um inicializador de reagente. Deve ser realizado quando tiver qualquer suspeita quanto a formação de bolhas ou problemas na aspiração das soluções.
- Limpeza Concentrada – deve ser realizada 1 vez na semana ou 2 vezes se a rotina for alta. Deve-rá ser adicionado 3 ml na câmara de WBC e 3 ml na câmara de RBC. (OBS: sempre após a realização da limpeza concentrada deve ser feito novamente um start up, antes de prosseguir com a passagem de controle de qualidade ou amostras)
- Demais opções: Serviços Mecânicos e Serviços Técnicos – apenas para acesso dos técnicos da empresa do equipamento. (OBS: NÃO MEXER)

Set up – Configuração do equipamento. Já configurada. (OBS: NÃO MEXER)

#### **Coagulômetro – Start4 Stago**

- Antes de conectar o aparelho a rede elétrica, verificar se a rede na qual será conectado corresponde a voltagem e potência do equipamento.
- Ligar equipamento na chave geral que se encontra na parte posterior do equipamento.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 21 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Ir no Menu na opção 4. System Check e realizar a checagem do sistema, seguindo os passos mostrados no visor do equipamento clicando nas teclas.
- No Menu:
  1. Test Mode: Para escolher qual teste realizar (TAP, TTPA, Fibrinogenio, Fatores, etc) e passar os controles.
  1. Calibration: Realizado apenas quando muda o lote dos Reagentes (Neoplastine e CK. Prest).
  2. Test Parameters: Não mexer. Configuração do equipamento.
  3. System Check: realizado pelo menos 1 vez ao dia, no momento que ele é ligado
  4. Diagnostic Test: Caso não for utilizar a pipeta do próprio equipamento, deverá nessa opção clicar enter, depois em 1. Setup e mudar a opção Pipet Connect para Non-Connect Pipet
- Prosseguir a rotina de passar controles, calibração e amostras (Conforme instruções descritas no tópico 4. Procedimentos)
- Desligar equipamento em chave geral e da tomada

### **Termobloco Banho Seco Digital**

- Liga e Desliga (ON/OFF) no botão giratório. Atrás da unidade. Liga e desliga a energia.
- LED “Start”, verde, iluminado quando a unidade está no modo de ajuste de temperatura e “off” quando está no modo aquecimento.
- Aquecimento LED vermelho. Ilumina quando a unidade está no modo de ajuste de temperatura e a unidade está aplicando aquecimento aos blocos. Este LED fica continuamente ligado durante o aquecimento e os ciclos e desligado quando a unidade esta para ser ajustada a temperatura.
- Seta “UP”, aumenta a temperatura quando a unidade está o modo de ajuste.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 22 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Seta “DOWN” – Diminui o ajuste de temperatura quando a unidade está no modo de ajuste.
- Seta Start/Stop – altera a unidade entre o ajuste e o modo de aquecimento

### **OPERAÇÃO:**

- Ligue a unidade no botão on/off na parte trazeira do equipamento. A unidade vai ficar no modo de ajuste. Use a seta UP e DOWN para ajustar a temperatura desejada. Pressione “START” e a unidade irá começar a aquecer até o ponto indicado.
- A unidade lembra sempre da última temperatura com a qual operou. Entretanto, o botão START deve ser pressionado fazendo com que a unidade ligue o aquecimento para ajustar a temperatura.
- Quando a primeira aquecida é dada no bloco, a unidade irá aplicar o aquecimento completo do bloco rapidamente aumentando a temperatura.
- Neste aquecimento inicial o display vai mostrar a temperatura acima e depois ele vai voltar a temperatura ajustada. A temperatura do bloco atual ( e a amostra) entretanto não vai sobrecarregar mais vai subir até o ponto de ajuste devido a massa do bloco.
- Para mudar a temperatura de ajuste, pressione STOP para fazer a unidade retroceder até o modo de ajuste, então mude os pontos de acordo com as setas UP e DOWN. Pressione a tecla start para controlar o aquecimento novamente. De controle permite um aquecimento

### **CALIBRAÇÃO:**

A calibração permite que a display de temperatura da unidade seja ajustado ou coincida com a temperatura de uma amostra simples ou use um termômetro independente para medir a temperatura do bloco.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 23 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

O banho seco digital vem calibrado em 37C usando-se um bloco pequeno padrão. Se você está usando um bloco que tem uma alta perda de calor como um bloco com grandes furos ou uma plataforma estilo bloco, você deve recalibrar sua unidade para suas aplicações específicas.

Se você estiver usando frascos de modelos diferenciados, a função de calibração pode ajudá-lo a encontrar a temperatura atual para sua amostra.

Para calibrar a unidade para um bloco ou amostra específico, primeiro gire o botão ON/OFF . Então coloque o termômetro para medir a precisão dentro do bloco ou um termopar ou outro tipo de sensor de amostra. Esteja certo de haver um bom contato entre o termômetro e o bloco ou um bom contato entre qualquer sensor e a amostra ou entre o sensor e o bloco.

Para calibrar o bloco ou amostra no display, siga os seguintes procedimentos:

- Pressione e segure o botão START-STOP então simultaneamente ligue a unidade no botão On/ OFF.
- Você vai ouvir um “DU-DU-DU” vindo do banho seco e o display vai mostrar um segmento de flashings (piscadas) no lado esquerdo e você poderá ver a temperatura de ajuste.
- Use as setas UP e DOWN para ajustar a temperatura desejada a qual você quer calibrar a unidade. Pressione o botão START.
- Dê um tempo a unidade para ela se aquecer (até 40 ou 50 minutos) para então ajustar a temperatura e para que esta se equilibre. O display digital inteiro vai piscar quando o ponto de equilíbrio for atingido.
- Depois de o display ter começado a piscar, leia o termômetro (ou o sensor que foi usado para temperatura) e use os botões UP e DOWN para ajustar no display a leitura do termômetro ou do sensor. Então pressione o botão START-STOP.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 24 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- A unidade irá começar a ajustar a temperatura operacional para o seu ponto de ajuste incluindo o fator de recalibração. Deixe um tempo suficiente para que a unidade se recalibre e então novamente compare a temperatura do termômetro ou a leitura do sensor com o calibrado no display . Estas temperaturas devem estar próximas. Se não estiverem, repita o processo de calibração.

OBS: Termômetros usados para calibração devem ter certificado NIST em seu corpo. Termômetros genéricos de laboratório geralmente não são precisos o suficiente para trabalho de calibração.

## 5.5 Técnicas realizadas no laboratório

Protocolos das práticas realizadas no laboratório.

- Protocolos de Hematologia Clínica
  - Coleta sanguínea

### Higienização das mãos

As mãos devem ser higienizadas após o contato com cada paciente, evitando, assim, a contaminação cruzada. A higienização pode ser feita com água e sabão, ou usando álcool gel.

A fricção com álcool reduz em 1/3 o tempo despendido pelos profissionais de saúde para a higiene das mãos, aumentando a aderência a esta ação básica de controle.

### Recepção do Paciente e Identificação

- O paciente deve ser recebido de forma cortês e segura. Profissionalismo é importante para que a paciente tenha uma boa primeira impressão e sintase mais seguro. Sorria, seja amigável, mas seja profissional. Não comente sobre a sujeira do braço do paciente ao realizar antissepsia para coleta.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 25 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Realizar a Identificação do paciente nos tubos de coleta conforme o tipo de exame a ser realizado
- Na identificação deve conter: nome, idade, data da coleta e horário da coleta.
- Informações adicionais como tempo de jejum, prática de atividades físicas e uso de medicamentos podem ser de extrema necessidade dependendo do tipo de exame.

### **Preparo dos Materiais de coleta**

- Separar os tubos necessários de acordo com o pedido dos exames, atentando-se para quais tipos de tubos e a quantidade adequada.
- Selecionar uma seringa e a agulha ou material de coleta a vácuo. Deve-se mostrar na frente do paciente que a mesma se encontra lacrada e abri-la na frente do paciente.
- Rosquear a agulha na seringa e sem desencapa-la testar o embolo, para evitar a detecção de possíveis defeitos do material após a punção venosa.
- No caso da coleta a vácuo rosquear a agulha ao adaptador, certificando de que esteja bem encaixado.

### **Posicionamento do braço**

- O braço do paciente deve ser posicionado em uma linha reta do ombro ao punho, de maneira que as veias fiquem mais acessíveis e o paciente o mais confortável possível. O cotovelo não deve estar dobrado e a palma da mão voltada para cima.

### **Garroteamento**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 26 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- O garrote é utilizado durante a coleta de sangue para facilitar a localização das veias, tornando-as proeminentes.
- O garrote deve ser colocado no braço do paciente próximo ao local da punção (4 a 5 dedos ou 10 cm acima do local de punção), sendo que o fluxo arterial não poderá ser interrompido. Para tal, basta verificar a pulsação do paciente. Mesmo garroteado, o pulso deverá continuar palpável.
- O garrote não deve ser deixado no braço do paciente por mais de um minuto. Deve-se retirar ou afrouxar o garrote logo após a venopunção, pois o garroteamento prolongado pode acarretar alterações nas análises (por exemplo: cálcio).

### **Seleção da região de punção**

- A regra básica para uma punção bem sucedida é examinar cuidadosamente o braço do paciente. As características individuais de cada um poderão ser reconhecidas através de exame visual e/ou apalpação das veias.
- Deve-se sempre que for realizar uma venipunção, escolher as veias do braço para a mão, pois neste sentido encontram-se as veias de maior calibre e em locais menos sensíveis a dor.

### **Antissepsia e Higienização em Coleta de Sangue Venoso**

- Selecionado o local da coleta, deve-se com um algodão embebido de álcool 70% limpar a região a ser coletado com um único movimento circular de dentro para fora.
- Não deve ficar esfregando repetidas vezes o local para não espalhar qualquer tipo de sujeira ou resíduos passíveis de contaminação.
- Permitir a secagem da área por 30 segundos para prevenir hemólise da amostra e reduzir a sensação de ardência na venopunção.
- Não assoprar, não abanar e não colocar nada no local.
- Não tocar novamente na região após a antissepsia.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 27 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Se a venopunção for difícil de ser obtida e a veia precisar ser palpada novamente para efetuar a coleta, o local escolhido deve ser limpo novamente.

### **Procedimento de Coleta com Seringa**

- Solicitar que o paciente faça movimentos de abrir e fechar a mão para dilatar a veia e facilitar na visualização da mesma.
- Inserir a agulha na veia com o bisel voltado para cima, com uma angulação de cerca de 30 a 45°.
- Puxar o embolo cuidadosamente, firmando bem uma das mãos de modo a evitar que no momento de puxar o êmbolo com a outra mão a agulha entre ou saia do local da punção.
- Não aspirar muito rapidamente, para evitar a colabação do vaso.
- Aspirar o volume desejado
- Retirar o garrote do braço do paciente
- Retirar com cuidado a seringa
- Transfira o sangue para o tubo decoleta, escorra delicadamente o sangue pela parede do tubo. Este procedimento evita a hemólise da amostra.
- Descarte a seringa e a agulha no descarpac
- Colocar um algodão sobre o local puncionado e solicitar que o paciente segure o algodão na região ainda com o braço esticado sem dobra-lo aplicando uma leve pressão por cerca de 2 a 5 minutos para ajudar no estancamento do sangramento, e evitar possíveis hematomas.
- Verificando que não está sangrando o local, colocar um adesivo curativo.
- Estando bem o paciente sem ocorrer nenhuma intecorencia, poderá ser liberado.

### **Procedimento de Coleta a vácuo**

- Solicitar que o paciente faça movimentos de abrir e fechar a mão para dilatar a veia e facilitar na visualização da mesma.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 28 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- O sistema agulha-adaptador deve ser apoiado na palma da mão e seguro firmemente entre o indicador e o polegar.
- No ato da punção, com o indicador ou polegar de uma das mãos esticar a pele do paciente firmando a veia escolhida e com o sistema agulha-adaptador na outra mão, puncionar a veia com precisão e rapidez (movimento único)
- O sistema agulha-adaptador deve estar em um ângulo de coleta de 15° em relação ao braço do paciente
- Segurando firmemente o sistema agulha adaptador com uma das mãos, com a outra pegar o tubo de coleta a ser utilizado e conectá-lo ao adaptador. **NOTA:** Sempre que possível, a mão que estiver puncionando deverá controlar o sistema, pois durante a coleta, a mudança de mão poderá provocar alteração indevida na posição da agulha.
- Com o tubo de coleta dentro do adaptador, pressione-o com o polegar, até que a tampa tenha sido penetrada. **NOTA:** Sempre manter o tubo pressionado pelo polegar assegurando um ótimo preenchimento.
- Tão logo o sangue flua para dentro do tubo coletor, o garrote deve ser retirado. Porém, a veia for muito fina o garrote poderá ser mantido.
- Quando o tubo estiver cheio e o fluxo sanguíneo cessar, remova-o do adaptador trocando-o pelo seguinte.
- À medida que forem preenchidos os tubos, homogeneizá-los gentilmente por inversão (4 a 6 vezes)
- Retirar o garrote do braço do paciente
- Retirar com cuidado o suporte com a agulha do braço do paciente
- Colocar um algodão sobre o local puncionado e solicitar que o paciente segure o algodão na região ainda com o braço esticado sem dobra-lo aplicando uma leve pressão por cerca de 2 a 5 minutos para ajudar no estancamento do sangramento, e evitar possíveis hematomas.
- Verificando que não está sangrando o local, colocar um adesivo curativo.
- Estando bem o paciente sem ocorrer nenhuma intecorencia, poderá ser liberado.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 29 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Cuidados Pós-Coleta**

- Pacientes idosos ou em uso de anticoagulantes, devem manter pressão sobre o local de punção por cerca de 3 minutos ou até parar o sangramento.
- Orientar para não carregar peso imediatamente após a coleta.
- Orientar para não massagear o local da punção enquanto pressiona o local.
- A compressão do local de punção é de responsabilidade do coletor. Se não puder executá-lo, deverá estar atento à maneira do paciente fazê-lo.

### **Referências:**

Guia prático para coleta de sangue. Vacuette . P. 1-14

- **Contagem de Leucócitos em Câmara de Neubauer**

Realizada em hemocitômetro de Neubauer. Ainda utilizada em laboratórios de pequenas rotinas que não tenham automação. Sua precisão é aceitável, mas incomparável com a automatizada. É incompatível com grandes rotinas. Ainda útil nas contagens globais para confirmação das contagens automatizadas extremamente leucopênicas.

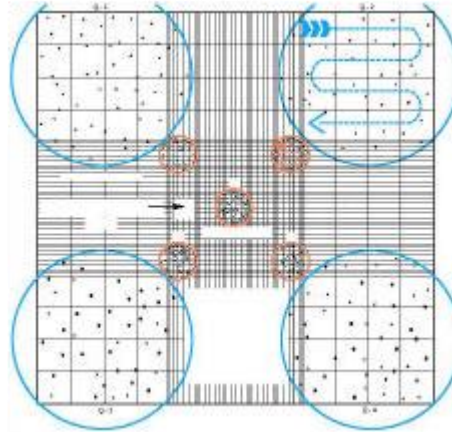
Área de cada quadrado maior: 1 mm<sup>2</sup>

Profundidade: 1/10 mm

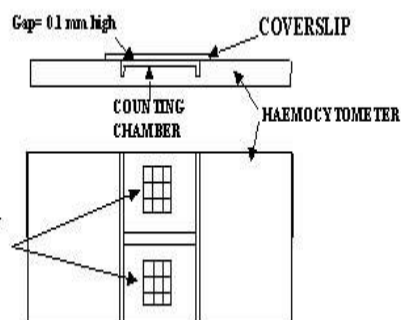
Diluição : 1:20

Número total de leucócitos = Número de células contadas x 10 (altura) x 20 (diluição) / 4 (número de quadrantes)

Nº total de leucócitos x 50 = nº de total de leucócitos /mm<sup>3</sup> (ou microlitro - µl) de sangue



*Figure 1a. Side view  
of Haemocytometer*



*Figure 1b. Top view  
of Haemocytometer*

Realize a contagem de Leucócitos Totais  
Unidades:  $1 \mu\text{l} = 1 \text{mm}^3 = 10^{-3} \text{mL} = 10^6 \text{L}$

Materiais necessários:

- Amostra de sangue total
- Líquido de Turk
- Tubos de Ensaio 12x75 mm
- Micropipetas de volumes variados
- Ponteiras
- Câmara de Neubauer
- Lamínula
- Microscópio

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 31 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Procedimento:**

1. Em um tubo de ensaio fazer uma diluição de 1:20 da amostra no Líquido de Turk. Pipetar 0,4 mL (400 µL) do líquido diluidor no tubo de hemólise e aspirar 0,02 mL ( 20 µL) de sangue total, limpar a parte externa da ponteira e transferir os 20 µL para o tubo com o diluidor. Homogeneizar a solução limpando bem o interior da ponteira por sucessivas aspirações e expulsão, agitar suavemente e aguardar 2 minutos.
2. Colocar uma lâmina sobre um dos lados da câmara de Neubauer e preenche-lo com aproximadamente 20 µL da solução preparada.
3. Realizar a contagem de células em microscópio óptico comum, em aumento de 100X (ocular de 10X e objetiva de 10X), com consensador baixo.
4. A contagem é feita nos 4 quadrantes grandes laterais (L1, L2, L3, L4). Cada quadrado lateral possui em seu interior 16 quadrados menores, deve-se contar todas as células no interior desses quadrados.
5. Atenção: Deve ser contadas as células que caíam sobre as linhas dos quadrados, mas apenas as linhas inferiores e da lateral direita dos quadrados (regra do L), para evitar a contagem repetidas de células.
6. No final proceder o cálculo dos leucócitos totais.

○ **Hemograma Automação**

**1. Aplicação clínica:**

Exame laboratorial de rotina para avaliação quantitativa e qualitativa dos elementos figurados do sangue. Sofre alterações significativas tanto nas doenças hematológicas quanto em doenças das mais variadas patologias, tendo, por isso, grande valor preditivo e diagnóstico.

É composto pelos seguintes parâmetros: Contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, determinação do hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração hemoglobínica corpuscular média

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 32 de 217
MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO		

(CHCM) e amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW) que compõem o eritrograma; contagem de leucócitos e fórmula leucocitária que compõem o leucograma.

## 2. Princípio do teste:

O hemograma é realizado em equipamento de automação total (ABX Micros 60) com reavaliação microscópica.

O funcionamento e medidas realizadas baseiam-se na citometria de fluxo usando semicondutor laser, foco hidrodinâmico, impedância elétrica, SLS-método de detecção da hemoglobina (absorção espectrofotométrica), rádio frequência, difusão direta e fluorescência direta.

## 3. Amostra:

### 3.1 Preparo do paciente:

Sempre observar as orientações do Biomédico ou do Médico.

Apenas evitar colheitas de material após exercício físico (causa leucocitose) e nas duas horas que sucedem refeições fartas e ricas em gordura. As diferenças nas contagens do repouso à deambulação (aumento de 2 a 5% na hematimetria) e da manhã para a tarde (aumento na contagem de leucócitos), não apresentam significação clínica.

### Tipo de amostra:

Sangue total anticoagulado com EDTA K3 ou K2 (pó ou solução) na concentração final de 1,5 a 2,2 mg/ml.

### 3.2 Coleta:

Observar as precauções universais para punção venosa. A colheita pode ser realizada a qualquer hora, observando as recomendações do médico assistente. Utilizar uma das veias da fossa antecubital (basílica, cubital média, cefálica ou cefálica acessória). Usar seringa



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 33 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

ou tubo a vácuo. Tubos a vácuo contendo EDTA K3 (frascos de tampa roxa) com volume de aspiração preconizado (pediatria: 2,0ml; adultos: 3,0 a 4,5ml).

### **3.3 Preservação e transporte:**

Transportar o material colhido à temperatura ambiente e dentro das normas de segurança legais. A amostra deve ser encaminhada ao laboratório o mais rápido possível, sendo ideal a realização do exame dentro de 6h após a colheita.

#### **Identificação da amostra:**

Identificação a caneta marcadora na própria etiqueta do tubo.

### **3.4 Estabilidade e armazenamento:**

A estabilidade da amostra colhida com EDTA K3 ou K2 é de 8h à temperatura ambiente e de 24h se refrigerada (2 a 8°C). Amostras podem ser utilizadas, para confirmação de resultados, até 48h após a colheita desde que mantidas sob-refrigeração (2 a 8°C). As amostras são armazenadas em geladeira por 48h após a realização do hemograma para confirmação de resultados, se assim solicitado.

### **3.5 Amostras Inadequadas:**

Colhidas em frascos errados, mal identificados, congelados, coagulados e em volume inadequado ao tubo usado.

## **4. Reagentes e materiais:**

#### **Corantes:**

Corante Panótico rápido.

#### **Reagentes para automação:**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 34 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

ABX Miniclean → detergente enzimático que executa a limpeza completa de acúmulos de proteínas na câmara e nas aberturas de contagem.

ABX Minilyse LMG → reagente de lise dos eritrócitos para contagem e diferenciação de glóbulos brancos e determinação de hemoglobina.

ABX Minocclair → solução de limpeza e branqueamento dos contadores de glóbulos sanguíneos, exclusivo para limpeza concentrada.

ABX Minidil → solução isotônica tamponada para determinação de elementos figurados do sangue e medida do hematócrito.

#### **Materiais:**

Lâminas: lâminas de vidro para microscopia, tamanho aproximado de 25 x 76 mm.

Lâminas de vidro lapidadas nas quatro faces, tamanho aproximado de 25 x 76 mm com uma das extremidades reduzidas (distensora).

#### **Reagentes para calibração e controle de qualidade:**

Sangue controle: Minotrol, com três níveis de sangue de controle (baixo, normal e alto).

#### **4.1 Estabilidade:**

A estabilidade dos reagentes de automação é de um ano após a instalação no equipamento.

O corante panótico rápido em uso possui estabilidade de 7 dias e de 3 anos quando no frasco original. O corante May-Grünwald-Giemsa em uso possui estabilidade de 24 horas e de 6 meses quando no frasco original.

#### **4.2 Armazenamento:**

Temperatura ambiente e abrigo da luz solar, exceto sangue controle (em geladeira: 2 a 8°C).

#### **5. Equipamento:**

Equipamento de automação ABX Micros 60.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 35 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Calibração:**

A calibração deste equipamento é realizada automaticamente pelo equipamento, com a inserção direta manual de coeficientes de calibração.

### **6. Procedimento (passo a passo):**

- **Preparação das amostras:**

Amostras de paciente: as amostras serão entregues no Lab M220 provenientes da coleta de pacientes em respectivas salas de coleta, ou no próprio laboratório. Avaliá-las quanto à identificação, posição do rótulo, volume, coágulos e microcoágulos. Amostras de pouco volume devem ser tratadas individualmente e seus resultados avaliados. Amostras coaguladas serão rejeitadas incondicionalmente, devendo providenciar sua nova colheita conforme rotina preconizada.

- **Corrida das amostras:**

Amostras com a solicitação de **urgência**, quando personalizadas, devem ter tratamento prioritário: passar a amostra no equipamento de automação e o resultado diretamente a um Analista para triagem.

Fazer distensões sangüíneas das amostras previamente marcadas na triagem realizada pelo Analista responsável. Corar as distensões sanguíneas. Passar as distensões coradas, limpas e secas a mesa de lâminas.

- **Avaliação microscópica da amostra:**

Examinar as lâminas das amostras selecionadas após coloração. Utilizar-se dos microscópios do setor (Eclipse E200). Usar objetiva de 40X a seco, a objetiva de 100X de imersão deve ser reservada para avaliação de inclusões, granulações citoplasmáticas etc. Avaliar a **série vermelha** focando campos da cauda da distensão onde os eritrócitos não se sobrepõem. Observar a forma, dimensão, coloração e empilhamento dos eritrócitos. Verificar se os dados numéricos do resultado fornecido pelos equipamentos de automação são comparáveis aos vistos ao microscópio. Avaliar as **plaquetas** quanto

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 36 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

ao número e morfologia independentemente de terem sido solicitadas ou não. Fazer a **fórmula leucocitária** percorrendo a lâmina ao longo da distensão junto a borda lateral da cauda, método em ameia (iniciar a contagem na borda lateral penetrando no corpo da lâmina em movimento ziguezague) ou método em ameia modificado (contar dois campos perto e paralelos à borda da distensão, depois quatro campos em ângulo reto e dois campos paralelos à borda, e assim por diante). Contar 100 leucócitos classificando-os. Atentar para características morfológicas, tintoriais e atípicas. Observar a existência de **eritroblastos**, contá-los separadamente dos leucócitos relacionando-os com 100 leucócitos, corrigindo a contagem global de leucócitos se for o caso. Após a avaliação microscópica fazer as alterações, se necessárias, e acrescentar as informações importantes diretamente na papeleta de resultados impressa pelo equipamento de automação, utilizando-se dos históricos para hemograma.

### **Controle de qualidade:**

#### **6.1 Interno:**

Minotrol 16 em três níveis (baixo, normal e alto). Os dados de controle de qualidade resultam na liberação dos equipamentos de automação e são revistos pelo responsável do setor e/ou laboratório.

#### **6.2 Externo:**

Controle CNPQ.

### **Resultados:**

As informações contidas nos laudos de resultado resultam das medidas efetuadas no equipamento com alterações e informações acrescentadas após **avaliação microscópica da amostra**. Estão expressos em formato aceito e consagrado internacionalmente, sendo liberados após conferência individualizada por profissional de nível superior habilitado.

#### **6.3 Unidades:**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 37 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Os resultados são expressos em Unidades Internacionais padronizadas pelo Comitê Internacional de Estandarização em Hematologia. Vide Valores de referência.

#### 6.4 Cálculos:

Valor real da contagem global de leucócitos (WBC) em caso de presença de mais de 10 eritroblastos em 100 leucócitos:  $WBC = WBC(\text{total}) \times 100 / (100 + n.^{\circ} \text{ de eritroblastos em } 100 \text{ leucócitos})$ .

Diluição de amostras: multiplicar os parâmetros: leucócitos, hemácias, hemoglobina, hematócrito e plaquetas pela diluição realizada com a amostra, p.ex.: diluição 1:10 (uma parte de sangue + 9 partes de diluente Cellpack), multiplicar os parâmetros acima por 10. Os demais parâmetros do resultado não necessitam cálculos.

#### 6.5 Critérios de aceitação:

Resultados cujas amostras foram preparadas rigorosamente dentro das condições estabelecidas. Resultados dentro dos limites de normalidade, triagem e sem nenhum alarme dos equipamentos de automação podem ser liberadas diretamente em rede, via interfaceamento. Resultados fora dos limites normais, de triagem ou com alarmes dos equipamentos de automação devem ser liberados após processamento e confirmação de resultados. Resultados dentro de **valores críticos** (com risco de morte ao paciente) devem ser liberados após confirmação, revisão e contato com o médico solicitante se possível. Vide --Valores críticos.

#### 7. Valores de referência:

<b>ERITROGRAMA</b>	<b>Homem</b>	<b>Mulher</b>
<b>Hemácias em milhões/uL</b>	4,5 - 6,5	3,9 - 5,8

<b>Hemoglobina em g/dL</b>	13,5 - 18,0	11,5 - 16,4
<b>Hematócrito em %</b>	40,0 - 54,0	36,0 - 47,0
<b>Vol. Glob. Média em fL</b>	76,0 - 96,0	
<b>Hem. Glob. Média em pg</b>	27,0 - 32,0	
<b>C. H. Glob. Média em %</b>	32,0 - 36,0	
<b>RDW</b>	11,5 - 16,0	

<b>LEUCOGRAMA</b>	<b>Relativo</b>	<b>/mm<sup>3</sup></b>	<b>VR (%)</b>	<b>VR (mm<sup>3</sup>)</b>
<b>Leucócitos</b>		5.100		3.700 – 11.000
<b>Linfócitos</b>	32	1632	20 a 50	740 a 5.500
<b>Promielócitos</b>	0	0		
<b>Mielócitos</b>	0	0		
<b>Metamielócitos</b>	0	0		

<b>Bastonetes</b>	0	0		
<b>Segmentados</b>	58	2958	40 a 70	1.480 a 7.700
<b>Eosinófilos</b>	1	51	00 a 06	37 a 499
<b>Monócitos</b>	8	408	01 a 10	74 a 999
<b>Basófilos</b>	1	51	00 a 03	0 a 330
<b>Linfócitos atípicos</b>	0	0		
<b>Cél blásticas</b>	0	0		

**PLAQUETOGRAMA**

<b>Plaquetas</b>	213 mil/mm <sup>3</sup>	140 a 450
<b>Vmp</b>	12.1 fl	6.8 a 12.6
<b>Pct</b>	0.26 %	0.18 a 0.29

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 40 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

<b>Media pdw</b>	20.7 %	16.3 a 17.9
------------------	--------	-------------

## 8. Valores críticos:

São resultados que podem comprometer a vida do paciente. Devendo o médico assistente ser informado imediatamente. Pacientes com resultados já conhecidos não necessitam informação ao médico assistente. Priorizar:

Hematócrito: inferior a 15.

Hemoglobina: inferior a 5,0.

Leucócitos: inferior a 1000 e superior a 100000.

## 9. Linearidade:

A linearidade dos resultados é variável conforme o parâmetro em estudo:

Leucócitos (WBC) 0,0-250.000/ $\mu$ L.

Eritrócitos (RBC) 0,0-7.500.000/ $\mu$ L

Hemoglobina (HGB) 1,0-25,0g/dl.

Volume corpuscular médio (MCV) 37,0-197,0fL

Plaquetas (PLT) 0,0-2.000.000/ $\mu$ L.

O parâmetro MCV foi testado, pelo fabricante, com partículas de referência estandardizada, os demais, com sangue humano.

Amostras cujos parâmetros ultrapassarem os limites de linearidade devem ser repassadas após diluição 1:5 ou 1:10 em diluente.

## 10. Limitações do método:

### 10.1 Interferentes:

- Ligados à amostra:



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 41 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Excesso de anticoagulante (EDTA): Causa desidratação dos eritrócitos (alterações morfológicas) e alteração para menos do hematócrito (Erro pouco significativo nos contadores eletrônicos).

Amostra de pouco volume: Pode causar hemo-diluição se o anticoagulante usado for líquido. Pode provocar erro de diluição por aspiração incorreta do equipamento de automação. Anotar no mapa de trabalho correspondente.

Sangue anticoagulado com heparina: Não deve ser usado para o leucograma (variação significativa no número de linfócitos). Não deve ser usado para contagem de plaquetas. Pode ser usado para o eritrograma. Se usado imediatamente após a colheita as diferenças são pouco significativas. Anotar no mapa de trabalho correspondente.

Amostra com microcoágulos: Pode apresentar resultados errôneos por erro na diluição da amostra. Na impossibilidade de nova colheita de material avisar o Analista responsável e anotar no mapa de trabalho correspondente.

Amostra lipêmica: interferência com hemoglobina (aumento). Anotar no mapa de trabalho correspondente.

Amostra coagulada: Rejeição incondicional dos resultados. Providenciar nova colheita de material.

- Ligados ao equipamento de automação:

Erro na homogeneização da amostra por falha no sistema: Apresenta resultados menores ou maiores dependendo da sedimentação do material. Nem sempre o resultado apresenta alarme o que prejudica a avaliação. Avaliação da distensão sangüínea ao microscópio sempre que os resultados estiverem fora dos limites de normalidade.

Falha na aspiração da amostra: Resultados sempre com alarme. Repetir o exame.

Interferência por indução eletromagnética: Resultados sempre com alarme (\*). Repetir o exame.

Entupimento nas câmaras de diluição: Resultados das contagens tendem a zero. Proceder a desobstrução das câmaras conforme descrito no Manual. Repetir o exame.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 42 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Amostras hemolisadas: Os equipamentos de automação possuem mecanismos de compensação afim de minimizar erros. Anotar no mapa de trabalho correspondente.

### **11. Interpretação dos resultados:**

Exame de auxílio diagnóstico para doenças hematológicas e sistêmicas. Valores fora dos limites de referência podem indicar: anemias, neoplasias hematológicas, reações infecciosas e inflamatórias, acompanhamento de terapias medicamentosas, entre outras patologias.

### **12. Biossegurança:**

Usar equipamento de proteção individual (luvas, óculos etc.). Fazer a descontaminação de bancadas e equipamentos conforme as normas de segurança do laboratório. Descartar resíduos de acordo com as Boas Práticas de Laboratório e com as normas federais, estaduais e locais. Vide Manual de biossegurança.

### **Procedimento:**

#### Ligando o Equipamento

1. Verifique se o cabo de alimentação está conectado ao equipamento e ao estabilizador.
2. Apertar o botão Ligar que fica na parte de trás do equipamento.
3. Aparecerá a frase Please Wait for 3 mn, aperte a tecla Enter. Iniciará o Start up do equipamento.

#### Para Limpeza Concentrada

1. No **MAIN MANU** ir à opção 4. **Service** e aperte o **Enter**
2. Ir na opção **Drain Chambers** (Drenagem de câmaras) , aperte **Enter**.
3. Ir na opção **Limpeza Concentrada**, aperte **Enter**.
4. **Abra a porta** com a chave que fica na lateral do equipamento, aperte **Enter**.


 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 43 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

5. Com uma seringa, adicione **3 ml da solução Minoclair na câmara de WBC** (para diferencia-lá olhe dentro do buraco da câmara a que tiver uma Luz verde corresponde a WBC), aperte **Enter**.
6. Coloque **3 ml da mesma solução na câmara de RBC**, aperte **Enter**.
7. **Feche a porta** do equipamento, aperte Enter.
8. Iniciará o processo de Limpeza, aguarde 10 minutos. Ao finalizar aperte **ESC** para voltar ao Manu.
9. Aperte **Start up** para reinicializar.

#### Para Controle de Qualidade

1. No **MAIN MANU** ir à opção 2. **QC** e aperte o **Enter**.
2. Ir na opção 2. **Análise**, aperte **Enter**.
3. Digitar o código do Lote do controle da qualidade que vem na etiqueta:

EX: MX 094 L

Aperte as setinhas  até a letra M, aperte **Enter** depois novamente nas **setinhas** até a letra X, aperte as **teclas numéricas** 094 e em seguida novamente as **setinhas** para a letra L, aperte **Enter** e aguarde até a agulha descer.

4. Retirar a tampa do tubo do CQ e inserir o tubo na agulha (OBS: Não precisa apertar o tubo até em cima, insira até a metade da agulha que já será suficiente).
5. Aperte o **botão atrás da agulha** e aguarde que ela aspire a suba sozinha automaticamente, remova o tubo.
6. Aguarde o processamento, ao finalizar aperte **ESC** para retornar ao Manu e vá em **Results** para anotar os resultados.
7. Repita o mesmo procedimento novamente para todos os controles.

#### Para Amostras

1. Aperte a tecla **Id**.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 44 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

2. Identifique o paciente com a **numeração** que desejar.
  3. Aperte **Enter**, aguarde até a agulha descer.
  4. **Inserir o tubo** da amostra na agulha.
  5. Aperte o **botão atrás da agulha** e aguarde o processamento da amostra.
  6. O resultado aparecerá na tela.
- **Confecção de Esfregaço Sanguíneo , Coloração e Leitura da Lâmina:**

São três os procedimentos indispensáveis para uma boa caracterização morfológica das células sanguíneas:

1. Um esfregaço satisfatório, com três partes: cabeça, corpo e cauda.
2. Uma boa coloração.
3. Avaliação das células sanguíneas em local apropriado do esfregaço.

Os esfregaços devem ser corados logo após terem sido secos ao ar, em temperatura ambiente. Caso não haja tempo hábil para coloração imediata (ou até 3h após), os esfregaços deverão ser fixados em metanol absoluto.

### **Dicas Importantes:**

Para amostras anêmicas, aumentar o ângulo e a velocidade do movimento da lâmina extensora durante a distensão do sangue.

Para amostras policitêmicas, diminuir o ângulo e a velocidade do movimento.

Não esquecer de homogeneizar bastante a amostra antes de pipeta-la na hora da confecção do esfregaço.

Materiais necessários:

- Amostra de sangue total
- Lâminas com borda fosca
- Lâminas extensoras lapidadas
- Micropipetas p2-20

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 45 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Ponteiras
- Álcool ou Solução Fisiológica
- Gaze
- Corantes ( Panótico Rápido, May-Grunwald- Giemsa ou Leishman)
- Papel toalha
- Grade de suporte de lâminas
- Cronômetro
- Microscópio
- Contador Manual de Células

**Procedimento do Esfregaço:**

1. Colocar uma gota (2 a 3 mm de diâmetro) de sangue devidamente homogeneizado aproximadamente a 1 cm do final de uma lâmina para microscopia limpa, seca e isenta de pó e gordura e apoiada em uma superfície plana ( bancada de trabalho).
2. Com o polegar e o indicador segurar o final (extremidade) da lâmina distensora com ângulo de 30 a 45 graus em frente a gota de sangue na lâmina descrita acima.
3. Puxar a lâmina distensora para traz até entrar em contato com a gota de sangue. Deixar o sangue espalhar-se e completar o angulo formado entre as duas lâminas.
4. Empurrar a lâmina distensora para frente a uma velocidade moderada e constante, até que a gota de sangue tenha sido espalhada em um filme moderadamente delgado. Observar para que o ângulo entre as lâminas seja mantido igual em todo o processo.
5. Secar a distensão a temperatura ambiente.
6. Identificar as lâminas com número seqüencial do setor e com as iniciais do nome do paciente, usando lápis dermográfico.
7. Limpar a lâmina distensora utilizando uma gaze embebida em solução fisiológica ou álcool.
8. Repetir o processo para todos os hemogramas solicitados.

**Interpretação:**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 46 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- A boa distensão deve ter uma porção espessa e uma porção delgada (cauda), com uma área de transição gradual de uma parte à outra. Deve possuir aparência regular, uniforme e ser livre de estrias, ondas ou buracos.
- As bordas devem ser livres. A espessura da distensão pode ser ajustada alterando-se o ângulo da lâmina distensora, a velocidade utilizada no espalhamento da gota de sangue ou o tamanho da gota.
- Para uma distensão mais espessa: ângulo, velocidade e gota maiores. Para uma distensão mais delgada: ângulo, velocidade e gota menores. Nas distensões de espessura ótima ocorre uma distribuição uniforme e separação das células sangüíneas em direção a cauda.
- Quanto mais rápido o filme de sangue for secado ao ar, melhor é a distribuição individual das células na lâmina. A secagem lenta resulta em concentração de artefatos.

○ **Procedimento de Coloração : Panótico Rápido**

- **Reagentes:** Kit comercial contendo 3 frascos com 500ml cada (corantes: 1, 2 e 3), prontos para uso. Vide bula do kit.

1. Mergulhar e retirar a lâmina na solução 1 do corante panótico e aguardar 5 segundos. Remover a lâmina e deixar escorrer por alguns segundos para escorrer o excesso de corante.

Repetir o mesmo procedimento na solução 2.

Mergulhar e retirar a lâmina na solução 3 do corante panótico e aguardar 10 segundos. Remover a lâmina.

Lavar em água corrente deixando escorrer pequeno filete de água pelo lado oposto ao esfregaço da lâmina.

Deixar secar

Procedimento de Leitura da Lâmina:

Examinar as lâminas das amostras selecionadas após coloração. Utilizar-se dos microscópios do setor (Eclipse E200). Usar objetiva de 40X a seco, a objetiva de 100X de imersão deve ser reservada para avaliação de inclusões, granulações citoplasmáticas

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 47 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

etc. Avaliar a **série vermelha** focando campos da cauda da distensão onde os eritrócitos não se sobrepõem.

Observar a forma, dimensão, coloração e empilhamento dos eritrócitos. Verificar se os dados numéricos do resultado fornecido pelos equipamentos de automação são comparáveis aos vistos ao microscópio. Avaliar as **plaquetas** quanto ao número e morfologia independentemente de terem sido solicitadas ou não.

Fazer a **fórmula leucocitária** percorrendo a lâmina ao longo da distensão junto a borda lateral da cauda, método em ameia (iniciar a contagem na borda lateral penetrando no corpo da lâmina em movimento ziguezague) ou método em ameia modificado (contar dois campos perto e paralelos à borda da distensão, depois quatro campos em ângulo reto e dois campos paralelos à borda, e assim por diante). Contar 100 leucócitos classificando-os. Atentar para características morfológicas, tintoriais e atípicas.

Observar a existência de **eritroblastos**, contá-los separadamente dos leucócitos relacionando-os com 100 leucócitos, corrigindo a contagem global de leucócitos se for o caso. Após a avaliação microscópica fazer as alterações, se necessárias, e acrescentar as informações importantes diretamente na papeleta de resultados impressa pelo equipamento de automação, utilizando-se dos históricos para hemograma.

- **Coagulograma (Automação)**

- 1. Aplicação clínica:**

O coagulograma completo engloba uma série de provas que avaliam o sistema de coagulação do sangue, como o tempo de sangramento (TS), tempo de ativação da protrombina (TAP), tempo de ativação parcial da tromboplastina (TTPA ou KPTT), tempo de coagulação (TC) e a contagem das plaquetas. Estas últimas, são elementos do sangue que atuam na formação dos trombos plaquetários.

Em cardiologia, a avaliação cardiológica pré-operatória é uma das principais indicações para a solicitação de um coagulograma completo. No entanto, o mais comum, é que sejam solicitadas algumas provas específicas do coagulograma, como o TAP com RNI (relação normalizada internacional), para monitorar as doses dos anticoagulantes orais (coumadin, marcoumar e marevan) ou o TTPA (também chamado de KPTT) para

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 48 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

monitorar a ação da heparina não-fractionada (liquemine), usada em pacientes internados. Esta última medicação, além de aumentar o TTPA , pode diminuir o número da plaquetas no sangue ( plaquetopenia).

## **2. Princípio do teste:**

O coagulograma é realizado em equipamento de automação parcial (Start 4).

O princípio consiste em medir as variações de amplitude de oscilação da esfera na cuvete através de sensores electromagnéticos.

A esfera possui um movimento pendular obtido:

- através de duas calhas arqueadas no fundo da cuvete (modelo patenteado)
- e de um campo electromagnético alternado criado por duas bobinas independentes de motorização.

A amplitude de oscilação da esfera mantém-se constante quando o ambiente possui uma viscosidade constante.

A intensidade do campo magnético de motorização varia de acordo com o tipo de testes (TP, TCA,...) e o tipo de coágulo previsto.

O sistema de detecção da variação da amplitude do movimento da esfera é constituído por duas bobinas de medição.

A bobina de medição emissora emite um campo electromagnético. O sinal recebido pela bobina de medição receptora depende da posição da esfera na cuvete.

Um algoritmo de cálculo utiliza estas variações do campo magnético para deduzir a amplitude de oscilação e determinar os tempos de coagulação.

## **3. Amostra:**

### **a. Preparo do paciente:**

Sempre observar as orientações do Biomédico ou do Médico.

### **Tipo de amostra:**

Sangue total anticoagulado com Citrato.

### **b. Coleta:**



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 49 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Observar as precauções universais para punção venosa. A colheita pode ser realizada a qualquer hora, observando as recomendações do médico assistente. Utilizar uma das veias da fossa antecubital (basílica, cubital média, cefálica ou cefálica acessória). Usar seringa ou tubo a vácuo. Tubos a vácuo contendo Citrato (frascos de tampa azul) com volume de aspiração preconizado (pediatria: 2,0ml; adultos: 3,0 a 4,5ml).

**c. Preservação e transporte:**

Transportar o material colhido à temperatura ambiente e dentro das normas de segurança legais. A amostra deve ser encaminhada ao laboratório o mais rápido possível, sendo ideal a realização do exame dentro de 6h após a colheita.

**Identificação da amostra:**

Identificação a caneta marcadora na própria etiqueta do tubo.

**d. Estabilidade e armazenamento:**

A estabilidade da amostra colhida com Citrato de Sódio é de 8h à temperatura ambiente e de 24h se refrigerada (2 a 8°C). Amostras podem ser utilizadas, para confirmação de resultados, até 48h após a colheita desde que mantidas sob refrigeração (2 a 8°C). As amostras são armazenadas em geladeira por 48h após a realização do hemograma para confirmação de resultados, se assim solicitado.

**e. Amostras Inadequadas:**

Colhidas em frascos errados, mal identificadas, congeladas, coaguladas e em volume inadequado ao tubo usado.

**4. Reagentes**

**Reagentes para automação:**

Oweren Koller → tampão diluente

Unicalibrador → para calibração do TP

Neoplastine CI Plus – reagente TP

CK Prest – reagente TTPA

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 50 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

CaCl<sub>2</sub> – cloreto de cálcio

Coag Control N + P

**Reagentes para calibração e controle de qualidade:**

Coag Control N + P.

**a. Estabilidade:**

A estabilidade dos reagentes de automação é de um ano após a instalação no equipamento.

**b. Armazenamento:**

Em geladeira: 2 a 8°C.

**5. Equipamento:**

Equipamento de automação Start 4.

**Calibração:**

**TP:**

Realizar dosagens para fazer a curva de calibração.

Em 4 tubos de ensaio:

Obs: o primeiro pode fazer direto na cubeta se desejar.

1ª 50µl do unicalibrador (resultado corresponde a 100%)

2ª 50µl do unicalibrador + 50µl Oweren Koller (resultado corresponde a 50%)

3ª 50µl do unicalibrador + 100µl Oweren Koller (resultado corresponde a 33%)

4ª 50µl do unicalibrador + 150µl Oweren Koller (resultado corresponde a 25%)

Após pipetar 50 µl de cada tubo e passar para as cubetas

Apertar o relógio da incubação e aguardar o sinal sonoro.

Passar as cubetas para a zona de leitura, colocar o reagente neoplastine paralelamente com o botão pip.

Aguardar leitura.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 51 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Ir no meu calibração tp, inserir o numero do lote. Em seguida colocar os resultados correspondentes nas porcentagens.

Se cálculo for próximo de 1 – ok.

**TTPA:**

Inserir o numero do lote nos dois campos.

Inserir o valor da população do próprio laboratório ou então o valor da bula.

**6. Procedimento (passo a passo):**

- **Preparação das amostras:**

Amostras de paciente: as amostras serão entregues no Lab M220 provenientes da coleta de pacientes em respectivas salas de coleta, ou do próprio laboratório. Avaliá-las quanto à identificação, posição do rótulo, volume, coágulos e microcoágulos. Amostras de pouco volume devem ser tratadas individualmente e seus resultados avaliados. Amostras coaguladas serão rejeitadas incondicionalmente, devendo providenciar sua nova colheita conforme rotina preconizada.

- **Corrida das amostras:**

Amostras com a solicitação de **urgência**, quando personalizadas, devem ter tratamento prioritário: passar a amostra no equipamento e o resultado diretamente a um Analista para triagem.

**Controle de qualidade:**

**a. Interno:**

Coag N + P. Os dados de controle de qualidade resultam na liberação dos equipamentos de automação e são revistos pelo responsável do setor e/ou laboratório.

**Resultados:**

As informações contidas nos laudos de resultado resultam das medidas efetuadas no equipamento com alterações e informações acrescidas após avaliação. Estão expressos em formato aceito e consagrado internacionalmente, sendo liberados após conferência individualizada por profissional de nível superior habilitado.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 52 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**b. Unidades:**

Os resultados são expressos em Índice Internacional Normalizado. Vide Valores de referência

**c. Critérios de aceitação:**

Resultados cujas amostras foram preparadas rigorosamente dentro das condições estabelecidas. Resultados dentro dos limites de normalidade, triagem e sem nenhum alarme dos equipamentos de automação podem ser liberadas diretamente em rede, via interfaceamento. Resultados fora dos limites normais, de triagem ou com alarmes dos equipamentos de automação devem ser liberados após processamento e confirmação de resultados. Resultados dentro de **valores críticos** (com risco de morte ao paciente) devem ser liberados após confirmação, revisão e contato com o médico solicitante se possível. Vide --Valores críticos.

**7. Valores de referência**

TTPA	<1,20 (RATIO)	25 – 33 SEC → NORM	41 – 54 SEC → PAT
TP	70 – 100% INR	77 – 104 SEC → NORM	33 – 47 SEC → PAT

**Procedimento:**

1. No menu principal digitar o número correspondente a opção Test Mode
2. Apertar a tecla Enter
3. Escolher o Exame a ser realizado ( EX: 1- TAP, 2 - TTPa, 3 - Fibrinogênio etc...) digitando o número correspondente ao exame.
4. Aperte a tecla Enter
5. Registrar quantidade de cubetas e serem lidas e apertar a tecla Enter ao final de cada registro de cubeta.
6. Apertar novamente a tecla Enter.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 53 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## **REALIZAR O EXAME DE TAP**

Colocar a quantidade de cubetas desejadas na posição A/B/C/D, logo em seguida colocar uma bilha em cada cubeta.

Pipetar 50 µl da amostra/controles na cubeta (em cubetas separadas)

Apertar o botão A/B/C/D dependendo da posição das cubetas no equipamento

**OBS:** Iniciará o processo de incubação. Após 50 segundos o equipamento iniciará um sinal sonoro.

Apertar novamente o botão com as letras e transferir a cubeta para a posição de leitura.

Apertar o botão do desenho de uma pipeta e simultaneamente disparar 100 µl do reagente Neoplastine em cada cubeta. Aguardar a leitura e impressão dos resultados.

## **REALIZAR EXAME DE TTPa**

Colocar as bilhas na cubeta

Adicionar 50 µl dos controles/ plasma do paciente ( em cubetas separadas)

Adicionar 50 µl do reagente CK Prest

Apertar o botão com a letra referente a posição das cubetas.

**OBS:** Iniciará o processo de incubação. Após 170 segundos iniciará um sinal sonoro.

Apertar novamente o botão com as letras e transferir a cubeta para a posição de leitura.

Apertar o botão do desenho de uma pipeta e simultaneamente disparar 50 µl do reagente Cloreto de Cálcio em cada cubeta. Aguardar a leitura e impressão dos resultados.

- **Coagulograma (Tempo de Sangramento, Tempo de Coagulação e Prova do Laco)**

### **Tempo de Sangramento**

O Tempo de Sangramento (T.S.) avalia a capacidade de se processar a hemostasia após o vaso ter sido lesado. O T.S. depende da função plaquetária e da integridade funcional do vaso. O método mais comumente utilizado é o de Duke, em que é feita uma incisão, de

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 54 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

tamanho padronizado, medindo-se a seguir o tempo decorrido até que cessar o sangramento, intervindo apenas os fatores plaquetário e vascular.

**Materiais necessários:**

- Papel Qualitativo
- Lanceta Picadora
- Álcool
- Algodão
- Cronometro

**Procedimento:**

1. Realizar assepsia do lóbulo da orelha com algodão embebido em álcool e deixar evaporar;
2. Com auxílio de uma lanceta específica e de um só golpe, fazer uma incisão local, com cerca de 2 mm de profundidade; disparar o cronômetro;
3. A cada 30 segundos recolher a gota de sangue em papel de filtro (tendo o cuidado de que o mesmo não toque o lóbulo ou a polpa), até que a última gota deixe apenas um sinal puntiforme no papel;
4. Anotar o tempo decorrido entre a primeira e a última gota recolhidas.

**Valor de referência:**

Valor Normal: de 1 a 3 minutos.

## **INTERPRETAÇÃO**

O Tempo de Sangramento é um teste indicativo de distúrbios plaquetários (em relação ao número à funcionalidade das mesmas) e de alterações da integridade vascular. As alterações mais evidentes do Tempo de Sangramento são encontradas nas púrpuras trombocitopênicas e trombopáticas.

O TS prolongado reflete as alterações quantitativas e/ou qualitativas das plaquetas, vasos e do FVW. Apesar da técnica de Ivy modificada ser mais sensível quando comparada à

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 55 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

de Duke, aquela não é reprodutível, sendo pouco sensível para o diagnóstico de disfunções leves a moderadas. No caso da DVW, o teste não deve ser utilizado para diagnóstico, podendo apresentar resultados normais ou prolongados, uma vez que é dependente do FVW intraplaquetário.

Quanto ao teste realizado em analisadores de função plaquetária, os resultados são anormais na maioria dos pacientes com DVW, exceto no subtipo 2N. Porém, pacientes com o tipo 1 leve e moderado e tipo 2 podem apresentar resultados normais.

○ **Tempo de Coagulação**

Determina o tempo, que o sangue recém extraído, demora em coagular. Avalia a via intrínseca da coagulação. Ao mesmo tempo avalia, de forma superficial: o fibrinogênio e o número e a qualidade das plaquetas. Além disso, serve para acompanhar os pacientes em uso de heparina, embora seja menos confiável que o tempo parcial de tromboplastina ativada.

**Obejetivos :**

Avaliar a função hemostática normal.

Detectar desordens congênitas e adquiridas de função plaquetária.

**Preparação prévia:** não é necessária.

**Material a ser analisado:** sangue por punção venosa sem adição de anticoagulantes

**Materiais necessários:**

- Tubos de Ensaio
- Seringa com agulha
- Banho-maria
- Cronômetro

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 56 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Princípio:** Tempo de Coagulação mede o tempo necessário para que o sangue coagule “invitro”

**Procedimento:**

- 1)- Proceder a punção venosa
- 2)- Disparar o cronômetro assim que o sangue entrar na seringa
- 3)- Separar 3 tubos de ensaio, colocar 1ml de sangue em cada um e levar imediatamente ao banho-maria a 37°C.
- 4)- 3 minutos após a coleta, iniciar observação o tubo 1, inclinando-o suavemente, repetir essa observação a cada 30 segundos até que o sangue coagule. Marcar o tempo transcorrido desde a coleta do sangue até a formação do coágulo.
- 5)- Proceder do mesmo modo para os tubos 2 e 3
- 6)- O tempo de coagulação será obtido pela média dos tempos de coagulação encontrados dos 3 tubos.

**Valor de Referência:** 4 a 9 minutos

**INTERPRETAÇÃO**

**Valores anormais:** Hiperfibrinogenemia, anemia, fibrinólise secundária.

**Tempo de coagulação prolongado:** deficiência de fatores da coagulação, presença de anticoagulantes.

**Retração lenta ou incompleta do coágulo:** Trombocitopenia. Tromboastenia.

Medicamentos que podem alterar os resultados:

Antibióticos(tetraciclinas)

Anticoagulantes

Corticoesteróides

**Referências:**



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 57 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

-Manual de exames: Instituto de Patologia clinica Hermes Pardini 2003/2004

A clínica e o laboratório - Alfonso Balcells Gorina, Medsi Editora 1996

○ **Prova do Laco**

Informa-nos a respeito da capacidade dos pequenos vasos se conservarem intactos frente a uma ação traumática. A prova consiste em provocar a hipóxia e aumento de pressão sanguínea nas veias e capilares num dos membros superiores.

Materiais necessários:

- Estetoscópio e Esfignomanometro
- Cronometro
- Caneta

**Procedimento:**

1. Observe a porção anterior do braço, procurando pigmentações que possam ser confundidas com petéquias (pontos hemorrágicos).
2. Aferir a pressão do paciente
3. Com uma caneta, desenhe um quadrado com dimensões de 2,5 x 2,5 cm no antebraço do paciente.



- Coloque o manguito (do esfigmomanômetro) no terço médio do braço do paciente e insufla-o, usando a pera pressorizadora, até a pressão atingir um valor que esteja compreendido entre as pressões sistólica e diastólica (em geral entre 80 e 90 mm de Hg), porém nunca acima de 100 mm de Hg, mesmo no hipertenso.
- Mantenha o manguito insuflado durante 5 minutos para adultos e 3 minutos para crianças com menos de 13 anos de idade.
- Decorrido este tempo, abra a pera e tire o manguito, deixando normalizar a circulação por 2 minutos.
- Usando uma boa iluminação, conte o número de petéquias surgidas na porção anterior do membro, abaixo da posição que fora colocado o manguito, inclusive na mão.

**Valores:** São expressos em negativo e positivo.

Em pessoas normais podem ocorrer até 10 petéquias, sendo considerado negativo. Acima deste valor, quanto mais petéquias surgirem, maior indicação da fragilidade vascular.

Em adultos considerar como positivo com 20 ou mais petéquias

Em crianças considerar positivo com 10 ou mais petéquias.

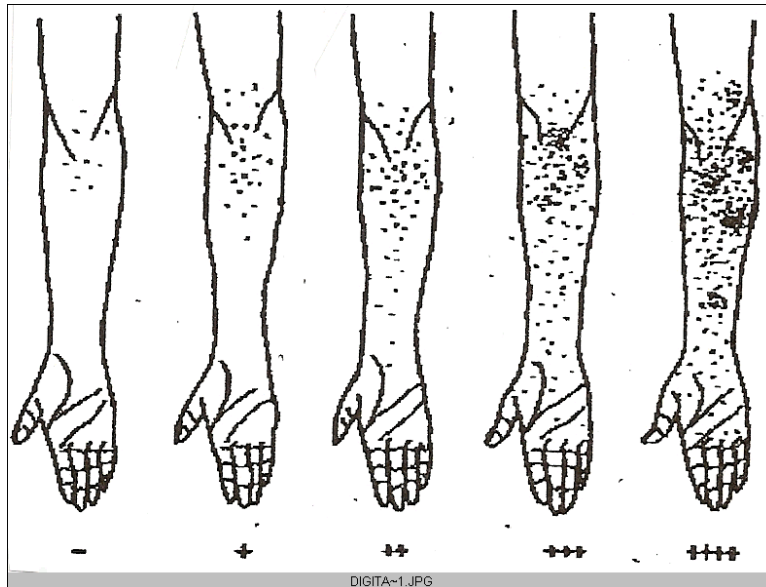


Figura - Esquema dos possíveis resultados da prova de fragilidade vascular.

○ **Imunohematologia – Sistema ABO e Rh**

**INDICAÇÃO DO EXAME:**

Os antígenos eritrocitários são geneticamente determinados e podem ser classificados em diversos sistemas. Os de maior expressão são os sistemas ABO e Rh. Os anticorpos do sistema ABO são naturais, enquanto os anticorpos do sistema Rh são produzidos após sensibilização.

**PRINCÍPIO**

Para ABO: os reagentes causam aglutinação direta macroscópica das hemácias que carregam os antígenos correspondentes. As hemácias possuidoras do antígeno A se aglutinam quando misturadas ao reagente anti-A; igualmente, hemácias possuidoras do antígeno B aglutinam na presença do reagente anti B. O teste adicional empregando-se o

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 60 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

reagente anti-A e anti B facilita o reconhecimento de sub-grupos raros de baixa reatividade aglutinando as hemácias dos grupos A,B e AB, mas não do grupo O.

Para Rh: as expressões Rh positivo ou Rh negativo são baseadas na presença ou ausência do antígeno D. Quando Rh negativo, pesquisar as formas fracas do antígeno D. O antígeno D-fraco é uma variante do antígeno D e tão antigênico quanto ele.

#### Materiais Necessários:

- Pipeta Graduada
- Pera de pipetagem
- Tubo de hemólise 12x75 mm (5 ml)
- Micropipeta de volumes variáveis
- Ponteiros
- Solução fisiológica
- Soro Anti-A
- Soro Anti-B
- Soro Anti-AB
- Soro Anti-D (Rh)
- Soro de Coombs
- Banho- Maria á 37°C
- Centrífuga
- Lâminas
- Espátulas

#### **Procedimento em Tubo :**

1. Coletar Amostra de Sangue Total em EDTA
2. Preparar uma suspensão de hemácias lavadas a 3%
  - Centrifugue a amostra de sangue e separe o soro ou plasma das hemácias, de acordo com a orientação do professor.
  - Retire 1 mL do concentrado de hemácias e transfira para um tubo de hemólise

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 61 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Adicione soro fisiológico 0,9%
- Centrifugue e retire o sobrenadante
- Repita esse processo por 2x
- Retire 30µL das hemácias lavadas e transfira para um tubo de hemólise
- Adicione 970µL de salina ao tubo com hemácias e homogeneíze. A suspensão de hemácias a 3% esta pronta para uso.

### 3. Prova Direta

- Identifique 3 tubos : um para o Anti-A, um para o Anti-B e outro para o Anti-AB
- Coloque os Anti-soros correspondentes, de acordo com os tubos identificados
- Adicione a cada um dos três tubos, 1 gota da suspensão de hemácias a 3% da amostra em teste e hogeneizar
- Centrifugue os tubos a 3.400 rpm por 15 segundos
- Faça a leitura e interprete os resultados

### 4. Prova Reversa

- Identifique 2 tubos de acordo com o esquema abaixo:
  - 1 tubo para o reagente de hemácias A
  - 1 tubo para o reagente de hemácias B
- Coloque 2 gotas da amostra de soro ou plasma em cada um destes tubos
- Adicione 1 gota do reagente de hemácias A ao tubo identificado para hemácia A e uma gota do reagente B ao tubo identificado para hemácias B e homogeneizar.
- Centrifugue os tubos a 3400 rpm por 15 segundos
- Faça a leitura e interprete os resultados

Determinação do Rh

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 62 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

#### 5. Fenotipagem RhD

- Coloque 1 gota do anti-soro D no tubo D e 1 gota do soro controle Rh no tubo CRh
- Adicione 1 gota da suspensão de hemácias a 3% da amostra a cada um dos tubos e homogeneizar
- Centrifugue os tubos a 3400 rpm por 15 segundos
- Faça a leitura e interprete os resultados

#### 6. Determinação do D fraco

- Identifique 3 tubos de acordo com o esquema abaixo:
  - 1 tubo com DM para o anti-soro D monoclonal
  - 1 tubo com CRh para o controle Rh
- Coloque 1 gota de anti-soro no tubo correspondente anti-D monoclonal no tubo DM, anti-D policlonal no tubo DP e controle Rh no tubo CRh
- Adicione 1 gota da suspensão de hemácias a 3% da amostra em cada um dos tubos e homogeneizar
- Incube os tubos á temperatura de 37°C por 20 minutos
- Centrifugue, leia e interprete a reação
- Faça o teste indireto de AGH para determinar D-fraco do seguinte modo:
  - A) Lave a reação, de cada um dos 3 tubos para retirar o excesso de proteínas que podem neutralizar o anti-soro AGH
  - B) Adicione 2 gotas de anti-soro AGH a cada um destes tubos e homogeneizar
  - C) Centrifugue os tubos a 3400 rpm, por 15 minutos e faça a leitura

Teste da Antiglobulina Humana ou Coombs Direto (utiliza-se o concentrado de hemácias lavadas)

O teste direto da AGH é utilizado na resolução de alguns problemas nos resultados dos testes pré- transfusionais, conforme os seguintes procedimentos:

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 63 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Identifique 1 tubo e dispense 2 gotas de anti-soro AGH
- Adicione 1 gota da suspensão de hemácias lavadas á 3%
- Homogeneíze e centrifugue a 3400 rpm por 15 segundos
- Faça a leitura e interprete os resultados

**Procedimento em Lâmina :**

1. Colocar uma gota do reagente anti-A , anti-B, Anti-AB e Anti-D na lâmina.
2. Adicionar uma gota da suspensão de hemácias
3. Misturar o reagente com a gota de sangue
4. Movimentar gentilmente a lâmina e observar a presença ou não de aglutinação macroscópica em até 2 minutos.

○ **Contagem de Reticulócitos - (Azul de cresil brilhante)**

Os reticulócitos são eritrócitos jovens originados na medula óssea com base em eritroblastos. Após as fases de pró-eritroblastos , eritroblastos basófilo e policromático, os eritroblastos ortocromático perdem o núcleo, mantém alguma organelas como ribossomos, RNA mensageiro e mitocôndrias , e originam os reticulócitos (eritrócitos ainda incompletos de hemoglobina, ou seja, hipoconcentrados = baixa CHCM).

A quantidade de reticulócitos no sangue indica a velocidade e a capacidade de produção de eritrócitos viáveis na medula óssea. Normalmente os reticulócitos passam de 2 a 3 dias na medula óssea e 1 dia no sangue periférico, quando então completam sua carga de hemoglobina e tornam-se eritrócitos maduros.

Grandes elevações dos níveis séricos de eritropoietina promovem aumento da produção de reticulócitos na medula e sua saída prematura para o sangue.

Medula óssea hiporcelular com contagem de reticulócitos normal ou diminuída sugere anemias por baixa produção não-associadas a eritropoiese ineficaz (ex: anemia em paciente renal crônico não-tratado com EPO recombinante, aplasia de medula, leucemias, etc.). Quando a eritropoiese é eficaz, a medula é hiperplásica na linhagem eritróide e a contagem de reticulócitos no sangue estará proporcionalmente elevada, como nos casos

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 64 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

de anemias hemolíticas, ou de anemias por baixa produção com resposta adequada ao tratamento.

A contagem manual de reticulócito fundamenta-se na capacidade que os corantes supravitais (como o azul de cresil brilhante ou o novo azul de metileno) tem de corar os precipitados de RNA residual (reticulina), dando aos eritrócitos jovens aspecto característico, sendo então denominados reticulócitos.

Quando corados pelo azul de cresil, sem sobrecoloração, os reticulócitos apresentam-se como eritrócitos esverdeados com precipitados azul-violáceos de RNA.

**Preparo do Paciente:**

- Jejum não obrigatório
- Amostra: Sangue total com EDTA (preferencialmente recém-colhido)

**Armazenamento e estabilidade da amostra:**

- O exame deve preferencialmente ser realizado logo após a colheita.
- Até 24h entre 4 a 8°C
- Se não for lido na mesma hora, contra-corar com May-Grunwald-Giemsa

**Volume mínimo**

- Recém-nascido: 500µl
- Crianças: 3,0 ml
- Adulto: 5,0 ml

**Critérios para rejeição de amostra:**

- Amostra parcial ou totalmente coagulada.

**Materiais necessários:**

- Tubos de hemólise
- Micropipeta
- Ponteiras
- Lâmina com ponta fosca



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 65 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Lâmina Extensora lapidada
- Banho-Maria a 37°C
- Microscópio
- Óleo de imersão
- Corante Azul de Cresil- Brillhante

### 1) Preparo do Corante

Azul de Cresil brilhante ..... 1,0 g  
Citrato de Sódio ..... 0,4 g  
Cloreto de Sódio .....0,9g  
Água destilada qsp .....100mL

### 2) Procedimento

- Colocar 100µL do corante azul de cresil brilhante em um tubo de hemólise
- Acrescentar 100µL da amostra de sangue total
- Misturar e colocar em banho-maria por 40 minutos
- Após esse tempo, realizar o esfregaço sanguíneo da mistura em lâmina
- Deixar secar naturalmente
- Realizar a leitura da lâmina em microscópio óptico comum em objetiva de imersão
- Contar em 1000 hemácias e observar quantos reticulócitos estão presentes
- Transformar em porcentagem

#### Cálculos:

- Valores relativos: 1000 hemácias ---- “x” reticulócitos  
100 hemácias ---- % reticulócitos

- Valores absolutos : (n° de reticulócitos/mm<sup>3</sup> = % de reticulócitos (não corrigido)  
x n° de hemácias/mm<sup>3</sup> / 100)

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 66 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**- Valores corrigidos (percentual corrigido) :**

- **Correção pela hemoglobina :**

Percentual Corrigido = percentual não-corrigido x Hb / 15,0 (para homens)

Percentual Corrigido = percentual não-corrigido x Hb / 13,5 (para mulheres)

- **Correção pelo hematócrito:**

Percentual Corrigido = percentual não-corrigido x Ht / 45 (para homens)

Percentual Corrigido = percentual não corrigido x Ht / 40 (para mulheres)

**- Índice Reticulócítico**

O índice reticulocítico (IR) corresponde às correções dos percentuais reticulócitos para o grau de anemia (primeira correção) e também para a saída prematura dos reticulócitos da medula para o sangue, que ocorre devido aos altos níveis de eritropoietina circulante (segunda correção).

Como o excesso de de EPO promove a saída prematura dos reticulócitos da medula para o sangue periférico, em vez de 1 dia, os reticulócitos saem mais imaturos e circulam por 2 a 3 dias no sangue. Isso traz um aumento da contagem no sangue periférico que não corresponde á produção diária de reticulócitos. Assim, esse reticulócitos grandes e imaturos excedem o valor percentual de contagem. Por isso, o IR traduz o real aumento da eritropoiese em resposta a EPO após correção para a saída prematura dos reticulócitos da medula.

Cálculo IR = percentual corrigido (primeira correção) / tempo circulação

<b>Relação do grau de anemia e duração dos reticulócitos na circulação</b>	
HEMATÓCRITO	TEMPO DE RETICULÓCITO NA CIRCULAÇÃO
>40 %	1 dia

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 67 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

30 a 40 %	1,5 dia
20 a 30 %	2 dias
< 20%	2,5 dias

### **Interpretação:**

Reticulócitos normais ou diminuídos em indivíduos anêmicos são sinais de baixa produção medular (anemia por diminuição de produção)

Reticulocitose (valores acima do normal) é indicativo da resposta terapêutica nas anemias carenciais. Pacientes com anemia ferropriva ou megaloblásticas tratadas com ferro ou folato/vitamina B12, por exemplo, respondem com intensa reticulocitose até a elevação da hemoglobina a níveis normais.

Reticulocitose sem história de perda sanguínea ou de tratamento a anemias carenciais é indicativo de processos hemolíticos subclínicos.

### **Resultados**

Os valores são expressos em valor absoluto e percentual corrigido para todas as anemias ou valor absoluto, percentual corrigido e IR para as anemias hemolíticas ou anemias por baixa produção em tratamento.

### **Valores de Referência**

<b>- Percentual corrigido</b>
➤ Adulto Normal: 0,5 a 1,5 % (2,0%)
➤ Recem-nascidos; 2,0 a 6,0 %
<b>- Valor Absoluto por mm<sup>3</sup></b>
➤ Adulto Normal: 25.000 a 85.000/mm <sup>3</sup>
➤ Recém-nascidos: 100.000 a 300.000/ mm <sup>3</sup>

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 68 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

<b>- Índice Reticulocítico (IR)</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Adultos não-anêmicos: 0,5 a 1,8 %</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Anêmicos:</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nas anemias por diminuição de produção: &lt; 1,8 %</li> </ul> </li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anemias hemolíticas: de 1,8 a 2,9 %</li> </ul> </li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento real da produção medular para grau de anemia : <math>\geq 3,0</math> %</li> </ul> </li> </ul>

○ **Bioquímica Clínica Manual**

Lista de Kits manuais de marcas variadas de uso no Laboratório segue abaixo e os respectivos POP's dos Kits da marca Bioclin. Para acessar aos procedimentos das demais marcas (Labtest e Kovalent) poderá acessar os links abaixo da Tabela ou solicitando ao técnico a Bula impressa que encontra-se em pastas catálogos no Laboratório.

Kits da Labtest, Kovalent e Bioclin
Qualitrol 1 H
Qualitrol 2 H
Calibra H
Padrão de Bilirrubina
Padrão de Hemoglobina
Hemoglobina
Bilirrubina
Lipase
Amilase
AST/ TGO Liquiform
AST/ TGO Liquiform
Fosfatase Ácida
Fosfatase Alcalina
Gama GT (GGT)

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 69 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Colesterol Liquiform
Colesterol HDL
Triglicerídios Liquiform
CK - NAC Liquiform
CK - MB Liquiform
LDH Liquiform
Colinesterase Liquiform
Uréia
Creatinina
Ácido úrico
Cálculo Renal
Proteínas Totais
Albumina
Cálcio Liquiform
Fósforo
Ferro Sérico
Magnésio
Glicose

Link Labtest: [www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br)

Link Kovalent: [www.kovalent.com.br](http://www.kovalent.com.br)

### **Glicose Monoreagente**

#### **FINALIDADE**

Método para a determinação da Glicose. Teste enzimático colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Enzimática Colorimétrica - GOD - PAP.

A Glicose é oxidada enzimaticamente pela Glicose-oxidase (GOD) de acordo com a seguinte reação:

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 70 de 217
MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO		



O Peróxido de hidrogênio, em presença da Peroxidase (POD) reage com a 4 Aminoantipirina e Fenol, formando um cromógeno vermelho cereja cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de Glicose.

### REAGENTE UTILIZADO

GLICOSE MONOREAGENTE                      CATÁLOGO: K082                      ANVISA:  
10269360136

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### COMPONENTES

**Reagente N° 1** - Reagente Enzimático - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão (pH 7,0) 36 mmol/L, Fenol 10 mmol/L, 4 - Aminoantipirina 0,3 mmol/L, Azida sódica 7,7 mmol/L, Glicose Oxidase > 10.000 U/L, Peroxidase > 700 U/L.

**Reagente N° 2** - Padrão - conservar entre 2 e 8°C, bem vedado. Contém: Glicose 100,0 mg/dL (5,56 mmol/L) e conservante.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3 - A água utilizada na limpeza do material e na preparação dos reagentes deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, ions diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.
- 6 - Manusear com cuidado os reagentes. O Reagente N° 1 contém Azida sódica, irritante para pele e mucosas.
- 7 - O desenvolvimento de coloração rósea no reagente N°1 não interfere na qualidade e estabilidade do reagente, desde que seja utilizado o Branco correspondente e dosagens periódicas do padrão.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 71 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

8 - Determinar o fator periodicamente e a cada lote do produto.

9 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

10 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

## EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Banho-maria 37°C
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

### Procedimento Automatizado

- Equipamento: Aparelhos automáticos de bioquímica
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

Inserir nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento; Fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

### AMOSTRA

Plasmas (fluoretado), soro, líquido; líquido (ascítico, pleural e sinovial).

O uso do anticoagulante Fluoreto - Bioclin é recomendado por ser inibidor da glicólise. Usar 1 gota para cada 3 mL de sangue. O soro só poderá ser usado se for centrifugado e dosado imediatamente após a colheita. Em outros líquidos biológicos adicionar um inibidor da glicólise na mesma proporção descrita para o sangue, centrifugando a amostra antes de iniciar a dosagem.

### PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Os reagentes estão prontos para uso.

### TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

### Procedimento Manual

Marcar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostr a
Amostra	--	--	10 □L

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 72 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Reagente N° 2	--	10 □L	--
Reagente N° 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por 10 minutos.  
Ler a absorvância da Amostra e do Padrão em 505 nm (490-550 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

**Procedimento Automatizado**

Mencionar o manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar a programação dos reagentes para o equipamento automático.

**CÁLCULOS**

$$\text{Glicose (mg/dL)} = \frac{\text{Absorvância da amostra} \times 100}{\text{Absorvância do padrão}}$$

**Exemplo:**

Absorvância da amostra = 0,347

Absorvância do padrão = 0,350

$$\text{Glicose (mg/dL)} = \frac{0,347}{0,350} \times 100 = 99$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão}(100\text{mg/dL})}{\text{Absorvância do padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorvância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

**Exemplo:**

$$\text{Fator de calibração} = \frac{100}{0,350} = 286$$

$$\text{Glicose (mg/dL)} = 0,347 \times 286 = 99$$

**RESULTADOS**

**Unidade de Medida:** mg/dL

**Fator de Conversão de Unidades (SI):** mg/dL x 0,0556 = mmol/L

**VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Glicose em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Plasma ..... 60 a 99 mg/dL

Líquor ..... 50 a 70 mg/dL

Recém-nascidos a termo ..... 30 a 80 mg/dL



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 73 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Prematuros ..... 20 a 50 mg/dL

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L ( SI ) multiplicar por 0,0556.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

O método proposto não é indicado para dosagem de Glicose na urina.

### ***INTERFERENTES***

Amostras com concentração até 20 mg/dL de Bilirrubina, 750 mg/dL de Triglicérides e 160 mg/dL de Hemoglobina não produzem interferência significativa. Nos casos de interferências produzidas pela amostra, realizar também um Branco da Amostra, a fim de minimizar a ação dos interferentes. Proceder como a seguir:

Marcar 1 tubo como Branco da Amostra e colocar 1,0 mL de Cloreto de sódio 0,85% com 10 µL da Amostra. Determinar a sua absorvância em 490-550 nm, acertando o zero com água destilada ou deionizada. Subtrair a absorvância assim obtida, da absorvância do tubo da Amostra. Calcular a concentração multiplicando o resultado pelo Fator de calibração.

O uso de medicamentos altamente redutores como o Ácido ascórbico (Vitamina C) interferem na reação, pois competem com o consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fornecendo valores falsamente diminuídos. Por esta razão, deve-se suspender o seu uso pelos menos 12 horas antes da coleta da amostra.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta de glicose. A média de 1,5079 mg/dL com desvio padrão de 0,0003 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do Método, corresponde a média mais 3 vezes o Desvio Padrão e é igual a 1,5088 mg/dL.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até 500 mg/dL. Para amostras com valores acima de 500 mg/dL ou densidade óptica acima de 0,8, diluir a amostra com Cloreto de sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 74 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.  
Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.  
Citar POP para controle interno.

### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.  
Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

A homeostase glicêmica é controlada pela ação de diversos hormônios, especialmente a insulina, que mantém o equilíbrio da concentração de glicose. Alterações hormonais e outros fatores levam a variações nesta homeostase, desencadeando hiper e hipoglicemia. A hiperglicemia ocorre em vários tipos de diabetes mellitus, onde são frequentes retinopatias, lesões renais, neuropatias e aterosclerose. O diabetes mellitus é classificado em: diabetes mellitus insulino dependente (Tipo I), diabetes mellitus insulino não dependente (Tipo II), diabetes mellitus associado a certas condições e síndromes (classificado anteriormente como diabetes secundário) e diabetes gestacional. Nas Hipoglicemias (HG) os níveis glicêmicos que levam às suas manifestações são extremamente variáveis. As manifestações podem ocorrer no jejum ou pós prandial. Ocorre HG de jejum no insulinoma, tumores não pancreáticos, doenças hepáticas, hipoadrenalinismo (doença de Addison), hipopituitarismo (doença de Simmond), enfermidade do armazenamento retardado do glicogênio (doença de von Gierke). A hipoglicemia pós-prandial ocorre devido a causa reativa (sintomas de HG 1 a 3 horas após a refeição); podendo ainda ser de origem alimentar ou em consequência do diabetes mellitus Tipo II e de intolerância à Glicose.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - TRINDER, P., Ann. Clin. Biochem., 6-24, 1969.
- 2 - TONKS, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, 1983.
- 3 - LOTT, J. A.; TURNER, K., Clin. Chem., 1987, 21:1754, 1970.
- 4 - CARL, A. B. and EDWARD R. A., Tietz Textbook of Clinical Chem. 2nd ed., 928-997,
- 5 - Quibasa: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

### **Colesterol Monoreagente**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 75 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

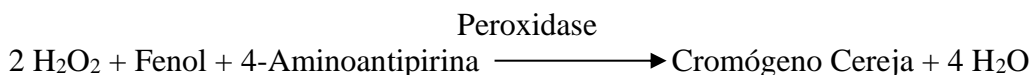
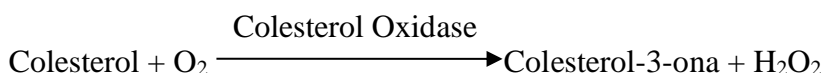
## FINALIDADE

*Método para determinação do Colesterol. Teste enzimático colorimétrico somente para uso in vitro.*

## PRINCÍPIO DE AÇÃO

**Metodologia:** Enzimático Colorimétrico – COD – PAP.

A determinação enzimática do colesterol é feita de acordo com as seguintes reações:



A intensidade da cor cereja formada é diretamente proporcional à concentração de Colesterol na amostra.

## REAGENTE UTILIZADO

**COLESTEROL MONOREAGENTE**  
**ANVISA: 10269360141**

**CATÁLOGO: K083**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

## COMPONENTES

**Reagente N° 1 - Reagente Enzimático** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão (pH 7,0) 75 mmol/L, Fenol 4,5 mmol/L, 4- Aminoantipirina 0,3 mmol/L, Colesterol Oxidase > 200 U/L, Lipoproteína Lipase > 700 U/L, Peroxidase > 300 U/L, Azida Sódica 14,6 mmol/L, Estabilizantes e Surfactantes.

**Reagente N° 2 - Padrão** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Colesterol 200,0 mg/dL, Estabilizantes e Solubilizantes.

## ESTABILIDADE

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 76 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### **CUIDADOS ESPECIAIS**

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, ions diversos e agentes oxidantes redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.
- 6 - Plasma colhido com anticoagulantes como oxalato, EDTA ou citrato, produzem resultados falsamente diminuídos.
- 7 - Manusear com cuidado os reagentes. O Reagente N°1 contém Azida sódica, irritante para pele e mucosas.
- 8 - O desenvolvimento de coloração rósea no reagente N°1 não interfere na qualidade e estabilidade do reagente, desde que seja utilizado o Branco correspondente e dosagens periódicas do padrão.**
- 9 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 10 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

### **EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS**

#### **Procedimento Manual**

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Banho-maria 37°C
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- *Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin*

#### **Procedimento Automatizado**

- Equipamento: Equipamento bioquímico automático.
- *Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin*

Inserir nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento; Fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

### **AMOSTRA**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 77 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Soro obtido livre de hemólise ou plasma colhido com heparina. O Colesterol é estável no plasma ou no soro por 7 dias entre 2 e 8°C, e até 5 dias entre 15 e 30°C.

### **PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO**

Os reagentes estão prontos para uso.

### **TÉCNICA**

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

#### **Procedimento Manual**

Marcar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra) e P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Amostra	-----	-----	10 µL
Reagente N° 2	-----	10 µL	-----
Reagente N° 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por 10 minutos.

Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 500 nm (490-550 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

#### **Procedimento Automatizado**

Mencionar o manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar a programação dos reagentes para o equipamento automático.

### **CÁLCULOS**

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância da Amostra} \times 200}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do Padrão (200mg/dL)}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbância da Amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

### **RESULTADOS**

Unidade de Medida: **mg/dL**

**Fator de Conversão de Unidades (SI):** mg/dL x 0,026= mmol/L

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 78 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Os valores de referência em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação do colesterol em populações do sexo masculino e feminino.

Desejável	< 200
Aceitável	200-239
Elevado	>240

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L (SI) multiplicar por 0,026. Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

O equilíbrio do ensaio é afetado por algumas substâncias interferentes como o Ácido Ascórbico (mesmo em pequenas concentrações), hemoglobina acima de 150 mg/dL e Bilirrubina acima de 20 mg/dL.

### ***INTERFERENTES***

Não se aplica.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de colesterol. A média de 1,461 mg/dL com desvio padrão de 0,004 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do Método, corresponde á média mais 3 vezes o Desvio Padrão e é igual a 1,47 mg/dL.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até 500 mg/dL. Para amostras com valores acima de 500 mg/dL, ou densidade óptica maior que 0,8, diluir a amostra com cloreto de sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 79 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.  
Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.  
Citar POP para controle interno.

### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.  
Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

A concentração do Colesterol plasmático é influenciada por caracteres hereditários, função endócrina, nutrição e integridade dos órgãos vitais como fígado e rins. Numerosas investigações confirmam a relação entre o Colesterol total e a evolução da doença coronária aterosclerótica. O Colesterol encontra-se aumentado no diabetes, síndrome nefrótica, cirrose biliar, no hipotireoidismo e nas hiperlipoproteinemias tipo IIa, IIb e III. Pesquisas revelam que níveis elevados do Colesterol LDL (Colesterol Ligado a lipoproteínas (LP) de baixa densidade) relacionam-se intimamente à doenças coronarianas isquêmicas (DCI). Ao contrário, a elevação do Colesterol HDL (Colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidade) representa um fator de proteção contra a DCI. Hipertensão, tabagismo, obesidade são outras causas responsáveis pela arterosclerose e DCI. Valores diminuídos podem ocorrer na presença de doenças que acometem o parênquima hepático (Hepatite virótica, Hepatite Tóxica), ocasionalmente nas infecções agudas (pneumonia, febre tifóide), hipotireoidismo, anemias, desnutrição.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- 1 - ALLAIN, C.C., and al. Clin. Chem., 1974. 20-470.
- 2 - TONKS, D.B., Qualyt Control in Clinical laboratories, 1983.
- 3 - TRINDER, P., Ann. Clin. bioche.,, 1969, 6-24.
- 4 - HENRY, J.B., Diagnosys and Management by laboratory Methods, 19<sup>a</sup> ed., 1996.
- 5 - CARL, A.B. and EDWARDR .A., Tiedz Textbook of Clinical Chem. 2nd ed., 1994,1002-1081.

### **Colesterol HDL Enzimático**

#### **FINALIDADE**

Método para a determinação do Colesterol HDL. Teste enzimático colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 80 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Metodologia:** Enzimático-Trinder

As lipoproteínas VLDL (Lipoproteína de muito baixa densidade) e LDL (Lipoproteína de baixa densidade) e os quilomícrons são precipitados com a mistura de Ácido fosfotúngstico e Cloreto de magnésio. Após centrifugação, o Colesterol ligado as Lipoproteínas de alta densidade (HDL) é determinado no sobrenadante por método colorimétrico enzimático.

**REAGENTE UTILIZADO**

**COLESTEROL HDL ENZIMÁTICO**  
**ANVISA: 10269360082**

**CATÁLOGO: K015**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

**COMPONENTES**

**Número 1 - Padrão** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém Colesterol 40mg/dL e n-butanol P.A .

**Número 2 - Reagente Precipitante** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido fosfotúngstico 1,5 mmol/L, Cloreto de magnésio 100 mmol/L.

**ESTABILIDADE**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

**CUIDADOS ESPECIAIS**

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.
- 6 - O uso do Reagente de Trabalho do Kit Colesterol Líquido Estável ou do Kit Colesterol Monoreagente da **Bioclin** é de fundamental importância para uma boa performance do sistema.
- 7 - Determinar o fator periodicamente e a cada lote do produto.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 81 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

8 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

9 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

## EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Banho-maria 37°C
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- kit de Colesterol Monoreagente
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

### AMOSTRA

Soro obtido livre de hemólise, colhido após jejum de 12 a 14 horas. O Colesterol HDL é estável no soro por 7 dias entre 15 e 30°C e 14 dias entre 2 e 8°C.

### PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Reagente pronto para uso.

### TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar o kit Colesterol Monoreagente (Reagente Enzimático\*) e como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

### Procedimento Manual

#### Precipitação das VLDL, LDL e quilomícrons.

Em tubo de centrifuga, pipetar:

Soro.....250 µL

Reagente Precipitante N° 2.....250 µL

Agitar no Vortex ou manualmente durante 1 minuto. Centrifugar a 3500 rpm durante 15 minutos. Esta etapa é de fundamental importância para obtenção de resultado correto. O sobrenadante límpido contém Colesterol HDL e deve ser pipetado imediatamente após a centrifugação, para evitar resultado falsamente elevado.

#### Determinação do Colesterol HDL

Marcar 3 tubos de ensaio : B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir :

	Branco	Padrão	Amostra
--	--------	--------	---------

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 82 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Sobrenadante	-----	-----	50 µL
Reagente N° 1	-----	50 µL	-----
Reagente Enzimático*	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37oC por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 500 nm (490-540), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

## CÁLCULOS

Como na realização da técnica o soro é diluído 1:2 com o Reagente Precipitante, necessita-se corrigir essa diluição para obtenção de resultados corretos. Para isso, na realização dos cálculos, o valor do padrão é corrigido para o dobro de sua concentração real, ou seja, 80 mg/dL.

$$\text{HDL (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância da Amostra} \times 80}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o método do Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{80}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbância do teste} \times \text{Fator de Calibração}$$

A concentração do Colesterol VLDL e LDL pode ser calculada segundo a equação de Friedewald. Este cálculo poderá ser utilizado para amostras cuja concentração de Triglicérides não ultrapasse 400 mg/dL.

$$\begin{aligned} \text{Colesterol VLDL} &= \text{Triglicérides} / 5 \\ \text{Colesterol LDL} &= \text{Colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL}) \end{aligned}$$

Para amostra lipêmica ou com sobrenadante turvo, diluir a amostra 1:2 com Cloreto de sódio 0,85% e repetir a precipitação. Multiplicar o resultado obtido por 2. Se o sobrenadante permanecer turvo, a amostra não poderá ser utilizada.

## RESULTADOS

Unidade de Medida: **mg/dL**

## VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência, em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Colesterol HDL em populações sadias do sexo masculino e feminino.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 83 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

	Desejável	Médio risco	Alto risco
Colesterol LDL	< 130	130-159	>160
Colesterol HDL mulheres	> 65	45-65	< 45
Colesterol HDL homens	> 55	35-55	<35

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

Manter sempre a relação de 1:1 entre a amostra e o Precipitante. Algumas substâncias, como o Ácido Ascórbico, Hemoglobina acima de 150 mg/dL, Bilirrubina acima de 20 mg/dL e Triglicérides acima de 600 mg/dL, interferem na reação.

### ***INTERFERENTES***

Não se aplica

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de Colesterol HDL. A média encontrada foi 1,3307 mg/dL, com desvio padrão de 0,0005 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 1,3321 mg/dL.

### ***LINEARIDADE***

Não se aplica

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 84 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### **SIGNIFICADO CLÍNICO**

A determinação das lipoproteínas de alta densidade (HDL) e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) desempenham papel importante na prevenção e terapia de cardiopatias coronarianas.

As HDL são capazes de captar o Colesterol dos tecidos periféricos e reconduzi-lo ao fígado a fim de degradá-lo e excretá-lo. Este mecanismo, denominado transporte reverso do Colesterol, constitui a teoria da anti-aterogenicidade do HDL, onde baixas concentrações de HDL estão diretamente relacionadas com a incidência de doenças cardiovasculares.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - ALLAIN, C. C., and al. Clin. Chem., 1974, 20-470.
- 2 - TONKS, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, 1983.
- 3 - TRINDER, P., Ann. Clin. Biochem, 1969, 6-24.
- 4 - CARL, A. B. And EDWARD, R. A.; Tietz Textbook of Clinical Chem. 2 nd. ed.; 1994, 1002-1081.

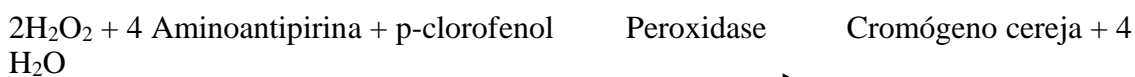
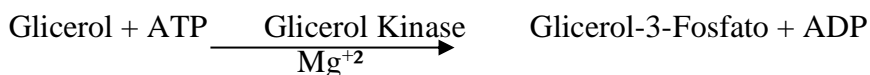
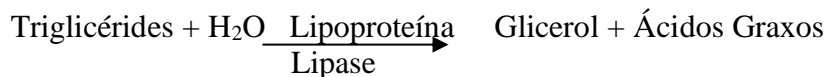
### **Triglicérides Monoreagente**

#### **FINALIDADE**

Método para a determinação dos triglicérides. Teste enzimático colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Enzimático colorimétrico



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 85 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 4 aminoantipirina e p-clorofenol, na presença da peroxidase, originam um composto de cor cereja, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de triglicérides.

### REAGENTE UTILIZADO

**TRIGLICÉRIDES MONOREAGENTE      CATÁLOGO: K117      ANVISA:  
10269360193**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
E-mail: sac@bioclin.com.br  
Site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### COMPONENTES

**Reagente Nº 1 - Reagente Enzimático** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: tampão pH 7,0 (100 mmol/L), 4-cloro fenol 5 mmol/L, lipase lipoprotéica 2500 U/L, glicerol quinase > 1500 U/L, peroxidase > 1000 U/L, 4-aminoantipirina 0,9 mmol/L, ATP 1,5 mmol/L, glicerol-3-fosfato oxidase > 4000 U/L, conservante, ativante e estabilizante.

**Reagente Nº 2 - Padrão** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: triglicérides 100,0 mg/dL (1,13 mmol/L) e conservante.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.
- 6 - Determinar o fator periodicamente e a cada lote do produto.
- 7 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 86 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

8 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

## EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Banho-maria 37°C
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

### Procedimento Automatizado

- Equipamento: Aparelhos automáticos de bioquímica
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

Inserir nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento; Fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

## AMOSTRA

Soro obtido livre de hemólise (para evitar resultados falsamente elevados) ou plasma colhido com EDTA ou heparina. O analito é estável durante 3 dias entre 2 e 8°C e 30 dias a 10°C negativos. O sangue deve ser colhido após um jejum de 12 a 14 horas. As amostras lipêmicas devem ser previamente diluídas com cloreto de sódio a 0,85%, na proporção 1:2.

## PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Os reagentes estão prontos para uso.

## TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

### Procedimento Manual

Marcar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Amostra	-----	-----	10 µL
Reagente N° 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Reagente N° 2	-----	10 µL	-----

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por 10 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 500 nm (490-540 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 87 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Procedimento Automatizado**

Mencionar o manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar a programação dos reagentes para o equipamento automático.

### **CÁLCULOS**

$$\text{Triglicérides ( mg/dL )} = \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 100}{\text{Absorbância do padrão}}$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão (100 mg/dL)}}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

### **RESULTADOS**

**Unidade de Medida:** mg/dL

**Fator de Conversão de Unidades (SI):** mg/dL x 0,0113 = mmol/L

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência, em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de triglicérides em populações sadias do sexo masculino e feminino.

**Soro:** menor que 160 mg/dL

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L ( SI ) multiplicar por 0,0113.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### **LIMITAÇÕES DO PROCESSO**

Substâncias redutoras, como o ácido ascórbico, mesmo em baixas concentrações, e amostras ictericas com bilirrubina acima de 5 mg/dL, interferem na metodologia, levando a resultados falsamente diminuídos.

Algumas substâncias como, o álcool, contraceptivos orais e estrógenos, elevam os valores de triglicérides.

### **INTERFERENTES**

Não se aplica.

### **SENSIBILIDADE**

O estudo de sensibilidade ou limite de detecção foi realizado através da dosagem de uma amostra isenta do analito (Triglicérides). Foram realizadas 20 dosagens

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 88 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

consecutivas e à média encontrada somou-se 3 vezes o desvio padrão da média. A média encontrada foi de 2,808 mg/dL, o desvio padrão 0,013 mg/dL e a sensibilidade (Média + 3DP) 2,845 mg/dL.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até concentração de 900 mg/dL. Para amostras com valores acima de 900 mg/dL diluir a amostra com cloreto de sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

Os triglicérides, constituintes das várias lipoproteínas, são encontrados em diferentes concentrações e têm grande importância na classificação e fenotipagem das hiperlipoproteinemias. Nas várias patologias em que ocorre hiperlipidemia, os triglicérides somente não se encontram elevados no Tipo IIa. São verificados valores aumentados em várias patologias como no diabetes, doenças cardiovasculares, pancreatite, síndrome nefrótica, uremia, hipotireoidismo, alcoolismo crônico. Em processos de triagem, a dosagem dos triglicérides, colesterol, a prova de refrigeração sérica e outros parâmetros podem fornecer dados consistentes à classificação e fenotipagem das hiperlipoproteinemias.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

1 - BUCOLO, G.; DAVID, H., Clin. Chem., 1973, 476.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 89 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- 2 - TONKS, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, 1983.
- 3 - MC GOWAN, M. W.; ARTISS, J. D.; STRANDBERGH, D. R.; ZAK, B., Clin. Chem., 1983, 29-538.
- 4 - TRINDER, P.; Ann. Clin. Biochem, 1969, 6-24.
- 5 - Bioclin – Dados de arquivo

### Proteínas Totais

#### **FINALIDADE**

Método para a determinação das Proteínas Totais. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Biureto.

As ligações peptídicas das proteínas (-CONH-) reagem com os ions cúpricos, em meio alcalino, formando um complexo de coloração violeta que é proporcional ao teor das Proteínas no meio. A presença do Tartarato de sódio e potássio estabiliza o reagente e a concentração adequada de Iodeto de potássio previne a sua auto-redução.

#### **REAGENTE UTILIZADO**

**PROTEÍNAS TOTAIS**  
**10269360116**

**CATÁLOGO: K031**

**ANVISA:**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

#### **COMPONENTES**

**Número 1 - Biureto** - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Hidróxido de sódio 0,2 mol/L, Tartarato de potássio e sódio 32 mmol/L, Iodeto de potássio 6 mmol/L, Sulfato de cobre 12 mmol/L.

**Numero 2 - Padrão** - conservar entre 2 e 8°C. Agitar antes de usar. Contém: Albumina 4g/dL, estabilizador e Azida sódica 15, 38 mmol/L.

#### **ESTABILIDADE**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 90 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **CUIDADOS ESPECIAIS**

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5 - O Reagente N° 1 é cáustico, manusear com cuidado. O Reagente N° 2 contém Azida sódica, irritante para pele e mucosas.
- 6 - Não usar plasma.
- 7 - Determinar o fator periodicamente e a cada lote do produto.
- 8 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 9 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

### **EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS**

#### **Procedimento Manual**

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

#### **Procedimento Automatizado**

- Equipamento: Aparelhos automáticos de bioquímica
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

Inserir nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento; Fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

### **AMOSTRA**

Soro obtido livre de hemólise e líquidos (pleural, sinovial e ascítico). O analito é estável por 07 dias entre 2 e 8°C e 60 dias a 10°C negativos.

### **PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO**

Os reagentes estão prontos para uso.

### **TÉCNICA**

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

#### **Procedimento Manual**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 91 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Marcar 3 tubos de ensaio : B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir :

	Branco	Padrão	Amostra
Amostra	-----	-----	50 µL
Padrão	-----	50 µL	-----
Biureto	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL

Homogeneizar bem e deixar em repouso por 10 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 545 nm (510 - 550 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

#### **Procedimento Automatizado**

Mencionar o manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar a programação dos reagentes para o equipamento automático.

#### **CÁLCULOS**

$$\text{Proteínas Totais ( g/dL )} = \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 4}{\text{Absorbância do padrão}}$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o método do Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão ( 4 g/dL )}}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{g/dL} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

#### **RESULTADOS**

**Unidade de Medida:** g/dL

#### **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência em g/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Proteínas Totais em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Proteínas Totais no soro : 6,0 a 8,0 g/dL

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

#### **LIMITAÇÕES DO PROCESSO**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 92 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

O método descrito não é aplicado para a dosagem das Proteínas na urina e no líquido. Para estas amostras usar o kit Bioprot U/LCR Bioclin.

### ***INTERFERENTES***

Amostra hemolisada, icterica, lipêmica ou medicamentos como: digitálicos, corticoesteróides, esteróides anabólicos interferem nas dosagens. Os estrogênios, laxativos e contraceptivos orais interferem, produzindo valores reduzidos das Proteínas. Para amostras com Bilirrubina acima de 40 mg/dL e Hemoglobina acima de 180 mg/dL fazer um Branco da amostra da seguinte maneira : misturar 2,5 mL de NaCl 0,85% com 0,05 mL de amostra. Determinar a absorbância a 545 nm acertando o zero com água destilada ou deionizada. Diminuir a absorbância assim obtida da absorbância do teste e calcular a concentração.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade do Kit Proteínas Totais foi calculado a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de proteínas totais. A média encontrada foi de 0,022 g/dL com desvio padrão de 0,007 g/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 0,043 g/dL.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até 12 g/dL. Para valores maiores, diluir o soro com solução salina 0,85% e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 93 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.  
Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### **SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO**

Os níveis plasmáticos das Proteínas Totais sofrem variações de acordo com as alterações das suas várias frações. Sua concentração é influenciada pelo estado nutricional, hepático, renal e erros metabólicos.

Valores aumentados de Proteínas Totais podem ocorrer na desidratação, mieloma múltiplo, enfermidades do colágeno (lúpus eritematoso, artrite reumatóide), endocardite bacteriana subaguda.

A hipoproteïnemia pode ocorrer nas seguintes condições clínicas: síndrome nefrótica, insuficiência hepática (cirrose, hepatite crônica, neoplasias), desnutrição grave, anemias graves, estados febris prolongados, infecções graves, hemorragia maciça.

A dosagem de Proteínas nos líquidos serosos (pleural e ascítico) é importante para se fazer a diferenciação entre transudatos (valor de Proteínas inferior a 50% da concentração no soro) e exudatos (valor de Proteínas superior a 50% da concentração no soro).

Os níveis de Proteínas no líquido sinovial são inferiores aos do sangue variando de 1,2 a 2,5 g/dL.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. J., Biol. Chem., 1977, 751.
- 2 - WEICHSELBAUM, T. E.; AMER, J., Clin. Pathol., 1946, 16,40.
- 3 - SLATER, L.; CARTER, P. M.; HOBBS, J. R., Ann. Clin. Biochem., 1975, 12,333.
- 4 - BATSAKIS, J. G.; AROUSOHN, R. S.; WALKER, W. A.; BARNES, B.; AMER, J., Clin. Pathol., 1.976, 66,238.
- 5 - HOEL. P. G., em Estatística Elementar, Ed. Fundo de Cultura S/A, 1969.
- 6 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 1983, 9,217.
- 7 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A., Tietz Textbook of Clinical Chem. 2nd ed, 1994, 695-697.

## **Albumina**

### **FINALIDADE**

Método para a determinação da albumina. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Verde de bromocresol ( VBC ).

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 94 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

A dosagem utiliza o que se chama “erro protéico dos indicadores”. Em presença da albumina, o verde de bromocresol forma um complexo corado, que exibe um espectro de absorção diferente do corante no seu estado livre, permitindo, assim, a dosagem da albumina.

## REAGENTE UTILIZADO

**ALBUMINA**

**CATÁLOGO: K040**

**ANVISA: 10269360144**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

## COMPONENTES

**Número 1 - Reagente de cor** - conservar entre 2 e 8°C. Contém: verde de bromocresol 0,1 mmol/L, solução tampão citrato 20 mmol/L pH 3,6, preservativos e surfactantes.

**Número 2 - Padrão** - conservar entre 2 e 8°C. Agitar antes de usar. Contém: albumina 3,8 g/dL, azida sódica 15,38 mmol/L.

## ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

## CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5- O Reagente N° 2 contém azida sódica: manusear com cuidado.
- 6- Não usar plasma.
- 7- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 8- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

## EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Banho-maria 37°C
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

### Procedimento Automatizado

- Equipamento: Equipamento bioquímico automatizado
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

Inserir nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento; Fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

### AMOSTRA

Soro obtido livre de hemólise. O analito é estável por 03 dias entre 2 e 8°C.

### PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

O reagente é pronto para uso.

### TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

### Procedimento Manual

Marcar 3 tubos de ensaio: B ( Branco ), A ( Amostra ), P ( Padrão ) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Amostra	-----	-----	10 µL
Padrão	-----	10 µL	-----
Reagente de Cor	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL

Homogeneizar bem e deixar em repouso por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 630 nm (600 a 640 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

### Procedimento Automatizado

Mencionar o manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar a programação dos reagentes para o equipamento automático.

### CÁLCULOS

Albumina (g/dL) = Absorbância da amostra x 3,8

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 96 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### Absorbância do padrão

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão (3,8 g/dL)}}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{g/dL} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

Os resultados serão expressos em g/dL.

### **RESULTADOS**

Unidade de Medida: **g/dL**

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência em g/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de albumina em populações sadias.

Albumina no soro: 3,5 a 5,5 g/dL. Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### **LIMITAÇÕES DO PROCESSO**

Usar pipeta automática e ponteiros de boa qualidade para pipetagem do Padrão e da Amostra, a fim de minimizar problemas de imprecisão de volume.

### **INTERFERENTES**

Não se aplica.

### **SENSIBILIDADE**

A sensibilidade do Kit Albumina foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de albumina. A média encontrada foi de 0,0326 g/dL com desvio padrão de 0,0001 g/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,0327 g/dL.

### **LINEARIDADE**

A reação é linear até 6,0 g/dL. Para valores maiores que 6,0 g/dL ou densidade óptica acima de 0,8, diluir o soro com solução salina 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

### **CONTROLE DA QUALIDADE**



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 97 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

A albumina constitui a principal proteína do soro. Sintetizada quase totalmente pelo fígado, possui uma meia-vida de aproximadamente duas semanas. Um aumento da albumina poderá ser observado na desidratação, estado de choque e hemoconcentração. Valores diminuídos ocorrem na desnutrição, síndrome nefrótica, insuficiência hepática, glomerulonefrite, mieloma múltiplo, anemias graves, gravidez, infecções graves e prolongadas.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- 1 - GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. J., Biol. Chem., 1977, 751.
- 2 - WEICHSELBAUM, T. E.; AMER, J., Clin. Pathol., 1946, 16,40.
- 3 - SLATER, L.; CARTER, P. M.; HOBBS, J. R., Ann. Clin. Biochem., 1975, 12,333.
- 4 - BATSAKIS, J. G.; AROUSOHN, R. S.; WALKER, W. A.; BARNES, B.; AMER, J., Clin. Pathol., 1.976, 66,238.
- 5 - HOEL, P. G., em Estatística Elementar, Ed. Fundo de Cultura S/A, 1969.
- 6 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 1983, 9,217.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 98 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## Amilase

### **FINALIDADE**

Método para a determinação da atividade da Amilase. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Caraway Modificado - Cinética de tempo fixo.

A amostra é incubada com um substrato de amido. Pela adição do iodo, o amido ainda não hidrolisado adquire coloração azul que diminui proporcionalmente à atividade enzimática, sendo comparado com um controle.

### **REAGENTE UTILIZADO**

**AMILASE                      CATÁLOGO: K003                      ANVISA: 10269360085**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### **COMPONENTES**

**Reagente Nº 1 - Substrato** - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amido 0,4 g/L, Tampão fosfato 100 mmol/L pH 7,0, estabilizador e conservador.

O Reagente em baixas temperaturas pode cristalizar. Neste caso, colocar o Reagente (em sua embalagem original e bem vedado) em banho-maria 37° C agitando até completa dissolução dos cristais.

**Reagente Nº 2 - Reagente de Cor - Solução estoque de Iodo** - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Iodo 50 mmol/L e estabilizador.

### **ESTABILIDADE**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### **CUIDADOS ESPECIAIS**

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	<b>UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS</b>	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 99 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

5- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.

6- Como o Reagente N° 1 é facilmente contaminado por saliva recomendamos a utilização de máscaras, pêsas e pipetas automáticas.

7- É importante para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo e temperatura.

8- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

9- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

## EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Banho-maria 37°C
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro

## AMOSTRA

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com heparina. Outros anticoagulantes (EDTA, citrato, oxalato) inibem a atividade da Amilase.

Urina - coletar em intervalo de 2 a 24 horas.

A Amilase é estável no plasma, soro ou urina por 24 horas entre 15 e 30°C e 2 meses entre 2 e 8°C.

## PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Transferir o conteúdo da ampola (Reagente N°2) para o frasco vazio que acompanha o Kit. Em seguida, adicionar 45 mL de água destilada ou deionizada e homogeneizar. Manter o frasco bem vedado. Estável por 06 meses entre 2 e 8°C.

## TÉCNICA

### Procedimento Manual

Marcar 2 tubos de ensaio: C (Controle), A (Amostra) e proceder como a seguir:

	<b>Controle</b>	<b>Amostra</b>
<b>Reagente N° 1</b>	0,5 mL	0,5 mL
Colocar em banho-maria à 37°C por 2 minutos.		

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 100 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

<b>Amostra</b>	—	10 µL
Homogeneizar e incubar à 37°C por exatamente 7 minutos e trinta segundos (cronometrados).		
<b>Reagente de Trabalho</b>	0,5 mL	0,5 mL
<b>Água dest. ou deionizada</b>	4,0 mL	4,0 mL

Homogeneizar bem e determinar as absorvâncias do Controle e da Amostra em 660 nm (620 a 700 nm), zerando o aparelho com água destilada ou deionizada. A cor é estável por 30 minutos.

Para dosagem na urina, medir o volume urinário coletado em um intervalo de 2 a 24 horas. Ajustar o pH entre 7,0 e 7,4 com Carbonato de sódio (sólido) para urina ácida e com fosfato biácido de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) para urina alcalina. Proceder do mesmo modo descrito para o soro.

### **CÁLCULOS**

Ac = Absorvância do Controle

Aa = Absorvância da Amostra

$$\text{U/dL de Amilase} = \frac{Ac - Aa}{Ac} \times 800$$

Uma unidade de enzima é a quantidade que hidrolisa totalmente 10 mg de amido em 30 minutos à 37°C.

Cálculo para dosagem na urina:

$$\frac{\text{U/h de Amilase}}{\text{Amilase}} = \frac{Ac - Aa}{Ac} \times \frac{\text{Volume urinário (mL)}}{\text{Tempo de coleta (em horas)}} \times 8$$

#### **Exemplo:**

Absorvância do Controle soro= 0,368

Absorvância da Amostra soro= 0,320

Absorvância do Controle Urina= 0,380

Absorvância da Amostra Urina= 0,300

Tempo de coleta: 12 horas

Volume: 900 mL

$$\frac{0,368 - 0,320}{0,368} \times 800 = 104 \text{ U/dL de Amilase}$$

$$0,380 - 0,300 \times 900 \times 8 = 126 \text{ U/hora de Amilase}$$

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 101 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

$$\frac{\quad}{0,380} \quad \frac{\quad}{12}$$

Quando o valor  $A_c - A_a$  for maior do que 0,5, diluir a urina com solução de cloreto de sódio 0,85 %,  $\frac{\quad}{A_c}$

repetir o ensaio e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

Os resultados serão expressos em U/dL.

### **RESULTADOS**

Unidade de Medida: **U/dL**

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência em U/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Amilase em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Todas as idades:

Soro: 60 a 160 U/dL

Urina: 50 a 140 U/h

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### **LIMITAÇÕES DO PROCESSO**

Como em toda reação enzimática, é de grande importância o controle do tempo e da temperatura de incubação. Uma diferença de 1 minuto no tempo de incubação acarreta um erro de 13% nos resultados.

### **INTERFERENTES**

Amostras com hemólise produzem resultados falsamente diminuídos. Anticoagulantes como EDTA, Citrato e Oxalato inibem a atividade da Amilase. Valores de bilirrubina até 20 mg/dL e hiperlipemia (triglicérides até 1500 mg/dL) não interferem.

### **SENSIBILIDADE**

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra de concentração 0 (zero) de Amilase. A média da concentração da Amilase foi 0,0039 U/dL com Desvio Padrão de 0,0001 U/dL. A sensibilidade, que indica o Limite de Detecção do Método, corresponde a média mais 3 vezes o Desvio Padrão e é igual a 0,0042 U/dL.

### **LINEARIDADE**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 102 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

A reação é linear até 400 U/dL. Para valores maiores, diluir amostra com Cloreto de sódio 0,85% e proceder a nova determinação. Multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

A Amilase, predominantemente de origem pancreática e salivar, está normalmente presente no sangue e na urina em pequenas quantidades. Eleva-se rapidamente no plasma após o início dos sintomas de pancreatite aguda, onde paralelamente observa-se um aumento da Amilase urinária.

Valores aumentados são, também, observados no infarto mesentérico, úlcera gástrica perforada, carcinoma de cabeça do pâncreas, caxumba, insuficiência renal, acidose diabética.

Níveis plasmáticos diminuídos são observados na hepatite, cirrose hepática, toxemia de gravidez, eclampsia, carcinoma pancreático.

Algumas drogas podem interferir nos resultados laboratoriais elevando os níveis séricos da Amilase (morfina, meperidina, codeína, diuréticos tiazídicos) ou diminuindo, como nos casos de envenenamento por barbitúricos.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- 1 - CARAWAY, W. T.: Amer J. Clin. Pathol, 1959, 32, 97.
- 2 - TONKS, D. B.: Clin. Chem., 1983, 9:217.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 103 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- 3 - HENRY, R. J.: Chemistry Technics 4º Ed. New York - Haper e Row, 1964, 498.  
4 - HENRY, R. J. and CHIAMORI, N.: Clin. Chem., 1960, 6, 434.  
5 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2nd ed., 1994, 852-863.

### Uréia Enzimática

#### **FINALIDADE**

Método para a determinação da uréia. Teste enzimático colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Enzimático colorimétrico.

A uréia é hidrolisada a íons amônio e CO<sub>2</sub>, pela urease.



Em pH alcalino e na presença de salicilato e hipoclorito de sódio, a amônia origina um composto esverdeado, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de uréia na amostra analisada.

#### **REAGENTE UTILIZADO**

**URÉIA ENZIMÁTICA**

**CATÁLOGO: K047**

**ANVISA: 10269360101**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

#### **COMPONENTES**

**Número 1 - Padrão** - conservar entre 2 e 8°C. Contém: uréia 70,0 mg/dL

**Número 2 –Enzima** - conservar entre 2 e 8°C. Contém: urease >10.000 UI, tampão fosfato 100 mmol/L pH 6,8, estabilizantes e conservantes.

**Número 3 - Tampão Estoque** - conservar entre 2 e 8°C. Contém: tampão fosfato 100 mmol/L pH 7,5, nitroprussiato de sódio 5 mmol/L, salicilato de sódio 300 mmol/L, estabilizantes e conservantes.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 104 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Número 4 - Oxidante Estoque** - conservar entre 2 e 8°C. Contém: hidróxido de sódio 1,5 mol/L e hipoclorito de sódio 10 mmol/L.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;
- 5 - Metais pesados e fluoreto (acima de 2 mg/dL) são inibidores da urease;
- 6 - Não fumar próximo ao local onde se realizam as dosagens, pois a fumaça contém vapores de amônia que contaminam a amostra, levando a valores falsamente aumentados;
- 7 - O Reagente Nº 4 é cáustico; manuseá-lo com cuidado. Os Reagentes No 2 e 3 contêm azida sódica, irritante para pele e mucosas;
- 8 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 9 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

#### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- banho-maria 37°C
- Pipetas e tubos de ensaio
- Balão volumétrico
- Relógio ou cronômetro
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

#### AMOSTRA

Soro, plasma (colhido com EDTA ou heparina) e urina. Não utilizar anticoagulantes contendo amônia.

A uréia é estável no plasma ou soro por 7 dias entre 2 e 8°C e 90 dias a 10°C negativos. Hemólise moderada e bilirrubina até 20 mg/dL não produzem alterações significativas nos resultados.



Para dosagem da uréia na urina, coletar amostra de 24 horas em frasco contendo 2,0 mL de HCl a 50% (V/V). Centrifugar a amostra antes de iniciar a técnica e proceder a análise dentro de poucas horas, pois a uréia excretada na urina é facilmente decomposta por ação bacteriana.

### PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

#### PREPARO DO TAMPÃO DE TRABALHO

Adicionar o conteúdo do Tampão estoque (100 mL) em 400 mL de água destilada ou deionizada e homogeneizar bem. Armazenar em frasco âmbar bem fechado. O tampão de trabalho é estável 12 meses entre 2 e 8°C.

#### PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Adicionar 1 parte do Reagente N° 2 (Enzima) em 20 partes do Tampão de Trabalho e homogeneizar bem. Exemplo: adicionar 1,0 mL do Reagente N° 2 em 20 mL do tampão de trabalho e homogeneizar. Conservar em frasco âmbar. Estável 20 dias, entre 2 e 8°C.

#### PREPARO DO OXIDANTE DE TRABALHO

Diluir o Reagente N° 4 em 450 mL de água destilada ou deionizada. Conservar em frasco plástico. Estável 12 meses entre 2 e 8°C.

### TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

#### Procedimento Manual

Marcar 3 tubos de ensaio como B (branco), A (amostra) e P(padrão), e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostr a
Amostra	---	---	10 µL
Reagente N° 1	---	10 µL	---
Reag. Trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Homogeneizar e colocar em banho-maria 37°C, por 5 minutos			
Oxidante de trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Homogeneizar e colocar em banho-maria 37°C, por 5 minutos			

Ler a absorbância da amostra e do padrão em 600 nm (570-610), acertando o zero com o branco. A cor é estável por 60 minutos.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 106 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Para dosagem de uréia na urina, seguir a técnica acima, utilizando amostra diluída 1 : 50 (100 µL de urina + 4,9 mL de água destilada ou deionizada ). Multiplicar o resultado obtido por 50.

### ***CÁLCULOS***

$$\text{Uréia ( mg/dL )} = \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 70}{\text{Absorbância do padrão}}$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão (70 mg/dL)}}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

### **Urina**

$$\text{Uréia (g/24h)} = \frac{\text{Abs. do teste} \times \text{Fator} \times 50 \times \text{Volume(L)}}{100}$$

Os resultados para soro ou plasma serão expressos em mg/dL e para urina em g/24 h.

### ***RESULTADOS***

Unidade de Medida: **soro ou plasma =mg/dL / urina = g/24 h**

**Fator de Conversão de Unidades (SI):** mg/dL x 0,166 = mmol/L

### ***VALORES DE REFERÊNCIA***

Os valores de referência para o presente método foram obtidos através da determinação de uréia em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro ou plasma.....15 a 40 mg/dL

Urina.....26 a 43 g/24h

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L (SI) multiplicar por 0,166.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

A contaminação da água, da vidraria, do ambiente e/ou da amostra com amônia pode levar a resultados falsamente elevados.

Algumas drogas, como aminoglicosídeos, cefalosporinas, alopurinol, metildopa, furosemida e propranolol, podem produzir interferências nos resultados, elevando os valores de uréia.

### ***INTERFERENTES***

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 107 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Não se aplica

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de uréia.

A média encontrada foi 0,0225 mg/dL, com desvio padrão de 0,0005 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,024 mg/dL.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até 250 mg/dL. Para amostras com valores de absorbância acima de 1,0, recomenda-se diluir a amostra com água destilada ou deionizada, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO CLÍNICO***

A uréia, principal produto do catabolismo das proteínas e aminoácidos, tem sua concentração sérica afetada pela dieta e pelo estado de hidratação, constituindo uma indicação grosseira do estado da função renal.

Valores aumentados de uréia plasmática podem ter causas pré-renais, renais ou pós-renais. Causa pré-renal: resultante de defeitos de excreção, observada na descompensação cardíaca, choque hemorrágico, desidratação aguda, catabolismo

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 108 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

protéico elevado (queimaduras, febre). Causa renal: consequência de doença renal aguda ou crônica (glomerulonefrite, pielonefrite, necrose tubular) com diminuição da filtração glomerular, podendo ser observado níveis plasmáticos de uréia de 300 mg/dL ou mais. Causa pós-renal: geralmente resultante de uma obstrução do trato urinário, podendo ocorrer nas litíases renais e nos tumores por compressão da bexiga. A diminuição da uréia sérica ocorre apenas em poucas situações, como na insuficiência hepática aguda, na inanição e no último trimestre da gravidez.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - BERTHELOT, M. P. E., Clin. Appl., 1968, 284.
- 2 - BALLETER, W. D. E.; BUSITMAN, C. S.; TIDWELL, P. W., Anal. Chim., 33-59.
- 3 - WINDMANN, F. K.; TURNER, K., Clin. Chem, 1987, 21:1754-1770.
- 4 - BERGMAYER, HU., Methods of Enzymatic Analysis, vol. 9, VCH Publishers, 1985, 449-453.

#### **TRANSAMINASE AST (TGO) CINÉTICA**

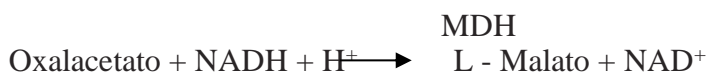
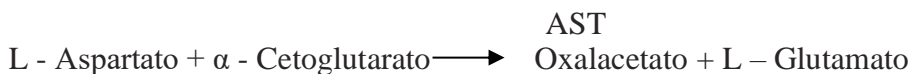
##### ○ **Aspartato Amino Transferase (AST ou TGO)**

Método para a determinação da Aspartato Amino Transferase (AST ou TGO). Teste cinético, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia :** Cinética (UV)

Determinação cinética (UV) da AST segundo a reação :



A AST catalisa a transferência de grupos amina do aspartato para o  $\alpha$  - Cetoglutarato, levando à formação de Glutamato e Oxalacetato. O Oxalacetato em presença do MDH reage com o NADH, reduzindo-se a Malato e o NADH oxida-se a  $\text{NAD}^+$ . A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da AST na amostra.

### **REAGENTE UTILIZADO**

**TRANSAMINASE AST (TGO) CINÉTICA      CATÁLOGO: K048 ANVISA:  
10269360119**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 109 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: [bioclin@bioclin.com.br](mailto:bioclin@bioclin.com.br)  
site: [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br)  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### COMPONENTES

**Reagente Nº 1** - Substrato - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Tris (pH 7,8), LDH, MDH, L-Aspartato, Azida Sódica, e estabilizante.

**Reagente Nº 2** - Coenzima - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Alfa-Cetoglutarato, NADH, Azida Sódica e estabilizante.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico in vitro profissional.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3- A água utilizada na limpeza do material e para o preparo do Reagente de Trabalho deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4- É importante, para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo, temperatura e pH.
- 5- O Reagente Nº 1 contém Azida Sódica, devendo ser manuseado com cuidado.
- 6- Amostras lipêmicas e ictéricas aumentam a absorbância em 340 nm. Neste caso, deve-se diluir a amostra 1:2 com Solução Salina. Multiplicar o resultado por 2.
- 7- Leituras de absorbância inferiores a 0,800 do Reagente de Trabalho, indicam perda do mesmo. Neste caso, não utilizar o reagente.
- 8- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 9- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
- 10- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- 11- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

#### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro termostatizado
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 110 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

#### **Procedimento Automatizado**

- Equipamento: Equipamento bioquímico automatizado
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

Inserir nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento; Fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

#### **AMOSTRA**

Soro ou plasma colhido com heparina, obtido livre de hemólise. A enzima sérica é estável durante 03 dias entre 2 e 8°C.

#### **TÉCNICA**

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

#### **Preparação do Reagente de Trabalho**

Misturar 4 partes do Reagente N° 1 com 1 parte do Reagente N° 2. O Reagente de Trabalho é estável 72 horas entre 15 e 30°C e 14 dias entre 2 e 8°C.

#### **Condições de reação**

É condição indispensável o uso de cubeta termostaticada a 37°C, caminho óptico de 1 cm e leitura em 340 nm (334 - 365 nm).

#### **Procedimento Manual**

##### **Técnica**

Adicionar 100 µL de Amostra a 1,0 mL do Reagente de Trabalho, misturar e transferir para cubeta termostaticada à 37°C e esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto ( $\Delta A/\text{min.}$ ) e utilizar para cálculo do resultado.

#### **Procedimento Automatizado**

Mencionar o manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar a programação dos reagentes para o equipamento automático.

#### **CÁLCULOS**

$$\begin{aligned} \text{AST (U/L)} \quad 340 \text{ nm} &= \Delta A/\text{min.} \times 1746 \\ &334 \text{ nm} = \Delta A/\text{min.} \times 1780 \\ &365 \text{ nm} = \Delta A/\text{min.} \times 3235 \end{aligned}$$

Os resultados serão expressos em U/L.

#### **RESULTADOS**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	<b>UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS</b>	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 111 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Unidade de Medida: **U/L**

**Fator de Conversão de Unidades (SI): NA**

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência em U/L para o presente método foram obtidos através da determinação de AST em populações sadias do sexo masculino e feminino.

<b>Idade</b>	<b>Masculino (U/L)</b>	<b>Feminino (U/L)</b>
1 - 7 dias	26 - 98	20 - 93
8 - 30 dias	16 - 67	20 - 69
1 - 6 meses	16 - 62	16 - 61
7 - 12 meses	16 - 52	16 - 60
1 - 3 anos	16 - 57	16 - 57
4 - 6 anos	10 - 47	10 - 47
7 - 15 anos	10 - 41	5 - 36
Adultos	11 - 39	10 - 37

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

### **LIMITAÇÕES DO PROCESSO**

O método cinético baseia-se na absorvidade molar, por essa razão as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições: Comprimento de onda 340 nm; Semi trajetória da banda de passagem 10 nm; Luz espúria menor que 0,5%; Cubeta de 1cm termostatizada.

### **INTERFERENTES**

Não se aplica.

### **SENSIBILIDADE**

A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta de Aspartato Amino Transferase. A média encontrada foi de 1,878 U/L com desvio padrão de 0,323 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do Método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão é igual a 2,847 U/L.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 112 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## ***LINEARIDADE***

A reação é linear até a concentração de 260 U/L. Para uma variação média na absorbância  $\square$  0,15 em 340 e 334 nm ou  $\square$  0,080 em 365 nm, repetir a determinação diluindo a amostra com NaCl 0,85%. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

## ***CONTROLE DA QUALIDADE***

### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

## ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

O aumento da atividade das enzimas Aspartato Amino Transferase - AST (de localização citomitocondrial) reflete alterações de vários tecidos. Esta enzima encontra-se em alta concentração no coração, fígado, músculo esquelético, rins e pâncreas. Sua atividade no plasma aumenta após 6 a 8 horas do infarto do miocárdio, alcançando um pico em 24 a 48 horas após o acometimento. Consideráveis aumentos ocorrem em hepatites virais, tóxicas, doenças necróticas hepáticas - 3 a 50 ou 100 vezes os valores de referência (VR), mononucleoses (20 vezes os VR), colestase intra - hepática (20 vezes os VR) e distrofias musculares (8 vezes os VR). Nas doenças hepáticas crônicas associadas à necrose celular, devido ao aumento de AST, pode ocorrer inversão da relação ALT (TGP)/AST.

## ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 113 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- 1 - The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology Scand J. Clin Lab Invest., 1974, 33, 291 - 306.
- 2 - BERGMEYER, Bowers and cols., Clin. Chim., Acta., 1.976, 70, 19 - 42, 1977, 21 - 22.
- 3 - BERGMEYER, HV.; SCHEIBE, P.; WAHLEFELD, A.W., Clin., Chem., 1.978, 24, 58 - 73.
- 4 - Expert Panel on Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry: Part 3. Revised IFCC Method for Aspartate Aminotransferase, Clin., Chem., 1.978, 24, 720.
- 5 - Scandinavian Committee on Enzymes Scand J. Clin Lab Invest, 1.981, 41, 107 - 116.
- 6 - BURTIS; CARL, A.; ASHWOOD; EDWARD, R., Clin. Chem., Tietz TEXT BOOK of; 2a ed., 1.986, 788 - 797.
- 7 - PESCE, A., J.; KAPLAN, L., A., Methods in Clin. Chem., 1.987.
- 8 - SOLDIN, S.J., BRUGNARA, C., WONG, E.C.: Pediatric Reference Intervals, 5.ed. Washington: AACC Press, 2005.p.3-4.

### **Transaminase ALT (TGP) Cinética**

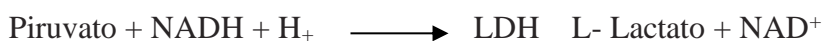
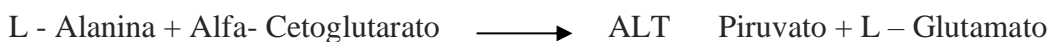
#### **FINALIDADE**

Método para a determinação da Alanina Amino Transferase (ALT ou TGP). Teste cinético, somente para uso diagnóstico in vitro.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Cinética (UV)

Determinação cinética ( UV ) da ALT, segundo a reação:



A ALT catalisa a transferência do grupamento Amina da Alanina para Alfa - Cetogluturato, levando à formação de Piruvato e Glutamato.

O Piruvato em presença do LDH reage com o NADH, reduzindo-se a Lactato e o NADH oxida-se a NAD+. A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da ALT na amostra.

#### **REAGENTE UTILIZADO**

**TRANSAMINASE ALT (TGP) CINÉTICA      CATÁLOGO: K049**  
**ANVISA: 10269360145**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 114 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: [bioclin@bioclin.com.br](mailto:bioclin@bioclin.com.br)  
site: [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br)  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### **COMPONENTES**

Número 1 - Substrato - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Hepes (pH 7,8), LDH, L-Alanina, Cloreto de Sódio, Azida Sódica e estabilizante.

Número 2 - Coenzima - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Alfa-Cetogluturato, NADH, Azida Sódica e estabilizante.

### **ESTABILIDADE**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### **CUIDADOS ESPECIAIS**

- 1- Somente para uso diagnóstico in vitro profissional.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3- A água utilizada na limpeza do material e para o preparo do Reagente de Trabalho deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4- É importante, para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo, temperatura e pH.
- 5- O Reagente Nº 1 contém Azida Sódica, devendo ser manuseado com cuidado.
- 6- Amostras lipêmicas e ictéricas aumentam a absorbância em 340 nm. Neste caso, deve-se diluir a amostra 1:2 com Solução Salina. Multiplicar o resultado por 2.
- 7- Leituras de absorbância inferiores a 0,800 do Reagente de Trabalho, indicam perda do mesmo. Neste caso, não utilizar o reagente.
- 8- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 9- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
- 10- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- 11- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

### **EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 115 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Procedimento Manual**

- Equipamento: Espectrofotômetro termostatzado
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- Biocontrol N e Bicontrol P Bioclin

### **Procedimento Automatizado**

- Equipamento: Equipamento bioquímico automatizado
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

Inserir nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento; Fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

### **AMOSTRA**

Soro ou plasma colhido com heparina, obtido livre de hemólise. A enzima sérica é estável durante 03 dias entre 2 e 8°C.

### **TÉCNICA**

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

### **Preparo do Reagente de Trabalho**

Misturar 4 partes do Reagente N° 1 com 1 parte do Reagente N° 2.

O Reagente de Trabalho é estável 72 horas entre 15 e 30°C e 14 dias entre 2 e 8°C.

### **Condições de reação**

É condição indispensável o uso de cubeta termostatzada a 37°C, caminho óptico de 1 cm e leitura em 340 nm (334 - 365 nm).

### **Procedimento Manual**

#### **Técnica**

Adicionar 100  $\mu$ L de Amostra a 1,0 mL do Reagente de Trabalho, misturar e transferir para cubeta termostatzada à 37°C e esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto ( $\Delta A/\text{min.}$ ) e utilizar para cálculo do resultado.

### **Procedimento Automatizado**

Mencionar o manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar a programação dos reagentes para o equipamento automático.

### **CÁLCULOS**

ALT (U/L) 340 nm =  $\Delta A/\text{min.} \times 1746$

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 116 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

334 nm =  $\Delta A/\text{min.} \times 1780$

365 nm =  $\Delta A/\text{min.} \times 3235$

Os resultados serão expressos em U/L.

## **RESULTADOS**

Unidade de Medida: **U/L**

**Fator de Conversão de Unidades (SI): NA**

## **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência em U/L para o presente método foram obtidos através da determinação de ALT em populações sadias do sexo masculino e feminino.

<b>Idade</b>	<b>Masculino (U/L)</b>	<b>Feminino (U/L)</b>
1 - 30 dias	20 - 54	21 - 54
1 - 6 meses	26 - 55	26 - 61
7 - 12 meses	26 - 59	26 - 55
1 - 3 anos	19 - 59	24 - 59
4 - 11 anos	24 - 49	24 - 49
12 - 15 anos	24 - 59	19 - 44
Adultos	5 - 38	5 - 38

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

## **LIMITAÇÕES DO PROCESSO**

O método cinético baseia-se na absorvibilidade molar, por essa razão as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições: Comprimento de onda 340 nm; Semi trajetória da banda de passagem 10 nm; Luz espúria menor que 0,5%; Cubeta de 1cm termostatizada.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 117 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### ***INTERFERENTES***

Não se aplica.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade do kit Transaminase ALT(TGP) Cinética foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta de Alanina Amino Transferase. A média encontrada foi de 0,638 U/L, com desvio padrão de 0,254 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais três vezes o desvio padrão, e é igual a 1,399 U/L.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até a concentração de 260 U/L. Para amostras com valores acima de 260 U/L recomenda-se diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 118 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

O aumento da atividade das enzimas Aspartato Amino Transferase - AST (de localização citomitocondrial) e Alanina Amino Transferase - ALT (de origem citoplasmática) reflete alterações de vários tecidos. A maior atividade da ALT está localizada no tecido hepático. Menores atividades ocorrem no músculo esquelético, coração, rins e pâncreas. Sua atividade encontra-se aumentada na hepatite viral e tóxica (30 - 50 ou 100 vezes os valores de referência - VR), bem como em outras doenças hepáticas (DH), associadas à necrose hepática. Nas DH crônicas associadas à necrose celular, devido ao aumento da liberação da AST - mitocondrial, pode haver inversão da relação ALT/AST. Ocorre, ainda, aumento de seus níveis na mononucleose infecciosa e nas colestases intra e extra - hepáticas.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- 1 - The Committee on Enzymes of the Scandinavian society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology Scand J. Clin Lab Invest., 1974, 33, 291 - 306.
- 2 - BERGMEYER, Bowers and cols., Clin. Chim., Acta., 1.976, 70, 19 - 42, 1977, 21 - 22.
- 3 - BERGMEYER, HV.; SCHEIBE, P.; WAHLEFELD, A.W., Clin., Chem., 1.978, 24, 58 - 73.
- 4 - Expert Panel on Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry : Part 3. Revised IFCC Method for Aspartate Aminotransferase, Clin., Chem., 1.978, 24, 720.
- 5 - Scandinavian Committee on Enzymes Scand J. Clin Lab Invest, 1.981, 41, 107 - 116.
- 6 - BURTIS; CARL, A.;ASHWOOD; EDWARD, R., Clin. Chem.,Tietz Text Book of; 2a ed., 1.986, 788 - 797.
- 7 - PESCE, A., J.; KAPLAN, L., A., Methods in Clin. Chem., 1.987.
- 8 - IFCC Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Alanine Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002; 40(7):718-24.
- 9 - Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Intervals, 5.ed.Washington: AACCC Press, 2005.p.3-4.

### **Transaminase TGO**

#### **FINALIDADE**

Método para a determinação da transaminase oxalacética (AST ou TGO). Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Reitmann e Frankel

A transaminase catalisa a transferência do grupamento amino de um alfa-aminoácido para um alfa-cetoácido.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 119 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

L - aspartato + Alfa-cetoglutarato  $\longrightarrow$  L - glutamato + oxalacetato.

O oxalacetato reage com a dinitrofenilhidrazina. A intensidade de coloração da hidrazona formada, em meio alcalino, é diretamente proporcional à quantidade de oxalacetato, em determinado tempo, que, por sua vez, é função da atividade enzimática.

#### REAGENTE UTILIZADO

**TRANSAMINASE TGO  
10269360139**

**CATÁLOGO: K034**

**ANVISA:**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

#### COMPONENTES

**Número 1 - Substrato** - conservar entre 2 e 8 °C. Contém: LDH MDH, L-aspartato, azida sódica, alfacetoglutarato, tampão Tris, pH 7,8 e estabilizante.

**Número 2 - Coenzima** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: NADH, azida sódica e estabilizante.

#### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

#### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4- Apesar dos substratos conterem um preservativo devem-se evitar contaminações bacterianas.
- 5- Devido a maior concentração de TGO nas hemácias, a hemólise prejudica o teste, fornecendo resultados falsamente elevados.
- 6- Manusear com cuidado os reagentes N°1 e N°4, que contêm azida sódica, pois são irritantes para pele e mucosas.
- 7- O Reagente N°3 é cáustico; evitar contato com a pele. O Reagente N°2 contém ácido e deve ser manipulado com cuidado, pois é irritante para pele e mucosas, podendo causar queimadura leve.
- 8- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 120 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

9- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

## EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Banho-maria (37°C)
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- Papel monolog ou milimetrado
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

### AMOSTRA

Soro ou plasma (colhido com heparina ou EDTA). O analito é estável 4 dias entre 2 e 8°C e 2 semanas à 10°C negativos.

### PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

#### PREPARO DO HIDRÓXIDO DE SÓDIO DE USO (0,4 N):

Transferir quantitativamente o conteúdo do frasco N°3 (40 mL) para um balão volumétrico de 500 mL e completar até a marca com água destilada ou deionizada livre de CO<sub>2</sub>. Homogeneizar bem e armazenar em frasco plástico. Estável em temperaturas entre 15 e 30°C.

### CURVA DE CALIBRAÇÃO

Não usar o método do fator para as dosagens de TGO, pois as absorbâncias não são diretamente proporcionais a atividade enzimática. Preparar com bastante rigor a curva de calibração descrita abaixo:

Tubo	Padrão	Substrato de TGO	Água destilada	TGO U/mL
1	- - -	1,0 mL	200 $\mu$ L	0
2	100 $\mu$ L	0,9 mL	200 $\mu$ L	24
3	200 $\mu$ L	0,8 mL	200 $\mu$ L	61
4	300 $\mu$ L	0,7 mL	200 $\mu$ L	114
5	400 $\mu$ L	0,6 mL	200 $\mu$ L	190

Adicionar a cada tubo 1,0 mL de Reagente de Cor N°2, homogeneizar e deixar em repouso por 20 minutos à temperatura ambiente. Opcionalmente, este tempo pode ser reduzido para 5 minutos, incubando em banho-maria a 56°C. Adicionar 10,0 mL de hidróxido de sódio de uso (0,4 N). Homogeneizar e deixar em repouso por 5 minutos. A cor permanece



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 121 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

estável por 60 minutos. Determinar as absorvâncias ou transmitâncias em 505 nm (490-540), acertando o zero com água destilada ou deionizada. Traçar a curva de calibração, colocando na ordenada os valores de absorvância (papel milimetrado) ou transmitância (papel monolog), e na abcissa, os valores de unidades/mL.

## **TÉCNICA**

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

### **Procedimento Manual**

Marcar os tubos de ensaio para dosagem da TGO e proceder como a seguir:

<b>TGO</b>	
<b>Substrato TGO N°1</b>	250 µL
Incubar a 37°C por 3 minutos	
<b>Amostra</b>	100 µL
Homogeneizar e incubar a 37°C por 30 minutos	
<b>Reagente N° 2</b>	250 µL
Homogeneizar e deixar em repouso por 20 minutos a temperatura ambiente ou por 5 minutos a 56° C	
<b>Hidróxido de sódio de uso</b>	2,5 mL

Homogeneizar por inversão e deixar em repouso por 5 minutos, à temperatura ambiente. Transferir para as cubetas e medir a absorvância ou transmitância em 505 nm (490-540), acertando o zero com água destilada ou deionizada. A cor é estável por 30 minutos. Calcular os valores de TGO através da curva de calibração. Se o resultado obtido for acima de 180 unidades, diluir a amostra com NaCl 0,85% e proceder nova determinação. O valor obtido deve ser multiplicado pelo fator de diluição.

### **CÁLCULOS**

Não se aplica.

### **RESULTADOS**

Unidade de Medida: **U/mL**

**Fator de Conversão de Unidades (SI):** U/mL x 0,482 = UI

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência, em U/mL, para o presente método foram obtidos através da determinação de TGO em populações sadias do sexo masculino e feminino.

TGO ..... 4 a 36 U/mL

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 122 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Para converter os valores de Unidades/mL em Unidades Internacionais (UI), multiplicar por 0,482.

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

Testar periodicamente a calibração para detectar alguma alteração na resposta do espectrofotômetro ou do colorímetro.

### ***INTERFERENTES***

Não se aplica.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade do Kit Transaminase Colorimétrica TGO Bioclin foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de TGO. A média encontrada foi de 6,3 U/mL, com desvio padrão de 1,13 U/mL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 3,39 U/mL.

### ***LINEARIDADE***

Não se aplica.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 123 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO CLÍNICO***

O aumento da atividade da enzima aspartato amino transferase - TGO/AST, de localização citomitocondrial, reflete alterações de vários tecidos. Esta enzima encontra-se em alta concentração no coração, fígado, músculo esquelético, rins e pâncreas; sua atividade no plasma aumenta 6 a 8 horas, após infarto do miocárdio, alcançando um pico em 24 a 48 horas, após o acometimento. Consideráveis aumentos ocorrem em hepatites virais, tóxicas, doenças necróticas hepáticas (3 a 50 vezes o Valor de Referência - VR), mononucleoses (20 vezes o VR), colestase intra-hepática (20 vezes o VR) e distrofias musculares (8 vezes o VR). Nas DH crônicas, associadas à necrose celular, devido ao aumento da liberação de AST (mitocondrial), pode ocorrer inversão da relação ALT/AST. Ocorre ainda aumento de seus níveis na mononucleose infecciosa e nas colestases intra e extra hepáticas.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

1. CABAL, P., LEEPER, R., WROBLEWISKI, F.: Am. J. Clin. Path. 26: 1101, 1956;
2. LA DUE, J. S., WROBLEWISKI, F., KARMEN, A.: Science 120:497, 01954;
3. MOHUN, A. F., COOK, I. J. Y.: Am. J. Clin. Path. 27:235, 1957;
4. WROBLEWISKI, F., CABAUD, P., Am. J. Clin. Path. 27:235, 1957;
5. TONKS, D. B.: Clin. Chem. 9: 217, 1983.

### **Transaminase TGP**

#### **FINALIDADE**

Método para a determinação da transaminase pirúvica (ALT ou TGP). Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Reitmann e Frankel

A transaminase catalisa a transferência do agrupamento amino de um alfa-aminoácido para um alfa-cetoácido.

L - Alanina + Alfa-cetoglutamato  $\longrightarrow$  L - Glutamato + Piruvato

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 124 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

O piruvato reage com a dinitrofenilhidrazina. A intensidade de coloração da hidrazona formada, em meio alcalino, é diretamente proporcional à quantidade de piruvato, em determinado tempo, que, por sua vez, é em função da atividade enzimática.

### REAGENTE UTILIZADO

**TRANSAMINASE TGP  
10269360140**

**CATÁLOGO: K035**

**ANVISA:**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### COMPONENTES

**Número 1 - Substrato de TGP ou ALT** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Fosfato 0,1 mol/L pH 7,4, L-Alanina 0,2 mol/L, Ácido Alfa Cetoglutárico 2 mmol/L e Azida Sódica 7,7 mmol/L.

**Número 2 - Reagente de Cor** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: 2,4-Dinitrofenilhidrazina 1,0 mmol/L e Ácido Clorídrico 1,0 mol/L.

**Número 3 - Hidróxido de Sódio Concentrado** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Hidróxido de Sódio 5 mol/L.

**Número 4 - Padrão** - Conservar entre 2 e 8°C. Homogeneizar bem antes de usar. Contém: Piruvato de Sódio 2,53 mmol/L, Tampão Fosfato 0,1 mol/L pH 7,4 e Azida Sódica 7,7 mmol/L.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4- Apesar dos substratos conterem um preservativo, devem-se evitar contaminações bacterianas.
- 5- Manusear com cuidado os reagentes N° 1 e N° 4, que contêm azida sódica, pois são irritantes para pele e mucosas.
- 6- O Reagente N° 3 é cáustico; evitar contato com a pele. O Reagente N° 2 contém ácido e deve ser manipulado com cuidado, pois é irritante para pele e mucosas, podendo causar queimadura leve.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 125 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

7- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

8- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

## EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Banho-maria (37°C)
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- Papel monolog ou milimetrado
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

### AMOSTRA

Soro ou plasma (colhido com heparina ou EDTA). O analito é estável 4 dias entre 2 e 8°C e 2 semanas à 10°C negativos.

## PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

### PREPARO DO HIDRÓXIDO DE SÓDIO DE USO (0,4 N)

Transferir quantitativamente o conteúdo do frasco N° 3 (40 mL) para um balão volumétrico de 500 mL e completar até a marca com água destilada ou deionizada livre de CO<sub>2</sub>. Homogeneizar bem e armazenar em frasco plástico. Estável em temperaturas entre 15 e 30°C.

## CURVA DE CALIBRAÇÃO

Não usar o método do fator para as dosagens de TGP, pois as absorbâncias não são diretamente proporcionais a atividade enzimática. Preparar com bastante rigor a curva de calibração descrita abaixo:

Tubo	Padrão	Substrato de TGP	Água destilada	TGP U/mL
1	- - -	1,0 mL	200 µL	0
2	100 µL	0,9 mL	200 µL	28
3	200 µL	0,8 mL	200 µL	57
4	300 µL	0,7 mL	200 µL	97
5	400 µL	0,6 mL	200 µL	150

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	<b>UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS</b>	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 126 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Adicionar a cada tubo 1,0 mL de Reagente de Cor Nº 2, homogeneizar e deixar em repouso por 20 minutos à temperatura ambiente. Opcionalmente, este tempo pode ser reduzido para 5 minutos, incubando em banho-maria a 56°C. Adicionar 10,0 mL de hidróxido de sódio de uso (0,4 N). Homogeneizar e deixar em repouso por 5 minutos. A cor permanece estável por 60 minutos. Determinar as absorvâncias ou transmitâncias em 505 nm (490 - 540 nm), acertando o zero com água destilada ou deionizada. Traçar a curva de calibração, colocando na ordenada os valores de absorvância (papel milimetrado) ou transmitância (papel monolog), e na abcissa, os valores de unidades/mL.

### **TÉCNICA**

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

### **Procedimento Manual**

Marcar os tubos de ensaio para dosagem da TGP e proceder como a seguir:

<b>TGP</b>	
<b>Substrato TGP Nº1</b>	250 µL
Incubar a 37°C por 3 minutos	
<b>Amostra</b>	50 µL
Homogeneizar e incubar a 37°C por 30 minutos	
<b>Reagente Nº 2</b>	250 µL
Homogeneizar e deixar em repouso por 20 minutos a temperatura ambiente ou por 5 minutos a 56° C	
<b>Hidróxido de sódio de uso</b>	2,5 mL

Homogeneizar por inversão e deixar em repouso por 5 minutos, à temperatura ambiente. Transferir para as cubetas e medir a absorvância ou transmitância em 505 nm (490-540), acertando o zero com água destilada ou deionizada. A cor é estável por 30 minutos. Calcular os valores de TGO através da curva de calibração. Se o resultado obtido for acima de 180 unidades, diluir a amostra com NaCl 0,85% e proceder nova determinação. O valor obtido deve ser multiplicado pelo fator de diluição.

### **CÁLCULOS**

Não se aplica.

### **RESULTADOS**

Unidade de Medida: **U/mL**

**Fator de Conversão de Unidades (SI):** U/mL x 0,482 = UI

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 127 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Os valores de referência, em U/mL, para o presente método foram obtidos através da determinação de TGP em populações sadias do sexo masculino e feminino.

TGP ..... 4 a 32 U/mL

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

Para converter os valores de unidades/mL em unidades internacionais (UI), multiplicar por 0,482.

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

Testar periodicamente a calibração para detectar alguma alteração na resposta do espectrofotômetro ou do colorímetro.

### ***INTERFERENTES***

Não se aplica.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade do Kit Transaminase TGP Bioclin foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de TGP. A média encontrada foi de 3,389 U/mL, com desvio padrão de 0,012 U/mL. A sensibilidade corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 3,424 U/mL.

### ***LINEARIDADE***

Não se aplica.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 128 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO CLÍNICO***

O aumento da atividade da enzima alanina amino transferase - TGP/ALT (de origem citoplasmática) reflete as alterações de vários tecidos. A maior atividade desta enzima está localizada no tecido hepático. Menores atividades ocorrem no músculo esquelético, coração, rins e pâncreas. Sua atividade encontra-se aumentada na hepatite viral e tóxica (30-50 ou 100 vezes o VR), bem como em outras doenças hepáticas (DH), associadas à necrose hepática. Nas DH crônicas, associadas à necrose celular, devido ao aumento da liberação de AST (mitocondrial), pode ocorrer inversão da relação ALT/AST. Ocorre, ainda, aumento de seus níveis na mononucleose infecciosa e nas colestases intra e extra hepáticas.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- 1 - CABAL, P., LEEPER, R., WROBLEWISKI, F.: Am. J. Clin. Path. 26: 1101, 1956;
- 2 - LA DUE, J. S., WROBLEWISKI, F., KARMEN, A.: Science 120:497, 01954;
- 3 - MOHUN, A. F., COOK, I. J. Y.: Am. J. Clin. Path. 27:235, 1957;
- 4 - WROBLEWISKI, F., CABAUD, P., Am. J. Clin. Path. 27:235, 1957;
- 5 - TONKS, D. B.: Clin. Chem. 9: 217, 1983.

### **Magnésio Monoreagente**

#### **FINALIDADE**

Método para a determinação do Magnésio. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Mann Yoe.

O corante de Mann e Yoe em pH alcalino e em presença de Magnésio desenvolve coloração vermelha. A intensidade de cor vermelha do complexo é proporcional à concentração de Magnésio. O método não requer desproteinização, sendo mais sensível do que o método do Amarelo de Titan, permitindo assim o uso de somente 20 microlitros da amostra a ser analisada, o que torna esta técnica excelente para uso em



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 129 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

pediatria. Além de sua simplicidade, o método não sofre interferência do Gluconato de cálcio. A presença de agentes tensoativos elimina a interferência de soros lipêmicos.

### REAGENTE UTILIZADO

**MAGNÉSIO MONOREAGENTE CATÁLOGO: K116**  
**10269360192**

**ANVISA:**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### COMPONENTES

**Número 1 - Reagente de Cor** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tetraborato de sódio 30 mmol/L; Magon sulfonado 2,8 mmol/L; solubilizante e conservante.

**Número 2 - Padrão** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Magnésio 2 mg/dL.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 6 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

#### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 130 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

#### **Procedimento Automatizado**

- Equipamento: Aparelhos automáticos de bioquímica
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

Inserir nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento; Fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

#### **AMOSTRA**

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com heparina, líquor e urina de 24 horas. O Magnésio é estável na amostra por 24 horas entre 15 e 30°C e 15 dias entre 2 e 8°C.

#### **PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO**

Os reagentes estão prontos para uso.

#### **TÉCNICA**

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

#### **Procedimento Manual**

Marcar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Reagente N° 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Amostra	-----	-----	10 µL
Reagente N° 2	-----	10 µL	-----

Homogeneizar bem e ler as absorbâncias do Padrão e da Amostra em 500 nm, acertando o zero com o Branco. A cor é imediata e estável por 30 minutos.

#### **Urina de 24 horas - Preparo da amostra:**

Homogeneizar a urina e medir seu volume. Adicionar 1 gota de HCl concentrado em 20mL desta urina. Diluir 1,0mL da urina acidificada com 4,0mL de água destilada (diluição 1:5). Homogeneizar bem por agitação e proceder a determinação de Magnésio do mesmo modo proposto para o soro. Multiplicar o resultado obtido por 5 (fator de diluição).

#### **Procedimento Automatizado**

Mencionar o manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar a programação dos reagentes para o equipamento automático.

#### **CÁLCULOS**

##### **Soro**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 131 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

$$\text{Magnésio (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 2}{\text{Absorbância do padrão}}$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão (2 mg/dL)}}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

### **Urina**

$$\text{Magnésio (mg/24 h)} = \frac{\text{mg/dL} \times \text{Volume urinário (mL)}}{100}$$

## **RESULTADOS**

**Unidade de Medida:** Soro: mg/dL; Urina: mg/24 h

**Fator de Conversão de Unidades (SI):** mg/dL x 0,41 = mmol/L

## **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Magnésio em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro ou plasma..... 1,6 a 2,4 mg/dL

Líquor..... 2,4 a 3,4 mg/dL

Urina..... 32 a 150 mg/24h

(varia com a alimentação)

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L (SI) multiplicar por 0,41. Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

## **LIMITAÇÕES DO PROCESSO**

O uso de amostras hemolisadas pode levar a resultados falsamente elevados, porque as hemácias contêm 3 vezes mais Magnésio do que o soro ou plasma.

## **INTERFERENTES**

Não se aplica.

## **SENSIBILIDADE**

O estudo de sensibilidade ou limite de detecção foi realizado através da dosagem de uma amostra isenta do analito (Magnésio). Foram realizadas 20 dosagens consecutivas e

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 132 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

à média encontrada somou-se 3 vezes o desvio padrão da média. A média encontrada foi de 0,0262 mg/dL, o desvio padrão 0,0007 mg/dL e a sensibilidade (Média + 3DP) 0,0283 mg/dL.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até a concentração de 5,0 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com NaCl 0,85%, repetir a determinação e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

O Magnésio é um eletrólito encontrado principalmente nos líquidos intracelulares e ossos. Participa como cofator em vários sistemas enzimáticos, no metabolismo dos carboidratos, contração muscular, coagulação sanguínea e é indispensável na preservação da estrutura molecular do DNA, RNA e ribossomos. Níveis de Magnésio diminuídos no plasma estão associados com tetania, fraqueza, desorientação e sonolência, que refletem a deficiência do Magnésio ionizado. Quadros clínicos de convulsões associados a hipocalcemia e hipomagnesemia, atribuídos a um defeito seletivo de absorção intestinal do Magnésio, acentuam a importância da dosagem deste íon em pediatria. As causas mais frequentes de concentrações baixas de Magnésio são: diarreia crônica, pancreatite aguda, alcoolismo, hepatite crônica, diabetes mellitus, hipoparatiroidismo, hipertireoidismo, hiperaldosteronismo. A hipermagnesemia,

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 133 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

embora rara, pode ser registrada nos casos de insuficiência renal, desidratação grave, tratamento intensivo com sais de Magnésio.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - MANN, C. K. & Yoe, J. H.: Ann. Chem. 28:202, 1956.
- 2 - MANN, C. K. & Yoe, J. H.: Anal. Chim. Acta. 16:155, 1957.
- 3 - RICE, E. W. & LAPARA, C. Z.: Clin. Chim. Acta. 10:260, 1964.
- 4 - WEISSMANN, N. & PILEGGI, V. J. (1974) in Clinical Chemistry Principles and Technics 2nd. Ed. Henry R., Cannon, D. C. e Winkelman, J. W. p. 678. Haper and Row Publishers.
- 5 - TONKS, D. B., Clin. Chem. 9:217, 1963.
- 6- Bioclin – Dados de arquivo.

## **Fosfatase Alcalina**

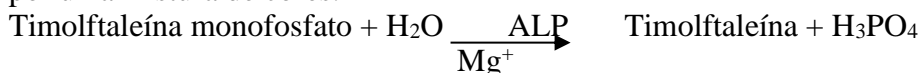
### **FINALIDADE**

Método para a determinação da Fosfatase Alcalina. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Roy Modificado.

A Fosfatase Alcalina presente na amostra hidrolisa o substrato de timolftaleína monofosfato, liberando timolftaleína e fosfato inorgânico, em um tempo pré-determinado de 10 minutos. A atividade enzimática é proporcional à quantidade de timolftaleína formada, que é medida colorimetricamente. Com a adição do Reagente de Cor, a reação enzimática é inativada e a timolftaleína adquire cor azul. Como o substrato e o produto da reação apresentam cores diferentes, em meio alcalino, a coloração final é constituída por uma mistura de cores.



### **REAGENTE UTILIZADO**

**FOSFATASE ALCALINA  
10269360104**

**CATÁLOGO: K019**

**ANVISA:**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 134 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### COMPONENTES

**Número 1 - Substrato** - conservar entre 15 e 30°C. Após o manuseio conservar entre 2 e 8°C em frasco bem vedado para evitar evaporação. O reagente pode apresentar turvação ou precipitado, fato que não interfere na sua qualidade. Agitar antes de usar. Contém: Timolftaleína monofosfato 40 mmol/L, solubilizante e estabilizador.

**Número 2 - Tampão** - conservar entre 15 e 30°C. Após o uso, fechar o frasco para evitar contaminação com CO<sub>2</sub> do ar. Contém: Dietanolamina 0,3 mol/L pH 9,9, Citrato de sódio 10 mmol/L, surfactante e ativador.

**Número 3 - Reagente de Cor** - conservar entre 15 e 30°C. Contém: Carbonato de sódio 150 mmol/L e Hidróxido de sódio 100 mmol/L.

**Número 4 - Padrão 40 UI** - conservar entre 15 e 30°C. Após o manuseio conservar entre 2 e 8°C em frasco bem vedado para evitar evaporação. Contém: Timolftaleína 0,4 mmol/L (40 UI) e solubilizante.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;
- 5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio;
- 6 - O Reagente N° 3 deve ser manuseado com cuidado, pois apresenta ação corrosiva;
- 7 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 8 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

#### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro termostaticado
- Banho-maria 37°C
- Pipetas e tubos de ensaio

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 135 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Relógio ou cronômetro

### AMOSTRA

Soro ou plasma (heparina) obtido livre de hemólise. O analito é estável 07 dias entre 2 e 8°C e 30 dias a 10°C negativos.

### PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Os reagentes são prontos para uso.

### TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

### Procedimento Manual

Marcar 3 tubos de ensaio com as letras B (Branco), P (Padrão), A (Amostra) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Reagente N° 1	50 µL	50 µL	50 µL
Reagente N° 2	500 µL	500 µL	500 µL
Reagente N° 4	-----	50 µL	-----
Incubar a 37°C por 2 minutos.			
Amostra	-----	-----	50 µL
Homogeneizar e incubar a 37°C por exatamente 10 minutos.			
Reagente N° 3	2,0 mL	2,0 mL	2,0 mL

Homogeneizar bem e determinar a absorbância da Amostra e do Padrão em 578 nm (570 - 590), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 60 minutos.

### CÁLCULOS

$$\text{Fosfatase Alcalina (U/L)} = \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 40}{\text{Absorbância do padrão}}$$

Como a reação de cor segue a lei de Lambert Beer, pode-se usar o Fator de calibração:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração padrão (40 U/L)}}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{U/L} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

### RESULTADOS

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 136 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Unidade de Medida: **U/L**

### ***VALORES DE REFERÊNCIA***

Os valores de referência em U/L, para o presente método, foram obtidos através da determinação da Fosfatase Alcalina em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Adultos: 12 a 43 U/L

Crianças até 12 anos: 56 a 156 U/L

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

A metodologia não pode ser adaptada em aparelhos de automação.

### ***INTERFERENTES***

Não utilizar amostras hemolisadas ou lipêmicas, pois tais amostras podem elevar falsamente os resultados.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de fosfatase. A média encontrada foi 0,419 U/L, com desvio padrão de 0,004 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,429 U/L.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até 500 U/L. Para valores maiores, diluir o soro com Cloreto de sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 137 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO CLÍNICO***

A Fosfatase Alcalina está presente em altas concentrações nos ossos, fígado, intestino e placenta. Constitui um útil indicador de doenças hepáticas e de doenças ósseas associadas com hiperatividade osteoblástica.

Condições em que a Fosfatase Alcalina está aumentada: nas doenças hepáticas e do trato biliar, na metástase do fígado e metástase óssea, na acromegalia, no hipertireoidismo, no raquitismo, na mononucleose infecciosa, na doença de Paget (atividade osteoblástica) e no crescimento ósseo fisiológico.

Valores diminuídos da Fosfatase Alcalina podem ser observados no hipotireoidismo, retardo de crescimento nas crianças, hipofosfatasia (erro metabólico inato), desnutrição grave.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- 1 - COLEMAN, C. M.; STROJE, R. C.: Clin. Chem. Acta 13: 401, 1966.
- 2 - ROY, A. V.: Clin. Chem. 16:431, 1970.
- 3 - ZAK, B.: Clin Chim. Acta 3: 328, 1958.
- 4 - BRITTENHAM, G.: Clin Chim. Acta. 91: 203, 1979.
- 5 - TONKS, D. B.: Chim. Acta 2: 393, 1983.
- 6 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2nd ed., 1994, 1942-1943.

## **Fósforo**

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

Metodologia: Colorimétrica.

O Fósforo inorgânico reage com o Molibdato de amônio (Reagente N° 2), formando Fosfomolibdato de amônio, que posteriormente é reduzido a azul de molibdênio, cuja intensidade de cor desenvolvida é proporcional à concentração de Fósforo presente na amostra.

### **AMOSTRA**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 138 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Preparo do Paciente**

Colher sangue pela manhã após jejum de 8 horas, salvo orientações médicas.

### **Amostras utilizadas**

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com heparina e urina de 24 horas

### **Estabilidade e armazenamento da amostra**

A amostra é estável por 7 dias entre 2 e 8 °C. O soro ou plasma devem ser separados até uma hora após a colheita, devido à liberação de Fósforo hemático.

A acidificação com HCl conserva a urina por 15 dias em temperatura entre 2 e 8 °C.

### **Volume ideal utilizado para análise**

(Definir o volume ideal a ser encaminhado para análise).

### **Volume mínimo utilizado para análise**

(Definir o volume mínimo a ser encaminhado para análise).

### **Critérios para rejeição da amostra**

Não usar amostras com fortes sinais de hemolise e nem com presença de

contaminação bacteriana.

Fazer referência ao manual ou POP de coleta, separação e distribuição de material.

### **REAGENTE UTILIZADO**

**FÓSFORO**

**CATÁLOGO: K020**

**ANVISA: 10269360117**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Tel.: (31) 3427.5454 - Fax (31) 3427.2999

e-mail: [sac@bioclin.com.br](mailto:sac@bioclin.com.br)

site: [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br)

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### **Componentes do kit**

**Número 1 - Redutor** - conservar entre 15 e 30°C. Contém:

Ácido ascórbico 55 mmol/L e estabilizante.

**Número 2 - Molibdato** - conservar entre 15 e 30°C. Contém:

Molibdato de amônio 20 mmol/L.

**Número 3 - Reagente Alcalino** - conservar entre 15 e 30°C.

Contém: Hidróxido de sódio 8 mol/L.

**Número 4 - Padrão** - conservar entre 15 e 30°C. Contem:

Fósforo 5,0 mg/dL

### **Estabilidade**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 139 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;
- 5 - Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes;
- 6 - Usar conta-gotas na posição vertical, a fim de que as gotas caiam sobre o reagente;
- 7 - Plasma citratado ou oxalatado fornece resultado 5% menor que o soro;
- 8 - Consulte a bibliografia para obter dados de substâncias interferentes (p. ex. antiácidos alcalinos, vitamina D, metilina, tetraciclina, hidróxido de alumínio, insulina, etc.);
- 9 - Em locais com temperaturas elevadas, é aconselhável fazer as determinações com os tubos em banho de água;
- 10 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.

## EQUIPAMENTOS

### Técnica Manual

Condições de Reação

Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro

Leitura: Comprimento de onda 650 nm (640-670)

Banho - maria a 37 °C

Pipetas para medir amostras e reagentes

Cronômetro

## PROCEDIMENTO

### Procedimento Manual

Marcar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Água destilada	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Amostra	—	—	100 µL
Reagente No 4	—	100 µL	—
Reagente No 1	1 gota	1 gota	1 gota
Reagente No 2	1 gota	1 gota	1 gota
Homogeneizar bem e aguardar 2 minutos. Adicionar:			
Reagente No 3	2 gotas	2 gotas	2 gotas

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 140 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Agitar deixar em repouso por 5 minutos (cronometrar). Efetuar as leituras a 650 nm (640 - 670), acertando o zero com o tubo “B” (Branco). A reação de cor é estável por 5 minutos.

Para dosagem na urina : homogeneizá-la, separar 10 Ml acertar o pH entre 1 e 3 com HCl concentrado. No momento de realizar a técnica, diluir a urina 1:10 com água destilada

ou deionizada, multiplicar o resultado encontrado por 10.

### ***CÁLCULOS***

#### **Soro**

$$\text{Fósforo (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 5$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão (5 mg/dL)}}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

Os resultados serão expressos em mg/dL.

#### **Urina**

$$\text{Fósforo (mg/24 h)} = \frac{(\text{mg/dL}) \times \text{Volume urinário (mL)}}{100}$$

$$\text{Fosfolípides} = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 125$$

Os valores de fosfolípides são expressos em mg/dL de lecitina.

### ***RESULTADOS***

Unidade de Medida: **mg/dL**

**Fator de Conversão de Unidades (mg/dL para SI):** mg/dL de Fosforo x 0,322= mmol/L de Fosforo

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 141 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***VALORES DE REFERÊNCIA***

Os valores de referência em mg/dL, para o presente método foram obtidos através da determinação de Fósforo em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro Adultos.....	2,5 a 4,8 mg/dL
Crianças.....	3,0 a 7,0 mg/dL
Urina .....	340 a 1.000 mg/24 horas
Fosfolípides (em lecitina).....	125 a 300 mg/dL

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### ***SIGNIFICADO CLÍNICO***

A homeostase do Fósforo é mantida principalmente pela função renal, absorção intestinal, metabolismo ósseo e função da glândula paratireóide. O Fósforo possui função na composição óssea, no equilíbrio ácido-básico, no metabolismo de gorduras e carboidratos, além de estar presente na formação de compostos como os ácidos nucleicos.

Podemos observar valores aumentados de fósforo nas seguintes condições: insuficiência renal (tuberculose renal, glomerulonefrite crônica, hidronefrose, pielonefrite), hipoparatiroidismo, excesso de vitamina D.

A diminuição do nível de Fósforo provém de diversas causas como: hipovitaminose D (raquitismo, osteomalácia), ingestão de antiácidos, doenças do fígado, síndrome de Fanconi, hiperparatiroidismo, uso de diuréticos tiazídicos.

### ***LINEARIDADE***

#### **Linearidade**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 142 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

A reação de cor é linear até a concentração de 13 mg/dL.  
Para valores maiores, diluir a amostra com água destilada ou deionizada, efetuar nova determinação e multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição.

### **LIMITAÇÕES DO MÉTODO**

O desenvolvimento de cor azulada no tubo Branco indica que a água utilizada é de má qualidade, devendo ser analisada com critério.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - BAGINSKI, E. S.: Amer J. Med. Tec., 35: 475, 1969.
- 2 - GODWIN, J. F., Clin. Chem., 16: 776, 1970.
- 3 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 9 – 217, 1963.
- 4 - CHRISTIAN, D. G.: Amer. J. Clin. Pathol. 54: 118, 1979.

## **Ferro Sérico**

### **FINALIDADE**

Método para a determinação do Ferro Sérico. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Goodwin Modificado.

O Ferro é liberado da Transferrina em meio ácido e reduzido ao seu estado ferroso por ação da hidroxilamina. Posteriormente, reage com Ferrozine levando à formação de um complexo de cor violácea.

### **REAGENTE UTILIZADO**

**FERRO SÉRICO                      CATÁLOGO: K017                      ANVISA: 10269360110**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### **COMPONENTES**

**Reagente N° 1 - Tampão Redutor** - conservar entre 15 e 30°C. Contém: Ácido Succínico 250 mmol/L, Hidroxilamina 140 mmol/L, surfactante e estabilizador.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 143 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Reagente Nº 2 - Reagente de Cor** - conservar entre 15 e 30°C. Contém: Ferrozine 12 mmol/L em solução de ácido acético glacial.

**Reagente Nº 3 - Padrão** - conservar entre 15 e 30°C. Contém: Ferro 100 mg/dL.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.
- 6 - Hemólise, mesmo discreta, interfere na dosagem.
- 7 - Não usar plasma.
- 8 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 9 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

#### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Banho-maria 37°C
- Pipetas e tubos de ensaio
- Relógio ou cronômetro
- Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin

### AMOSTRA

Soro obtido livre de hemólise, estável 07 dias entre 2 e 8°C. Amostras para controle terapêutico devem ser colhidas sempre no mesmo horário.

### PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Os reagentes estão prontos para uso.

### TÉCNICA

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 144 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

### Procedimento Manual

Marcar 3 tubos de ensaio com as letras B (Branco), P (Padrão), A (Amostra) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Reagente N° 1	2,0 mL	2,0 mL	2,0 mL
Água Destilada	500 µL	-----	-----
Amostra	-----	-----	500 µL
Reagente N° 3	-----	500 µL	-----

Homogeneizar suavemente e determinar a absorvância da Amostra em 560 nm (540 - 580), acertando o zero com o Branco. Esta será a absorvância **A1**.

Em seguida adicionar:

	Branco	Padrão	Amostra
Reagente N° 2	1 gota	1 gota	1 gota

Homogeneizar suavemente e incubar em banho-maria 37°C, por 10 minutos. Determinar as absorvâncias da Amostra e do Padrão em 560 nm (540-580), acertando o zero com o Branco. A absorvância da amostra será **A2**.

### CÁLCULOS

#### Cálcio Sérico:

$$\text{Ferro sérico (mg/dL)} = \frac{(A2 - A1)}{\text{Abs. do Padrão}} \times 100$$

Como a reação de cor segue a Lei de Lambert Beer, pode-se usar o Fator de Calibração:

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{100}{\text{Absorvância do Padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = (A2 - A1) \times \text{Fator de Calibração}$$

### RESULTADOS

**Unidade de Medida:** mg/dL

**Fator de Conversão de Unidades (SI):** mg/dL x 0,179 = mmol/L

### VALORES DE REFERÊNCIA



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 145 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Os valores de referência em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação do Ferro em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro: 50 a 150 mg/dL

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L, multiplicar por 0,179.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

A utilização de água contaminada por Ferro aumentará a intensidade da cor do Branco, alterando os resultados.

Algumas drogas podem elevar os níveis de Ferro Sérico como: cloranfenicol, estrógenos, etanol, metotrexate e anovulatórios. Outras drogas podem diminuir os níveis do Ferro sérico como: aspirina (em altas doses) alopurinol, cortisona, corticotropina.

### ***INTERFERENTES***

Não se aplica.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de Ferro. A média de 1,1506mg/dL com desvio padrão de 0,0005 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do Método, corresponde a média mais 3 vezes o Desvio Padrão e é igual a 1,1521 mg/dL.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até 600 mg/dL. Para valores maiores que 600 mg/dL, diluir o soro com água destilada, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 146 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.  
Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### **SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO**

O Ferro representa o metal de transição mais importante e abundante do organismo humano. É essencial à síntese de hemoglobina e mioglobina, além de estar presente em várias reações bioquímicas do nosso metabolismo.

O Ferro Sérico encontra-se elevado nas anemias sideroblásticas, anemias hemolíticas, anemias hereditárias (Talassemia Maior), hepatite aguda, moléstias crônicas do fígado, hemocromatose, transfusões maciças de sangue.

Baixos níveis de Ferro Sérico são encontrados nas infecções crônicas, neoplasias, parasitoses, período menstrual, grandes hemorragias, gestação, deficiências alimentares.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - PETERS T., et coll.: J. Lab and Clin Med. 48:280,1956.
- 2 - HENRY, R. J., Cannon. D. C. and Winkleman, J. W., eds.: Clinical Chemistry: Principles and Technics, Haper and Row Publishers, 1974.
- 3 - ZAK, B.: Clin Chim. Acta 3: 328, 1958.

## **Bilirrubina**

### **FINALIDADE**

Método para determinação da bilirrubina direta e total. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Sims - Horn.

A bilirrubina, através da reação de acoplamento com o ácido sulfanílico diazotado forma um complexo de coloração vermelha (azobilirrubina). A bilirrubina total (direta e indireta) é dosada em presença de um acelerador (cafeína e benzoato), que permite a solubilização da bilirrubina indireta (não conjugada), insolúvel em água. A bilirrubina direta (conjugada) é dosada em meio aquoso.

### **REAGENTE UTILIZADO**

**BILIRRUBINA**

**CATÁLOGO: K005**

**ANVISA: 10269360083**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 147 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.**  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### COMPONENTES

**Número 1 - Nitrito de sódio** - conservar entre 15 e 30°C. Contém: nitrito de sódio 70 mmol/L.

**Número 2 - Reagente sulfanílico** - conservar entre 15 e 30°C. Contém: ácido sulfanílico 6 mmol/L, ácido clorídrico 130 mmol/L.

**Número 3 - Acelerador** - conservar entre 15 e 30°C. Contém: cafeína 0,2 mmol/L, benzoato de sódio 0,4 mol/L, acetato de sódio 0,7mol/L.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5 - A calibração deve ser repetida periodicamente para verificar alguma alteração na resposta do colorímetro ou do espectrofotômetro.
- 6 - Hemólise, mesmo discreta, interfere na dosagem.
- 7 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 8 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

#### Procedimento Manual

- Equipamento: Espectrofotômetro ou colorímetro
- Pipetas e tubos de ensaio

- Relógio ou cronômetro
- kit Bilirrubina Calibração Bioclin

**AMOSTRA**

Soro livre de hemólise. O analito é estável 03 dias quando a amostra armazenada entre 2 e 8°C e protegida da luz. A amostra para controle terapêutico deve ser colhida sempre no mesmo horário.

**PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO****PREPARO DO DIAZO REAGENTE**

Adicionar 1 gota do reagente Nº 1 a 1,5 mL do reagente Nº 2. Homogeneizar bem e usar somente no dia do seu preparo.

**TÉCNICA****Procedimento Manual****TÉCNICA MACRO**

Rotular 3 tubos de ensaio como “B” (branco), “BD” (bilirrubina direta) e “BT” (bilirrubina total), e proceder como a seguir:

	<b>Branco</b>	<b>BD</b>	<b>BT</b>
<b>Reagente Nº2</b>	500 µL	-----	-----
<b>Diazo reagente</b>	-----	500 µL	500 µL
<b>Água destilada</b>	4,5 mL	4,5 mL	-----
<b>Reagente Nº3</b>	-----	-----	4,5 mL
<b>Amostra</b>	300 µL	300 µL	300 µL

Homogeneizar por agitação, esperar 5 minutos e ler as absorvâncias das bilirrubinas direta e total em 525 nm (500 - 540), ajustando o zero com o branco. A cor permanece estável por 30 minutos.

Os valores em mg/dL para as bilirrubinas direta e total são obtidos utilizando o Fator de Calibração MACRO, obtido com o Kit Bilirrubina Calibração **Bioclin**.

**TÉCNICA MICRO**

Utilizada para dosagem de bilirrubina com concentração superior a 10 mg/dL (soro de recém-nascidos ictericos).

Usar micropipeta de 0,05 mL para pipetar o soro.

Rotular 3 tubos de ensaio como na Técnica Macro e proceder como a seguir:

	<b>Branco</b>	<b>BD</b>	<b>BT</b>
<b>Reagente Nº2</b>	150 µL	-----	-----
<b>Diazo reagente</b>	-----	150 µL	150 µL
<b>Água destilada</b>	1,8 mL	1,8 mL	-----

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 149 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

<b>Reagente N°3</b>	-----	-----	1,8 mL
<b>Amostra</b>	50 µL	50 µL	50 µL

Homogeneizar por agitação, esperar por 5 minutos e ler as respectivas absorvâncias das bilirrubinas direta e total em 525 nm (500 - 540), ajustando o zero com o branco. A cor é estável por 30 minutos.

Os valores em mg/dL para as bilirrubinas direta e total são obtidos utilizando o Fator de Calibração MICRO, obtido com o Kit Bilirrubina Calibração **Bioclin**.

### **CÁLCULOS**

Utilizando o kit Bilirrubina Calibração Bioclin, efetuar o cálculo do fator. Realizar cálculos distintos para a técnica Macro e para a técnica Micro.

Fator de calibração =  $\frac{\text{Concentração do padrão (10 mg/dL)}}{\text{Absorvância do padrão (média)}}$

$\text{mg/dL} = \text{Absorvância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$

Bilirrubina indireta = Bilirrubina total – Bilirrubina direta.

#### **Exemplo:**

Absorvância média do padrão = 0,480

Absorvância da amostra p/ bilirrubina total = 0,045

Absorvância da amostra p/ bilirrubina direta = 0,012

Fator de Calibração =  $\frac{10 \text{ mg/dL}}{0,480} = 20,83$

Bilirrubina total mg/dL =  $0,045 \times 20,83 = 0,93$

Bilirrubina direta mg/dL =  $0,012 \times 20,83 = 0,25$

Bilirrubina indireta =  $0,93 - 0,25 = 0,68$

### **RESULTADOS**

Unidade de Medida: **mg/dL**

**Fator de Conversão de Unidades (SI):**  $\text{mg/dL} \times 0,0171 = \text{mmol/L}$

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência, em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de bilirrubina em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Adultos	
<b>Total</b>	<b>0,1 a 1,2 mg/dL</b>
<b>Direta</b>	<b>até a 0,4 mg/dL</b>
<b>Indireta</b>	<b>0,1 a 0,8 mg/dL</b>

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 150 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Neonatos	
24h	<8,8 mg/dL
<b>2º dia</b>	<b>1,3 a 11,3 mg/dL</b>
<b>3º dia</b>	<b>0,7 a 12,7 mg/dL</b>
<b>4º ao 6º dia</b>	<b>10,1 a 12,6 mg/dL</b>
<b>Crianças &gt; 1 mês</b>	<b>0,2 a 1,0 mg/dL</b>

Para converter os valores de mg/dL para mmol/L (SI) multiplicar por 0,0171. Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

Não utilizar a técnica Micro para valores de bilirrubina inferiores a 10 mg/dL. Algumas drogas como esteróides anabolizantes, ácido ascórbico, salicilatos e vitamina A podem elevar os valores de bilirrubina. A cafeína e as penicilinas podem interferir nas dosagens, diminuindo os valores de bilirrubina.

### ***INTERFERENTES***

Amostras com hemólise mesmo que discreta interferem na dosagem de Bilirrubina.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra de concentração 0 (zero) de bilirrubina total e direta.

A média da concentração de bilirrubina total foi 0,3600 mg/dL, com desvio padrão de 0,02542 mg/dL. A sensibilidade, que indica o Limite de Detecção do Método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,11227 mg/dL.

A média da concentração de bilirrubina direta foi 0,0330 mg/dL, com desvio padrão de 0,0047 mg/dL. A sensibilidade, que indica o Limite de Detecção do Método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,0471 mg/dL.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até 15 mg/dL na técnica Macro e 45 mg/dL na técnica Micro. Para valores maiores, diluir a amostra com NaCl 0,85 % e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 151 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

A bilirrubina eleva-se no soro na presença de lesões hepáticas, obstrução biliar ou quando a velocidade de destruição dos glóbulos vermelhos está aumentada. O aumento da bilirrubina indireta é observado na síndrome hemolítica, na icterícia neonatal, na síndrome de Cligler- Najjar e na doença de Gilbert.

A bilirrubina direta está aumentada nas hepatites agudas e crônicas, nas reações tóxicas a várias drogas (clorpromazina, arsenicais orgânicos, metiltestosterona) e nas obstruções do trato biliar.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- 1 - JENDRASSIK, H. T. e Grof, P. : Biochem. Zentr. 297:81, 1938.
- 2 - MALLOY, H. T. e EVELYN, K. A. - J. Biol. Chem. 119:481, 1937.
- 3 - MARTINEK, R. G., Clin. Chem. Acta 13, 161, 1966.
- 4 - POWELL, W. N., Am. J. Clin. Path. 8, 55, 1944.
- 5 - SIMS, F. H. e Horn, C., Am. J. Clin. Path. 29, 412, 1958.
- 6 - TONKS, D. B., Clin. Chem. 9, 217, 1983.

### **Protocolos de Imunologia Clínica**

A maioria dos protocolos das aulas de Imunologia Clínica são seguidos conforme as instruções especificadas nas Bulas dos Kit's adquiridos de diversos fabricantes, sendo assim, o protocolo pode sofrer pequenas modificações nos procedimentos conforme a marca do produto. Na Tabela abaixo encontra-se as principais marcas dos kits de uso nas aulas de Imunologia Clínica na sequência as Bulas mais utilizadas no laboratório.

<b>Bioclin</b>	<b>Doles</b>	<b>Wama</b>	<b>Wiener</b>	<b>Ebram</b>	<b>Interkit</b>
Biolatex PCR	PCR	Imuno- CON FTA- Abs Sífilis	Chagas HAI screening A- V	Chagas ELISA	HIV ELISA
VDRL	VDRL		Toxo HAI		
Biolatex FR	Reumatest				
HCG Strip					

### **BIO - Látex PCR**

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Látex.

O método fundamenta-se em uma reação de aglutinação de partículas de látex recobertas com Gama-globulina anti-PCR, especialmente tratadas para evitar aglutinações inespecíficas. A aglutinação é visível em amostra com concentração de PCR igual ou superior a 6 mg/L, de acordo com as referências estabelecidas pelos Padrões Internacionais da OMS.

#### **AMOSTRA**

##### **Preparo do Paciente**

Colher sangue pela manhã após jejum de 8 horas, salvo orientações médicas.

##### **Amostras utilizadas**

Utilizar soro, sem prévia diluição.

##### **Estabilidade e armazenamento da amostra**

O analito é estável por 2 dias entre 2 e 8 °C.

##### **Volume ideal utilizado para análise**

(Definir o volume ideal a ser encaminhado para análise).

##### **Volume mínimo utilizado para análise**

(Definir o volume mínimo a ser encaminhado para análise).

##### **Crítérios para rejeição da amostra**



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 153 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Não usar amostras com fortes sinais de hemólise e nem com presença de contaminação bacteriana.

Fazer referência ao manual ou POP de coleta, separação e distribuição de material.

#### **REAGENTE UTILIZADO**

**BIO – LÁTEX PCR  
10269360093**

**CATÁLOGO: K044**

**ANVISA:**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3427.5454 - Fax (31) 3427.2999  
e-mail: [sac@bioclin.com.br](mailto:sac@bioclin.com.br)  
site: [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br)  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

#### **Componentes do kit**

**Número 1 - Látex PCR** - conservar entre 2 e 8 °C. **Não congelar.** Contém: partículas de látex sensibilizadas, em suspensão

**Número 2 - Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: soro com concentração igual ou superior a 6 mg/L, Azida sódica 15,38 mmol/L.

**Número 3 - Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: soro com concentração inferior a 6 mg/L, Azida sódica 15,38 mmol/L.

Os controles positivo e negativo foram analisados para detecção de anticorpos anti HIV e antígeno HBs, com resultados negativos. Entretanto, para maior segurança, considerar e manusear como **Potencialmente Infectantes**.

#### **Estabilidade**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

#### **CUIDADOS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS**

- 1 - Somente para uso diagnóstico in vitro;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Não congelar os reagentes;

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 154 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

5 - Usar sempre os reagentes do mesmo lote;

6 - Não utilizar soro lipêmico. Não utilizar plasma;

7 - Manusear com cuidado os Reagentes No 2 e 3, contém Azida sódica;

8 - Os controles positivo e negativo são líquidos humanos e foram analisados para detecção de anticorpos Anti HIV e Anti HBs, com resultados negativos. Entretanto, para maior segurança, considerar e manusear como **Potencialmente Infectantes**;

9 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.

### **EQUIPAMENTOS**

#### **Técnica Manual**

Condições de Reação

Lamina ou placa de fundo escuro

Espátulas

Pipetas para medir amostras e reagentes

Cronômetro

### **PROCEDIMENTO**

#### **Procedimento Manual**

Em cada círculo da placa colocar:

	Círculo Nº 1	Círculo Nº 2	Círculo Nº 3
Controle negativo	20µL	---	---
Controle positivo	---	20µL	---
Soro	---	---	20µL
BIO - LÁTEX PCR (previamente homogeneizado)	20µL	20µL	20µL

Homogeneizar com o auxílio de uma espátula utilizando toda a extensão de cada círculo da lâmina. Logo após, agitar a lâmina com movimentos circulares por dois minutos.

Efetuar a leitura com uma luz artificial, utilizando um fundo escuro para facilitar a interpretação do teste.

Uma aglutinação clara indica a presença de Proteína C Reativa numa concentração igual ou superior a 6 mg/L.

Neste caso, realizar a prova semi quantitativa.

### **PROVA SEMI QUANTITATIVA**

- 1 - Realizar diluições da amostra com salina, a partir da amostra inicial (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 etc);
- 2 - Seguir o processo descrito na prova qualitativa para cada uma das diluições. Será considerado como título a maior diluição do soro que apresentar aglutinação.

**RESULTADOS****POSITIVO:** Nítida aglutinação.**NEGATIVO:** Ausência de aglutinação (suspensão homogênea).**CÁLCULOS**

Os valores serão expressos em mg/L.

Amostra	Concentração mg/L
Sem diluição.....	6
1:2.....	12
1:4.....	24
1:8.....	48
1:16.....	96
1:32.....	192

O resultado pode ser expresso em título ou em mg/L.

mg/L = 6 x título da última diluição (nº da diluição).

**Teste negativo:** expressar o resultado como negativo ou menor que 6 mg/L.**RESULTADOS**Unidade de Medida: **mg/L****CONTROLE DA QUALIDADE****Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

**Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

Citar POP para controle interno.

**Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 156 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

Até 6 mg/L

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa

de valores de referência, de acordo com a população atendida.

### **SIGNIFICADO CLÍNICO**

A Proteína C Reativa é um útil indicador de processo inflamatório em atividade, quer seja de origem infecciosa (pneumonia, tuberculose) ou não infecciosa (febre reumática em atividade, artrite reumatóide, lupus eritematoso).

Está presente também, em várias outras condições patológicas como no infarto agudo do miocárdio, doenças neoplásicas, trauma intenso, viroses, queimaduras.

A determinação de sua concentração plasmática constitui um teste eficaz no acompanhamento da terapêutica utilizada e prognóstico das inflamações.

### **LIMITAÇÕES DO MÉTODO**

Não utilizar plasma, soros hemolisados ou lipêmicos, pois podem produzir aglutinação inespecífica.

Ao correlacionar métodos para determinação da Proteína C Reativa, verificar a sensibilidade dos reagentes. Os resultados obtidos só devem ser comparados quando expressos em mg/L.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1- WARWORTH, E. Wadsworth, Ch. Clin. Chim. Acta, 138, 1984.
- 2 - PEPYS, M. B.; DASH, A. C.; ASHLEY M. J., Clin. Exp. Immunol, 30, 32-37, 1977.
- 3 - DEYO, R. A.; POPE, R. M., PERSELLIN, R. H.; J. Rheumatol, 279, 1980.

### **VDRL Pronto Para Uso**

#### **FINALIDADE**

Método de triagem para detecção de reaginas da sífilis. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 157 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## PRINCÍPIO DE AÇÃO

**Metodologia:** Reação de floculação.

A combinação de lecitina, colesterol e cardioplipina possui semelhança imunológica com antígenos do *Treponema pallidum*, consistindo em um antígeno não treponêmico. A interação das reaginas da amostra com este antígeno produz floculação que pode ser detectada ao microscópio óptico.

## REAGENTE UTILIZADO

**VDRL PRONTO PARA USO  
10269360120**

**CATÁLOGO: K045**

**ANVISA:**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: sac@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

## COMPONENTES

**Reagente N°1- Antígeno para VDRL em suspensão-** conservar entre 2 e 8°C. **Não congelar.** Homogeneizar bem antes de usar. Contém: Cardioplipina 0,44 mmol/L, lecitina 3,12 µmol/L e colesterol 23,2 mmol/L em tampão fosfato 10 mmol/L pH 6,0.

## ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

## CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2- O Antígeno (Reagente N°1) e a amostra devem estar à temperatura ambiente no momento do uso.
- 3- Não congelar o reagente.
- 4- Não utilizar plasma.
- 5- O reagente não deve entrar em contato com materiais de borracha.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 158 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

6- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

7- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

## EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

### Procedimento Manual

- Lâmina escavada
- Microscópio
- Agitador rotativo ajustável a 180 rpm
- Pipetas
- Relógio ou cronômetro

## AMOSTRA

Soro ou líquido cefalorraquidiano (límpido e isento de fragmentos de coágulos). Não utilizar soros hemolisados ou lipêmicos, pois podem produzir aglutinação inespecífica. A amostra é estável por 05 dias entre 2 e 8°C. **Não é preciso inativar o soro.** É recomendável jejum de 8 horas antes da coleta de sangue.

## PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

O Reagente Nº1 é pronto para o uso. Agitá-lo antes da execução do teste.

## TÉCNICA

### Procedimento Manual

Em uma placa escavada pipetar:

Amostra	50 mL
Reagente Nº1	20 mL

Agitar manualmente com movimentos circulares ou em um agitador por 4 minutos a 180 rpm. Em seguida, examinar no microscópio no aumento 100 X.

Além do teste sem diluição é recomendado um teste com uma diluição de 1:8 com NaCl 0,85% (para todos os testes), a fim de evitar o efeito prozona. Vide Limitações do Processo.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 159 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## PROVA SEMI QUANTITATIVA

Cavidade N°	1	2	3	4	5	6
Diluição	1:2	1:4	1:8	1:1 6	1:3 2	1:6 4

Pipetar em cada cavidade da lâmina escavada 50 µL de NaCl 0,85%. Na cavidade N°1, pipetar 50 µL da amostra a ser titulada, homogeneizar. Transferir 50 µL da cavidade N°1 para a N°2 e assim sucessivamente até a diluição desejada. Desprezar os 50 µL em excesso da última cavidade.

Em seguida adicionar à cada cavidade, 20 µL do Reagente N°1. Agitar manualmente com movimentos circulares ou em um agitador rotativo por 5 minutos a 180 rpm. Examinar ao microscópio no aumento 100 X, logo após a agitação. O título corresponde à maior diluição da amostra em que ocorreu a floculação.

## TESTE COM LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO

- 1- Diluir 1:2 o Reagente N°1 com NaCl 0,85%. Deixar em repouso por 4 minutos.
- 2- Proceder da mesma forma descrita para o soro, usando o líquido cefalorraquidiano centrifugado. Não é necessário inativar.

## RESULTADOS

**Positivo - Reativo:** ocorre floculação com formação de grumos de tamanhos variáveis. Suspensão de aspecto heterogêneo. Neste caso, proceder a diluição da amostra e realizar a prova semi-quantitativa.

**Negativo - Não Reativo:** ausência de floculação, suspensão de aspecto homogêneo.

## VALORES DE REFERÊNCIA

Não se aplica.

## LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Estima-se que 1 a 2% dos pacientes com sífilis secundária apresentam VDRL negativo ou fracamente positivo quando se utiliza o soro não diluído. A positividade do exame somente ocorrerá nas diluições maiores - efeito prozona. Recomenda-se portanto, testar todas as amostras sem diluir e diluídas 1:8 com NaCl 0,85%.

Pode ocorrer resultado falso-positivo em certas patologias como: tuberculose, mononucleose infecciosa, hanseníase, hepatite, doenças do colágeno (lúpus eritematoso, artrite reumatóide), doenças auto imunes, malária, câncer.

## INTERFERENTES

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 160 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Não se aplica.

### ***SENSIBILIDADE***

Em 163 amostras verdadeiramente positivas, não foi encontrado nenhum resultado falso negativo.

### ***ESPECIFICIDADE***

Em 80 amostras verdadeiramente negativas foi encontrado 1 resultado falso positivo.

### ***LINEARIDADE***

Não se aplica.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

O método é indicado para teste de triagem. O diagnóstico final não deve ser baseado somente no resultado laboratorial. Deve-se correlacionar o resultado com os sinais e sintomas clínicos do paciente.

Pacientes com infecção sífilica tratada podem apresentar resultados positivos em títulos baixos (cicatriz sorológica). O VDRL pode ser utilizado para acompanhar a terapêutica, pela rápida resposta representada pela queda de títulos, pela negatificação e modificações mais lentas ou mesmo inexistentes para os testes treponêmicos.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 161 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - GRADWOHLS Clinical Laboratory Methods and Diagnosis – Sonnen Writh and Jerret, Mosby Cd., 1980.
- 2 - Manual de Reaciones Para el Diagnóstico de la Sífilis - Nº311 – Organização Mundial de Saúde.
- 3 - Ferreira, A.W.; Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e auto-imunes, 2 ed., Editora Guanabara Koogan SA, 2001.

### **Fator Reumatóide**

#### **FINALIDADE**

Método para determinação quantitativa do Fator Reumatóide (FR). Teste imunoturbidimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Imunoturbidimetria.

A reação permite quantificar, mediante um método turbidimétrico, a concentração de FR presente na amostra. As partículas de látex suspensas que estão recobertas com gama globulina humanas são aglutinadas por Fatores Reumatóides presentes no soro. O processo de aglutinação provoca um aumento da densidade óptica. A intensidade da luz dispersada é proporcional à concentração de FR.

#### **REAGENTE UTILIZADO**

**FATOR REUMATÓIDE  
10269360156**

**CATÁLOGO: K058**

**ANVISA:**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 – Fax: (31) 3439.5455  
e-mail: bioclin@bioclin.com.br  
site: www.bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

#### **COMPONENTES**

**Número 1 - Tampão** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Cloreto de sódio 0,15 mol/L, Tris 50 mmol/L, Azida sódica 15,38 mmol/L, surfactante.

**Número 2 - Látex FR** - Conservar entre 2 e 8°C. Suspensão de partículas de látex sensibilizadas com Gama Globulina humana. Contém: Azida sódica 15,38 mmol/L.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 162 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Número 3 - Calibrador** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Fator Reumatóide e azida sódica 15,38 mmol/L.

**Atenção: A concentração de Fator Reumatóide varia de acordo com o lote - Vide rótulo do frasco.**

#### **ESTABILIDADE**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

#### **CUIDADOS ESPECIAIS**

- 1- Somente para uso diagnóstico in vitro profissional.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- 3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- 4- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 5- O reagente N° 3 deve ser manuseado cautelosamente, pois é passível de contaminação biológica.
- 6- Manusear com cuidado todos os reagentes que contêm Azida Sódica, pois são irritantes para pele e mucosas.
- 7- Os materiais de origem biológica foram testados para HIV e HBsAg usando métodos de última geração e apresentaram resultados negativos. O risco de infecção não pode ser excluído e o reagente deve ser manuseado com o mesmo cuidado observado para o soro do paciente.
- 8- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 9- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 163 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

10- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

11- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

## **EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS**

### **Procedimento Automatizado**

- Equipamento: Equipamento bioquímico automatizado
- Multical e Multicontrol Bioclin. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

Inserir nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento; Fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

## **AMOSTRA**

Soro obtido livre de hemólise e lipemia intensa. O analito é estável entre 2 e 8°C por até 2 dias e 03 meses a 20°C negativos.

## **PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO**

Os reagentes estão prontos para uso.

## **TÉCNICA**

Homogeneizar bem o Reagente n° 2 antes do uso.

Para calibração da reação, usar preferencialmente o calibrador interno do kit ou o kit Multical Bioclin. Para controle utilizar o kit Multicontrol Bioclin. O kit é indicado somente para uso em analisadores bioquímicos automáticos. Verificar a programação para o equipamento no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através do SAC.

## **RESULTADOS**

**Unidade de Medida:** UI/mL

### **VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência para o presente método foram obtidos através da determinação do Fator Reumatóide em populações sadias do sexo masculino e feminino. Inferior a 20 UI/mL.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 164 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### ***LIMITAÇÕES DO PROCESSO***

Não se aplica.

### ***INTERFERENTES***

Não se aplica.

### ***SENSIBILIDADE***

A sensibilidade foi calculada a partir de 10 determinações de uma amostra isenta de Fator Reumatóide. A média encontrada foi 0,711 UI/mL com desvio padrão de 1,513 UI/mL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão e é igual a 5,250 UI/mL.

### ***LINEARIDADE***

A reação é linear até o ponto mais alto da curva de calibração. Para amostras com valores maiores recomenda-se diluir a amostra com Cloreto de sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

### ***CONTROLE DA QUALIDADE***

#### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

#### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens.

Citar POP para controle interno.

#### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

#### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

### ***SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO***

Fator Reumatóide refere-se a um grupo de macroglobulinas (antiglobulinas) que reagem com o fragmento Fc das Imunoglobulinas IgG. Na artrite reumatóide o achado do Fator

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 165 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Reumatóide representa o dado sorológico mais importante, presente em cerca de 75% dos pacientes. O seu nível plasmático pode estar significativamente aumentado na velhice, doenças do tecido conjuntivo, hepatopatias crônicas, sífilis, tuberculose, hanseníase, endocardite bacteriana, mononucleose, sarcoidose, calazar, rubéola, neoplasias, infestações parasitárias, transfusões de sangue, transplante renal, síndrome de Sjogren.

### ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- 1 - PESCE, A. J.; KAPLAN, L. A.: Methods in Clinical Chemistry the C. V. Mosby Company, 1987.
- 2 - HELLSING, K., Profides in the Biological Fluids, 1973, 23, 579.
- 3 - BLOM, M. and HJOME, H., Clinical Chemistry, 1976, 22,657.
- 4 - HILLS, L. P. and TIFFANY, T. I., Clinical Chemistry, 1980;26, 1459.
- 5 - GALVIN, J. P. et al; Clin. Lab Assays 73, 4th, 1983.
- 6 - PASSING, H.; BABLOCK, W., J., Clin. Chem. Clin. Biochem 21, 709; 1983.
- 7 - NOKAMA, Y.; NAKAMURA, R. M., J. Clin. Lab. Anal., 1:15; 1987.
- 8 - OKOMURA, J. M.; MIYAGI, J. M.; TERADA, K. J., Clin. Lab. Anal. 4, 231; 1990.
- 9 - MOORE, T. L., Clin. Biochem, 26; 75-84; 1993.
- 10 - SINGER, J. M. Et al Amer J Med 21, 888; 1952.

## **HCG STRIP**

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

**Metodologia:** Imunocromatografia.

O método utiliza anticorpo monoclonal anti HCG, que reage com amostras de soro e urina.

A mistura se move através de uma membrana cromatográfica por ação capilar. As amostras com concentrações superiores a 25 mUI/mL de HCG irão formar uma linha de cor vermelha na região onde o anti HCG está imobilizado, indicando que a amostra está positiva.

A mistura reagente continuará sendo absorvida pela membrana até a região do anticorpo controle, com a formação de uma linha azul, confirmando o processamento correto do teste.

### **AMOSTRA**

#### **Preparo do Paciente**

Colher sangue pela manhã após jejum de 8 horas, salvo orientações médicas.

#### **Amostras utilizadas**

Soro ou Urina

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 166 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Estabilidade e armazenamento da amostra**

As amostras são estáveis por 10 dias quando mantidas entre 2 e 8 °C e por 03 meses a 10 °C negativos.

### **Volume ideal utilizado para análise**

(Definir o volume ideal a ser encaminhado para análise).

### **Volume mínimo utilizado para análise**

(Definir o volume mínimo a ser encaminhado para análise).

### **CrITÉrios para rejeição da amostra**

Não usar amostras com fortes sinais de hemólise e nem com presença de contaminação bacteriana.

### **REAGENTE UTILIZADO**

**HCG STRIP  
10269360105**

**CATÁLOGO: K039**

**ANVISA:**

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3427.5454 - Fax (31) 3427.2999  
e-mail: [sac@bioclin.com.br](mailto:sac@bioclin.com.br)  
site: [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br)  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### **Componentes do kit**

**Número 1 - Tiras Reativas** - conservar entre 15 e 30 °C.

**Não congelar.** Contém conjugado anticorpo monoclonal anti HCG e anticorpo controle imobilizado na membrana.

### **Estabilidade**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando conservados de acordo com a temperatura recomendada. Evitar a contaminação do produto durante o uso para não afetar a sua estabilidade.

### **CUIDADOS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS**

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 167 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

3 - Quando executar em urina, dar preferência à 1ª urina da manhã que contém uma maior concentração de HCG.

Urinas turvas ou contendo hemácias devem ser centrifugadas antes da realização do teste;

4 - Usar recipientes limpos e secos para acondicionar as amostras;

5 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.

## **EQUIPAMENTOS**

### **Técnica Manual**

Condições de Reação

Micropipeta

Ponteiras

Cronômetro

## **PROCEDIMENTO**

### **PROVA QUALITATIVA**

- 1 - A amostra deve estar em temperatura entre 15 e 30 °C antes de iniciar o teste.
- 2 - Retirar a tira reativa da embalagem protetora
- 3 - Colocar a ponta absorvente da tira reativa em contato com a amostra (soro ou urina) por 10 segundos. Não mergulhar a fita na amostra além das setas indicadoras do nível de amostra. Como alternativa à imersão da tira reativa na amostra, pode-se pipetar 100 microlitros da amostra (soro ou urina) e dispensar sobre a ponta absorvente da tira reativa.
- 4 - Aguardar a formação das linhas

### **RESULTADOS**

**Teste Positivo:** formação de uma linha vermelha e uma linha azul nos primeiros 5 minutos, indicando concentração de HCG superior a 25 mUI/mL. A linha azul corresponde ao controle da reação.

**Teste negativo:** formação de uma linha azul, indicando teste negativo ou concentração de HCG menor que 25 mUI/mL.

**Teste Inadequado:** ausência de formação da linha azul. Indica erro no procedimento ou deterioração da tira reativa. Neste caso, repetir o teste utilizando nova tira reativa.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 168 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## ***CONTROLE DA QUALIDADE***

### **Materiais**

Identificar os materiais de controle interno e externo da qualidade, citando fabricante e número de catálogo.

Referenciar POP para limpeza e secagem dos materiais utilizados.

### **Controle Interno**

Descrever a calibração periódica de pipetas, equipamentos utilizados, controle de temperatura ambiente e geladeiras para armazenamento dos kits.

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

Citar POP para controle interno.

### **Controle Externo**

Descrever os procedimentos utilizados nas avaliações de qualidade feitas por programas de comparação entre laboratórios ou outros controles de qualidade.

### **Gerenciamento dos dados obtidos no Controle Interno e Externo**

Definir como os dados de controle são arquivados e gerenciados.

Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

## ***LIMITAÇÕES DO MÉTODO***

- 1 - Quando utilizado para verificação de gravidez, o diagnóstico final não deve ser baseado somente no resultado laboratorial; deve-se correlacionar o resultado do teste com os sinais e sintomas clínicos;
- 2 - Pacientes com doenças trofoblásticas não gestacionais, que incluem o carcinoma e a mola hidatiforme, podem apresentar resultado positivo na ausência de gravidez;
- 3 - Resultado falso negativo pode ser obtido nos casos de gravidez ectópica, aborto eminente, toxemia da gravidez, devido a possível diminuição da excreção de HCG;
- 4 - Não foi observada interferência, em doses terapêuticas, das seguintes substâncias : Ácido ascórbico, Ácido Acetil Salicílico, Acetoaminofen, Atropina, Cafeína e Glicose.

## ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- 1 - BATZER, F. R., Fertility and Sterility, 4:1, 1980.
- 2 - BRAUNSTEIN, G. D.; RASOR, J.; ADLER, D.; DANZER, H.; WADE, M. E., AM. J. Obstet. Gynecol., 126:681, 1976.
- 3 - BRAUNSTEIN, G. D., et al. Ann. Intern. Med., 78:39-45,1973.
- 4 - LENTON, E. A.; NEAT, L. M.; SULAIMAN, R., Fertility and Sterility, 37:773-778, 1982.
- 5 - BURTIS, Carl A. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2a edic., 2114-2119, 1994.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 169 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

○ **REUMATEST**

**PRINCÍPIO DE AÇÃO**

Finalidade: Sistema para determinação qualitativa e semiquantitativa, em lâmina, dos fatores reumatoides no soro. **Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

Metodologia:

**Reumatest** é uma suspensão de partículas de látex adsorvidas com gamaglobulina humana em tampão 100mmol/L de Glicina, pH8,2. Com a adição de Reumatest ao soro com “Fator Reumatoide” presente, desenvolve-se uma reação antígeno anticorpo. Esta se exterioriza pela aglutinação das partículas de látex formando agregados facilmente visíveis.

**AMOSTRA**

**Preparo do Paciente**

**Amostras utilizadas**

- Soro fresco. Estável por 8 dias entre 2-8°C, ou 90 dias se mantida a -20°C.
- Não usar plasma (ver em limitações do sistema).
- Não usar soro hemolisado, lipêmico ou contaminado (ver em limitações do sistema).
- Amostras com fibrina devem ser centrifugadas antes do teste.

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**

**Estabilidade e armazenamento do Kit**

**FR-Látex:** armazenar à temperatura de 2-8°C. **Não congelar.** Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, obedecidas as condições de armazenamento.

**Controle positivo:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, obedecidas as condições de armazenamento.

**Controle negativo:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, obedecidas as condições de armazenamento.

**Critérios para rejeição da amostra**

Não usar amostras com fortes sinais de hemolise e nem com presença de contaminação bacteriana.

Fazer referência ao manual ou POP de coleta, separação e distribuição de material.

**REAGENTE UTILIZADO**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 170 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### Componentes do kit (Marca: Doles)

**FR-Látex:** partículas de látex adsorvidas com gamaglobulina humana em tampão 150mmol/L de Glicina, pH8,2. Contêm Azida Sódica 0,95g/L. **Homogeneizar antes de usar.**

**Controle positivo:** Soro policlonal, de animal, antigama globulina humana em tampão Glicina 150mmol, pH 8,2. Contêm Azida Sódica 0,95g/L.

**Controle negativo:** soro animal estabilizado, isento de Fatores Reumatoides. Contém azida Sódica 0,95g/L.

### APRESENTAÇÃO

#### Kit - 100 testes

FR-Látex 1 x 2,5mL

Controle positivo 1 x 0,5mL

Controle negativo 1 x 0,7mL

Lâmina 05 unidades

Hastes para homogeneização 100 unidades

#### Reagente - 100 testes

FR-Látex 1 x 2,5mL

### CUIDADOS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Os controles positivo e negativo são de origem animal. Recomenda-se manuseá-los como sendo potencialmente infectantes.

O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

### EQUIPAMENTOS

- Tubos de ensaio para prova semiquantitativa.
- Pipetas graduadas.
- Pipetas semiautomáticas de 25µL e 200µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Solução fisiológica.
- Cronômetro.
- Lâmina para teste (somente para a apresentação reagente).
- Hastes para homogeneização (somente para a apresentação reagente).

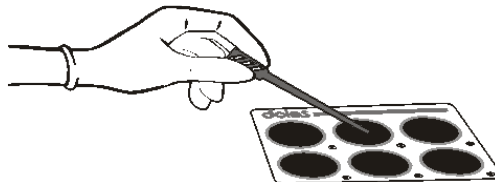
### PROCEDIMENTO

#### Procedimento Manual

## PROVA QUALITATIVA

### Teste qualitativo:

1. Utilizar **soro não diluído**.
2. Os reagentes e amostras devem ser ambientados antes da realização do teste. A sensibilidade do reagente diminui em temperaturas baixas.
3. Adicionar ao primeiro círculo da lâmina 25µL de soro, ao segundo 25µL do controle positivo e ao terceiro 25µL do controle negativo.
4. **Homogeneizar o FR-Látex** e adicionar 25µL do mesmo em cada círculo.
5. Homogeneizar as duas gotas, com uma haste plástica. **Utilizar uma haste para cada teste.**



6. Imprimir movimentos rotatórios 80-100 r.p.m. à lâmina durante 2 minutos.
7. Fazer a leitura com a seguinte interpretação:

**Teste positivo:** nítida aglutinação

**Teste negativo:** suspensão homogênea

## PROCEDIMENTO

### Procedimento Manual

## PROVA QUANTITATIVA

### Teste semiquantitativo:

Rotular 6 tubos (12x75mm) de 1 a 6. Colocar, a partir do tubo 1, 200µL de solução fisiológica (salina). Transferir 200µL de soro para o tubo 1, homogeneizar, transferir para o tubo 2, e assim, sucessivamente, até o tubo 6. Teremos então as diluições que se seguem, com as respectivas equivalências:

		TUBO					
		1	2	3	4	5	6
Diluição	Soro não diluído	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
FR U.I./mL	8	16	32	64	128	256	512

Proceder ao teste como descrito para teste qualitativo. Será considerada positiva a maior diluição da amostra que apresentar aglutinação.

Resultado: Expressar o resultado em U.I./mL.

## RESULTADOS

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 172 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Interpretação:** soro com teores de Fatores Reumatoides superior a 8U.I./mL levam à aglutinação do látex, o que é evidenciado pela formação de grumos finos ou grosseiros.

## RESULTADOS

**Teste qualitativo:** soro com teores de FR superior a 8U.I./mL provocam à aglutinação do látex, o que é evidenciado pela formação de grumos finos ou grosseiros.

**Teste semiquantitativo:** será considerada positiva a maior diluição da amostra que apresentar aglutinação.

## CONTROLE DA QUALIDADE

1.Recomenda-se sempre o uso de um controle positivo e negativo para monitorar o desempenho do FR-Látex e como modelo de comparação para interpretação dos resultados.

2.A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

3.A água utilizada na limpeza do material e no preparo dos reagentes deve ser de boa qualidade.

4.Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.

5.As pipetagens devem ser precisas.

## LIMITAÇÕES DO MÉTODO

### Limite de Detecção

O FR-látex possui um limite de detecção de 8U.I./mL. O limite de detecção foi verificado usando um calibrador rastreável a preparação internacional de referência da Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO).

### Efeito Prozona

O efeito prozona ocorre quando uma amostra com valor elevado de FR apresenta resultado negativo. Não há efeito prozona até a concentração de FR de 1500U.I./mL.

### Interferentes de Amostra

- Bilirrubina (20mg/dL), hemoglobina (10g/L) e lipídeos (10g/L) não interferem.
- As lâminas de teste podem ser reutilizadas. Terminada a realização dos testes, lavar a lâmina em água corrente e a seguir secá-las com pequena quantidade de álcool. Utilizar apenas quando secas.
- A agitação deve ser feita em condições padronizadas, a fim que se obtenham resultados comparáveis em diferentes provas.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 173 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Soros antigos ou turvos podem apresentar resultados falsos.
- O congelamento do látex leva a reações inespecíficas de aglutinação. O frasco de látex deve permanecer bem fechado, caso contrário poderá ocorrer floculações.
- O uso de amostras não adequadas poderá resultar em reações inespecíficas (ver em limitações do sistema).

### **Eficiência Diagnóstica – Acurácia**

Cento e dezoito soros humanos com valores menores e maiores que 8U.I./mL, foram ensaiadas utilizando o FR-Látex e um produto similar de mesma sensibilidade como método comparativo.

A análise estatística mostrou os seguintes resultados:

Especificidade – 97%.

Sensibilidade – 98%.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Singer J.M.: Plotz C.M.: Am. J. Med. 21:888, 1956.
- Singer J.M.: Plotz C.M.: J.A.M.A. 168:180, 1958.
- Singer J.M.: Eull. Rehum. Dis. 24:6, 1973.
- Singer J.M. Edberg S. C. Selinger M., AMRAM M. Amer. J.Clin. Pathol., 72, 591-596; 1979.
- Laboratory Diagnostic Procedures in the Rheumatic Diseases, Alam S. Cohen, M.D. 1985.
- Gooi H.C.; Chapel H. Clinical Immunology A Practical Approach, 216-217, 1990.
- Pagana, K. D; Pagana T.J: Diagnostic and Laboratory Test Reference, 649-650, 1992.
  - Warren J.S; Keren D.F; Diagnostic Immunology, 276-290; 1992.
  - Chernecky C.C; Krech R.L; Berger B.J: Laboratory Tests and Diagnosis Procedures, 830-831, 1993.

#### ○ **PCR TEST**

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

#### **FINALIDADE**

Sistema para determinação qualitativa e semiquantitativa da Proteína C Reativa no soro.  
**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

#### **PRINCÍPIO**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 174 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**PCRTEST** é uma suspensão de partículas de látex de poliestireno recobertas com anticorpos anti-Proteína C- Reativa (PCR). Esta suspensão, em contato com amostras contendo Proteína C Reativa produz uma aglutinação das partículas de látex, visíveis macroscopicamente.

## AMOSTRA

### Amostras utilizadas

- Soro recente. Estável por 7 dias entre 2-8°C, ou 90 dias se mantido a -20°C.
- Amostras com restos de fibrina devem ser centrifugadas antes da prova.
- Não usar plasma (ver em limitações do sistema).
- Não usar soro hemolisado, lipêmico ou contaminado (ver em limitações do sistema).

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**

### Estabilidade e armazenamento do Kit

**PCR-látex:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo, obedecidas as condições de armazenamento. **Não congelar:** o congelamento causa alterações irreversíveis na funcionalidade do látex.

**Controle positivo:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo, obedecidas as condições de armazenamento.

**Controle negativo:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo, obedecidas as condições de armazenamento.

## REAGENTE UTILIZADO

### Componentes do kit (Marca: Doles)

#### Kit - 100 testes

PCR-látex 1 x 2,5mL

Controle positivo 1 x 0,5mL

Controle negativo 1 x 0,7mL

Lâmina 5 unidades

Hastes para homogeneização 100 unidades

#### Reagente - 100 testes

PCR-látex 1 x 2,5mL

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Os controles positivo e negativo são de origem animal. Recomenda-se manuseá-los como sendo potencialmente infectantes.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 175 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

## EQUIPAMENTOS

- Tubos de ensaio para prova semiquantitativa.
- Pipetas graduadas.
- Pipetas semiautomáticas de 25 $\mu$ L e 200 $\mu$ L.
- Ponteiras descartáveis.
- Solução fisiológica.
- Cronômetro.
- Lâmina para teste (somente para a apresentação reagente).
- Hastes para homogeneização (somente para a apresentação reagente)

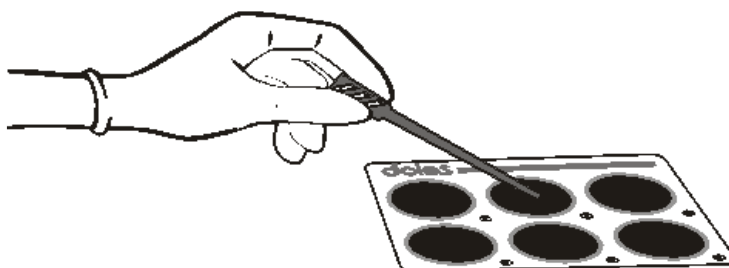
## PROCEDIMENTO

### Procedimento Manual

#### PROVA QUALITATIVA

##### Teste qualitativo:

1. Os reagentes e amostras devem ser ambientados antes da realização do teste. A sensibilidade do reagente diminui em temperaturas baixas.
2. Adicionar ao primeiro círculo da lâmina 25 $\mu$ L de soro, ao segundo 25 $\mu$ L do controle positivo e ao terceiro 25 $\mu$ L do controle negativo.
3. **Homogeneizar o PCR-Látex** e adicionar 25 $\mu$ L do mesmo em cada círculo.
4. Homogeneizar as duas gotas, com uma haste plástica. **Utilizar uma haste para cada teste.**



5. Imprimir movimentos rotatórios 80-100r.p.m. à lâmina durante 2 minutos.

6. Fazer a leitura com a seguinte interpretação:

**Teste positivo** : nítida aglutinação

**Teste negativo**: suspensão homogênea

## PROCEDIMENTO

### Procedimento Manual

#### PROVA QUANTITATIVA

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 176 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Teste semiquantitativo:**

Rotular 5 tubos (12x75mm) de 1 a 5. Colocar, a partir do tubo 1, 200µL de solução fisiológica (salina). Transferir 200µL de soro para o tubo 1, homogeneizar, transferir para o tubo 2, e assim, sucessivamente, até o tubo 5. Teremos então as diluições que se seguem, com as respectivas equivalências em PCR mg/L:

		<b>Tubos</b>				
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
Diluição	Soro não Diluído	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
PCR mg/L	6	12	24	48	96	192

Proceder ao teste como descrito para teste qualitativo. Será considerada positiva a maior diluição da amostra que apresentar aglutinação.

Resultado: Expressar o resultado em mg/L.

**RESULTADOS**

**Interpretação:** soro com teores de PCR superior a 6mg/L levam à aglutinação do látex, o que é evidenciado pela formação de grumos finos ou grosseiros.

**RESULTADOS**

**Teste qualitativo:** soro com teores de PCR superior a 6mg/L provocam a aglutinação do látex, o que é evidenciado pela formação de grumos finos ou grosseiros.

**Teste semiquantitativo:** será considerada positiva a maior diluição da amostra que apresentar aglutinação.

**CONTROLE DA QUALIDADE**

1.Recomenda-se sempre o uso de um controle positivo e negativo para monitorar o desempenho do PCR-Látex e como modelo de comparação para interpretação dos resultados.

2.A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

3.A água utilizada na limpeza do material e no preparo dos reagentes deve ser de boa qualidade.

4.Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 177 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

5.As pipetagens devem ser precisas.

### **LIMITAÇÕES DO MÉTODO**

#### **Sensibilidade**

O PCR látex possui um limite de detecção de 6mg/L. O limite de detecção foi verificado usando um calibrador interno de PCR, calibrado por turbidimetria frente ao **padrão internacional de proteínas plasmáticas CRM470**.

#### **Efeito Prozona**

O efeito prozona ocorre quando uma amostra com valor elevado de PCR apresenta resultado negativo. Não há efeito prozona até a concentração de PCR de 1600mg/L.

#### **Fatores Interferentes**

- Bilirrubina (20mg/dL), hemoglobina (10g/L) e lipídeos (10g/L) não interferem. Fatores reumatoides > (100U.I./mL) podem interferir.
- As placas de teste podem ser reutilizadas. Terminada a realização dos testes, lavar a placa em água corrente e a seguir secá-las com pequena quantidade de álcool. Utilizar apenas quando secas.
- Soros antigos ou turvos podem dar falsas reações.
- Dados de literatura relatam que em pacientes submetidos a tratamento com estrogênios podem surgir resultados falso-positivos.
- Injeções subcutâneas de certas bactérias mortas – vacinas - (estreptococos, A . aerogenes, etc) podem resultar em reações falso-positivas.
- O uso de amostras não adequadas poderá resultar em reações inespecíficas (ver limitações do sistema).
- O congelamento do látex leva a reações inespecíficas de aglutinação.

#### **Interferentes de Amostra**

- Bilirrubina (20mg/dL), hemoglobina (10g/L) e lipídeos (10g/L) não interferem.
- As lâminas de teste podem ser reutilizadas. Terminada a realização dos testes, lavar a lâmina em água corrente e a seguir secá-las com pequena quantidade de álcool. Utilizar apenas quando secas.
- A agitação deve ser feita em condições padronizadas, a fim que se obtenham resultados comparáveis em diferentes provas.
- Soros antigos ou turvos podem apresentar resultados falsos.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 178 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- O congelamento do látex leva a reações inespecíficas de aglutinação. O frasco de látex deve permanecer bem fechado, caso contrário poderá ocorrer floculações.
- O uso de amostras não adequadas poderá resultar em reações inespecíficas (ver em limitações do sistema).

### **Eficiência Diagnóstica - Acurácia**

Cento e vinte e cinco soros humanos com valores menores e maiores que 6mg/L, foram ensaiados utilizando o PCR-Látex e um produto similar de mesma sensibilidade como método comparativo.

A análise estatística mostrou os seguintes resultados:

Especificidade – 96,2%.

Sensibilidade – 95,6%

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Singer, J.M. et. al.: Am. J.Clin. Path 28:611; 1957.
- Pepys M.B., Dash A.C., Ashley M.J. Clin. xp. Immunol. 30:32; 1977.
- Ravel R. Laboratório Clínico Aplicações Clínicas dos Achados Laboratoriais, 189-190; 1984.
  - Sheehan C. Principles and Laboratory Diagnosis Clinical Immunology, 135-143, 59-60.1990.
  - Warren J.S; Keren D.F; Diagnostic Immunology, 276-290; 1992.
  - Tibúrcio, H.M., Controle Interno da Qualidade Analítica, 1aed. março/1995.
  - Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press 1995.
  - Jacobs D.S., Demott W.R., Grady H.J., Horvat R.T., Huestis D.W., Kasten B.L., Laboratory Test Handbook, 387, 1996.
- Doles : dados de arquivo.

#### ○ **IMUNO- CON FTA-Abs Sífilis**

#### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

#### **FINALIDADE**

#### **PRINCÍPIO**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 179 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Os anticorpos *anti-Treponema pallidum* presentes no soro ligam-se ao antígeno fixado na lâmina e são revelados por uma antigamaglobulina humana marcada com isotiocianato de fluoresceína.

## AMOSTRA

### Amostras utilizadas

Soro livre de hemólise, lipemia e contaminação. Os soros podem ser conservados em geladeira (2-8°C) até 72 horas. Para um tempo maior, devem ser guardados em freezer, a -20°C. Evitar repetidos congelamentos e descongelamentos.

### Estabilidade e armazenamento do Kit

- **LÂMINAS COM SUSPENSÃO DE TREPONEMA (1):** deixá-las em temperatura ambiente por 15 minutos antes de retirá-las do envelope. Estáveis em geladeira (2 - 8°C) até a data do vencimento.
- **ANTIGAMAGLOBULINA HUMANA (IgG) MARCADA (2):** pronta para uso. Estável em geladeira (2-8°C) até a data de vencimento. Proteger da luz. Contém azida sódica 0,095%.
- **TAMPÃO FOSFATO-SALINO (PBS) (3):** diluir o PBS (0,01M; pH7,2 ± 0,2) concentrado 1/20 (Ex.: 10ml de PBS + 190ml de água destilada ou deionizada). Conservar em geladeira em recipiente limpo e bem vedado. Desprezar a solução se ocorrer mudança do pH ou turvação. Estável até a data do vencimento. Obs.: Caso ocorra cristalização do PBS antes da sua diluição, colocar em banho-maria 37°C até a completa dissolução dos cristais.
- **GLICERINA TAMPONADA (4):** pronta para uso. Estável em geladeira (2-8°C) até a data do vencimento.
- **SOLUÇÃO ABSORVENTE (5):** para remoção de anticorpos anti-treponema inespecíficos. Pronta para uso. Agitar antes de usar. Os soros desconhecidos deverão ser diluídos em solução absorvente na proporção 1/5 (sugere-se 10µl do soro + 40µl da solução absorvente). Estável até a data de vencimento.
- **SORO CONTROLE POSITIVO (6):** pronto para uso. Estável até a data do vencimento. Contém azida sódica 0,095%.
- **SORO CONTROLE NEGATIVO (7):** pronto para uso. Estável até a data do vencimento. Contém azida sódica 0,095%.

**Obs.:** O kit mantém o mesmo desempenho após a primeira utilização e é estável até a data de validade descrita no rótulo, desde que seja mantida na temperatura indicada (2-8°C).

## REAGENTE UTILIZADO

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 180 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### Componentes do kit (Marca: Wama)

1. Lâminas com 5 áreas reativas com suspensão de *Treponema pallidum* (12 lâminas)
2. Antigamaglobulina G humana marcada com isotiocianato de fluoresceína (1x3ml)
3. Tampão fosfato-salino (PBS) (2 x 50ml)
4. Glicerina tamponada (1x4ml)
5. Solução absorvente (*Treponema* cepa Reiter) (1x3ml)
6. Soro controle positivo (1x1ml)
7. Soro controle negativo (1x1ml)
8. Lamínulas (12 unidades)

### CUIDADOS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS

1. Reagentes somente para uso diagnóstico *in vitro*.
2. O kit deverá ser conservado em geladeira entre 2 -8°C.
3. A conservação das lâminas pode ser feita, selando as bordas da lamínula com esmalte de unha e guardando-as no escuro, entre 2 -8°C por, no máximo 2 meses.
4. Como se emprega azida sódica a 0,095% como conservante, o descarte dos reativos deve ser acompanhado de grandes volumes de água para evitar o acúmulo de resíduos de azida nos encanamentos, pois esta pode reagir com chumbo ou cobre formando sais altamente explosivos. Além disso, a azida é tóxica quando ingerida.
5. Todos os materiais humanos usados na preparação dos controles foram testados, com resultados negativos para anticorpos anti-HIV, anti-HCV e antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), porém, como nenhum método diagnóstico oferece completa segurança da ausência destes e de outros agentes infecciosos, recomenda-se tratar os soros controles como materiais potencialmente infecciosos.
6. Não substituir componentes deste kit com o de outros fabricantes, nem usar componentes de lotes e códigos diferentes.
7. Não usar fora do prazo de validade.
8. Descartar o material conforme regulamentações locais.
9. Realizar manutenção periódica do microscópio, pois a extrapolação da vida útil da lâmpada poderá prejudicar a análise do resultado.
10. Seguir as boas práticas laboratoriais (BPLs) na conservação, manuseio e descarte dos materiais.

### MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Microscópio de fluorescência
- Tubos de ensaio
- Pipetas sorológicas
- Jarra de Coplin ou similar
- Água destilada ou deionizada
- Frasco para 1 litro
- Câmara de incubação

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 181 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Papel absorvente

## PROCEDIMENTO

1. Recomenda-se inativar o soro por 30 minutos, a 56°C (Não obrigatório).
2. Diluir os soros desconhecidos 1/5 com a solução absorvente (ver PREPARAÇÃO DOS REAGENTES). Deixar 15 minutos em temperatura ambiente.
3. Deixar a(s) lâmina(s) atingir(em) a temperatura ambiente por 15 minutos antes de retirá-la(s) do envelope. Removê-la(s) sem tocar no substrato, rotulá-la(s) e colocá-la(s) em câmara úmida.
4. Pingar 1 gota dos controles positivo e negativo nas áreas 1 e 2 da(s) lâmina(s), respectivamente e do(s) soro(s) desconhecido(s), nas áreas restantes, evitando transbordar as áreas.
5. Incubar na câmara úmida por 30 minutos, em temperatura ambiente.
6. Remover a(s) lâmina(s) da câmara úmida. Segurá-la(s) por uma extremidade e lavá-la(s) com aproximadamente 10ml de tampão fosfato-salino (PBS) (3). Usando uma pipeta dirigir o PBS pela borda longitudinal da lâmina, tendo o cuidado de não atingir diretamente as áreas reativas, evitando, com isso, prejudicar o substrato. Colocar a(s) lâmina(s) em uma jarra de Coplin ou similar e lavá-la(s) 3 vezes com PBS, 5 minutos cada vez, agitando suavemente o Coplin algumas vezes durante cada lavagem.
7. Remover a(s) lâmina(s) do Coplin, uma de cada vez. Tirar o excesso de PBS, sacudindo-a(s) sobre papel absorvente. Secar em torno das áreas reativas e ir **IMEDIATAMENTE** para a etapa 8 para não secar o local da reação.
8. Retornar à câmara úmida. Pingar 1 gota da antigamaglobulina marcada em cada área da(s) lâmina(s), tendo o cuidado de recobri-la(s) totalmente.
9. Incubar em câmara úmida por 30 minutos, em temperatura ambiente, protegendo do excesso de luz.
10. Repetir a etapa 6.
11. Remover a(s) lâmina(s) do Coplin, uma de cada vez. Tirar o excesso de PBS, sacudindo-a(s) sobre papel absorvente. Secar em torno das áreas reativas e ir **IMEDIATAMENTE** para a etapa 12 para não secar o local da reação.
12. Pingar 3 a 4 gotas de glicerina tamponada (4) entre as áreas reativas. Cobrir a(s) lâmina(s) com lamínula(s), evitando a formação de bolhas. Secar o excesso de glicerina com papel absorvente. Limpar o dorso da lâmina.
- 13 Ler em microscópio de fluorescência. É conveniente fazer a leitura no mesmo dia. Entretanto, no caso de não ser possível, conservá-la(s) na geladeira (2-8°C), protegida(s) da luz e lê-las no dia seguinte. A glicerina não deve secar. Se isto ocorrer colocar mais glicerina.

## RESULTADOS

**Interpretação: Reação Negativa:** AUSÊNCIA de fluorescência amarelo-esverdeada no espiroqueta (*T. pallidum*). Geralmente não se observa o espiroqueta ou vê-se muito tenuamente.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 182 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Reação Positiva:** PRESENÇA de fluorescência amarelo-esverdeada característica no espiroqueta (*T.pallidum*).

**OBSERVAÇÃO:** Examinar sempre os controles positivo e negativo para controle da reação.

## RESULTADOS

Soros com reação negativa são informados como **NÃO REAGENTES** e significam indivíduos não infectados com títulos inferiores a 1/5. Soros com reação positiva são informados como **REAGENTES** e significam indivíduos infectados pelo *Treponema pallidum* ou infecção pregressa com títulos iguais ou superiores a 1/5.

Na maioria dos casos, mesmo após a cura da doença, o **FTA-Abs** persiste reagente por vários anos.

**Obs.:** Não se recomenda titular amostras positivas através deste método, pois títulos altos podem persistir por vários anos, isto não significa que o paciente encontra-se em qualquer fase de infecção ou seja outros métodos como VDRL ou RPR que são testes não treponêmicos podem indicar melhores situações de tratamento aliado a clínica deste paciente, caso se faça

## CONTROLE DA QUALIDADE

### LIMITAÇÕES DO MÉTODO

O uso deste método evita possíveis respostas não específicas, no entanto, os resultados devem ser usados em conjunto com informações disponíveis quanto da avaliação clínica e outros procedimentos diagnósticos. A fonte de luz, filtros e a óptica das diferentes marcas de microscópios de fluorescência influenciarão a sensibilidade do teste.

### Sensibilidade

**Sensibilidade Clínica ou Diagnóstica:** 100% de sensibilidade - Em 27 amostras do controle de qualidade, sabidamente positivas, foram comparadas e confirmadas. Todos os resultados foram satisfatórios, não apresentando falso-negativos.

**Especificidade:** 100% de especificidade - Em 273 amostras, do controle de qualidade, sabidamente negativas, foram comparadas e confirmadas. Todos os resultados foram satisfatórios, não apresentando falso-negativos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Center for Disease Control (1988). Recommendation for diagnosing and treating Syphilis in HIV-infected patients, MMWR Morb. MortalWkly Rep. 37:601
2. Fraser CM et al (1998). Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the Syphilis spirochete, Science 281: 324-325
3. Johnson PC, Farnie MA (1994). Testing for Syphilis. Dermatologic Clin. 12(1): 9-17.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 183 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

4. Marx Retal (1991). Crack, sex and STD. *Sex Transm Dis* 18(2):92-101.
5. Wasserheit JN (1992). Epidemiological synergy. Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases. *Sex Transm Dis*. 19(2):61-77

○ **Chagas HAI**

### **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

#### **FINALIDADE**

A hemaglutinação indireta baseia-se na propriedade que têm os anticorpos (que neste caso são anti-T. cruzi) de produzir aglutinação específica na presença de glóbulos vermelhos sensibilizados com antígenos citoplasmáticos e de membrana do *Trypanosoma cruzi*. **Chagatest HAI screening A-V** utiliza glóbulos vermelhos de ave, que aceleram a visualização da reação por ser de maior tamanho que os de carneiro. Os anticorpos interferentes, que podem causar aglutinação inespecífica, eliminam-se com a adição da solução protetora que possui inibidores destes anticorpos.

### **AMOSTRA**

#### **Amostras utilizadas**

Soro

- a) **Coleta:** o paciente deve estar preferivelmente em jejum. Obter o soro da maneira usual. Não utilizar plasma. As amostras inativadas pelo calor, podem ocasionar resultados falsos positivos.
- b) **Aditivos:** não são requeridos. Não adicionar conservantes.
- c) **Substâncias interferentes conhecidas:** são causa de resultados errôneos a hemólise e a hiperlipemia (com quilomicronemia).

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**

#### **Estabilidade e armazenamento do Kit**

O soro deve ser preferentemente fresco. Caso a amostra não seja processada na hora, pode-se conservar sob refrigeração (2- 10°C) durante 72-96 horas como máximo, a partir do momento da extração de sangue. Para períodos mais prolongados de conservação, congelar (-20°C) evitando repetir este procedimento.

### **REAGENTE UTILIZADO**

#### **Componentes do kit (Marca: Wiener)**

**Antígeno HAI A-V:** suspensão de glóbulos vermelhos de ave sensibilizados com antígenos citoplasmáticos e de membrana do T. cruzi em tampão fosfatos com C1Na 8,5 g/l e conservante < 0,1%.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 184 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Tampão HAI A-V:** solução fisiológica (8,5 g/l ClNa) tamponada com fosfatos 20 mmol/l, pH 7,1 e conservante < 0,1%.

**Solução Protéica A-V:** solução de proteínas, 5 g/dl e conservante < 0,1%.

**Controle Positivo:** soro inativado contendo anticorpos contra o *Trypanosoma cruzi* e conservante < 0,1%.

**Controle Negativo:** diluição de proteínas séricas não reativas e conservante < 0,1%.

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS

-Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se fossem capazes de transmitir infecção. Os controles encontram-se inativados. No entanto, devem ser usados como se tratando de material infectante.

- Os soros controles foram examinados para antígenos de superfície da hepatite B (HBsAg), anticorpos contra o vírus da hepatite C (anti-HCV) e vírus da imunodeficiência humana (HIV) encontrando-se não reativos.

- Todos os materiais empregados no ensaio devem ser destruídos a fim de assegurar a inativação dos agentes patogênicos.

-O método recomendado para este procedimento é autoclavar durante 1 hora a 121°C. Os líquidos de dejetos podem ser desinfetados com hipoclorito de sódio (concentração final 5%) durante no mínimo 60 minutos.

- Não misturar reagentes de diferentes kits e lotes.

- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

## MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

### 1- Fornecido

- Microplaca de 96 cavidades de fundo em V.

### 2- Não fornecido

- Micropipetas capazes de medir os volumes indicados. Vide PROCEDIMENTO.

- Tubos de hemólise e material volumétrico apropriado.

## PROCEDIMENTO

Selecionar uma microplaca com cavidades de fundo em V sem utilizar. Passar um pano úmido na base da mesma antes de utilizar e dispor-a horizontal. Vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO.

### I- PROVA QUALITATIVA

**1-** Em um tubo de hemólise colocar 400 ul de Diluente de Soros HAI A-V e adicionar 10 ul de soro ou controles (diluição 1/40).

**2-** Colocar 50 ul da diluição 1/40 do soro ou controles em uma cavidade da microplaca e adicionar 25 ul de Antígeno HAI A-V.

**3-** Misturar aplicando batidas suaves nas laterais da microplaca durante 30 segundos como mínimo.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 185 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- 4- Deixar em repouso, ao abrigo de vibrações durante 60 minutos a temperatura ambiente.
- 5- Ler a partir de 60 minutos. Pode-se aumentar a nitidez da apreciação, lendo sobre um espelho, iluminando a placa desde acima e interpondo um papel branco translúcido entre a microplaca e a fonte de luz.

## II- PROVA QUANTITATIVA

- 1- Em uma mesma série de 6 cavidades colocar 50 ul de Diluente de Soros HAI A-V nas cavidades 2, 3, 4, 5 e 6.
- 2- Pipetar 50 ul da diluição 1/40 de soro ou controles nas cavidades 1 e 2.
- 3- Transferir 50 ul desde a cavidade 2 à 3 e assim sucessivamente, descartando 50 ul da última cavidade, evitando a formação de bolhas.
- 4- Homogeneizar o Antígeno HAI A-V por inversão.
- 5- Adicionar a cada diluição 25 ul de Antígeno HAI A-V.
- 6- Agitar a microplaca aplicando batidas suaves nas laterais durante 30 segundos como mínimo.
- 7- Deixar em repouso, ao abrigo de vibrações durante 60 minutos.

Ler a partir de 60 minutos. O título do soro será aquele correspondente à maior diluição de soro reativo.

### Diluições correspondentes

CAVIDADE	1	2	3	4	5	6
TÍTULO	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280

## RESULTADOS

### CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO

O ensaio é considerado válido se cumpridas simultaneamente as seguintes condições:

- O Controle Negativo deve dar um botão nítido no fundo da cavidade.
- O Controle Positivo deve dar um filme ou manto no fundo da cavidade.

Se uma ou ambas condições não se cumprirem, repetir o ensaio.

### Interpretação:

**Não Reativo:** presença de um sedimento em forma de botão, nítido e de contorno uniforme no fundo da cavidade.

**Reativo Fraco:** manto pequeno no fundo da cavidade com botão bastante definido no centro.

**Fortemente Reativo:** formação de um filme ou manto as vezes de contornos irregulares no fundo da cavidade.

### VALORES DE REFERÊNCIA

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 186 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Entre as técnicas imunológicas, a HAI considera-se um método confiável para a determinação de anticorpos específicos.

No entanto, seus resultados, assim como aqueles de qualquer método sorológico, só constituem um dado adicional para o diagnóstico. Porém, os informes devem ser considerados em termos de probabilidade. Neste caso, maior ou menor probabilidade de parasitose por *T. cruzi*.

Consideram-se presumivelmente parasitados aqueles indivíduos cujos soros são reativos com títulos maiores ou iguais a 1/40.

Qualquer resultado reativo deve ser conferido por outra técnica. Deve-se lembrar o critério recomendado pelo Instituto Fátala Chaben, segundo o qual o imunodiagnóstico da infecção deve ser feito pelo menos com 2 dos seguintes métodos:

imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta, ELISA, aglutinação de partículas (látex), devidamente validado pelo Centro Nacional de Referência.

## ***CONTROLE DA QUALIDADE***

### ***LIMITAÇÕES DO MÉTODO***

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

Outras causas de resultados errôneos são:

- Falta de acondicionamento prévio da microplaca. Para eliminar a carga eletrostática é necessário passar um pano úmido pela base.
- Falta de homogeneização dos reagentes antes de seu uso.
- Deficiências de mistura.
- Vibrações acidentais durante o repouso necessário para o desenvolvimento da reação.
- Soros envelhecidos ou congelados e descongelados repetidamente.
- Soros inativados pelo calor.
- Contaminações acidentais dos reagentes ou do material utilizado no ensaio.
- Microplacas riscadas pelo uso. Não é aconselhável reutilizar cavidades em aquelas microplacas que não foram empregadas em sua totalidade.
- Diluente de Soros que não seja de preparação recente.
- Diluição da amostra feita por mais de 24 horas.

Deve-se lembrar que cada componente de **Chagatest HAI screening A-V** forma parte de um kit completo que deve-se considerar como unidade. Porém, não devem-se trocar os componentes de diferentes kits.

### **Sensibilidade**

#### **a) Sensibilidade e especificidade:**

Em populações endêmicas, utilizando **Chagatest HAI screening A-V**, o 100% dos títulos maiores e o 99% dos títulos menores de 1/40, foram confirmados por métodos de referência.

Em populações não endêmicas, o 100% dos indivíduos sadios apresentou títulos menores a 1/40 utilizando **Chagatest HAI screening A-V**.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 187 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **b) Estudo populacional**

Em um estudo realizado sobre 159 amostras provenientes de uma população hospitalar obteve-se uma sensibilidade de 95,3% e uma especificidade de 99,2%, confirmado por hemaglutinação

indireta e ELISA. Em outra população de 328 indivíduos provenientes de um banco de sangue de uma região não endêmica, obteve-se uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 98,7% comparando com métodos ELISA e hemaglutinação indireta.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Mazza, S. - Sexto Congreso Nacional de Medicina (Córdoba) pág. 155, 1938.
- Cerisola, J.A. - La Prensa Médica Argentina 49/34: 1761, 1962.
- Fontenla S., Moretti E. y González G. - 50° Triduo de la ABA, Huerta Grande (Córdoba), 1985.
- Basso A. y col. - 50° Triduo de la ABA. Huerta Grande (Córdoba), 1985.
- Lorenzo, L.; Capriotti, G.; Rojkin, F.; - Rev. Arg. de Transfusión XVII/1:51, 1991.
- Ministerio de Salud y Acción Social, Instituto Nacional de Parasitología "Doctor Mario Fatale Chabén" - Normas para el diagnóstico de la infección chagásica - Resolución ministerial 523/97, 1998.

### ○ **TOXO HAI**

## **PRINCÍPIO DE AÇÃO**

### **FINALIDADE**

**Toxotest HAI** baseia-se na propriedade que têm os anticorpos anti-T.gondii de produzir aglutinação na presença de glóbulos vermelhos sensibilizados com antígenos citoplasmáticos e de membrana do parasito. O emprego de ambos tipos de antígenos incrementa a sensibilidade do método e permite a detecção precoce da infecção.

Tanto a presença de anticorpos heterófilos como a aparição de IgM, características do período agudo da parasitose são investigados empregando-se tratamento com 2-mercaptoetanol (2-ME) e eritrócitos não sensibilizados para controle e absorção de heterofilia.

Os anticorpos heterófilos se absorvem com eritrócitos não sensibilizados. Nos soros de pacientes com infecção aguda tratados com 2-ME, observa-se uma queda do título em pelo menos duas diluições comparadas com os mesmos soros sem tratar com 2-ME.

### **AMOSTRA**

#### **Amostras utilizadas**

Soro

**a) Coleta:** o paciente deverá estar preferencialmente em jejum. Obter soro da maneira usual. Não utilizar plasma.

**b) Aditivos:** não são necessários. Não agregar conservantes.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 188 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** hemólise ou hiperlipemia (com quilomiconemia) são causa de resultados errôneos.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:**

O soro deve ser preferencialmente fresco. Caso de não se processar no momento, pode ser conservado a 2-10°C durante não mais de 72-96 horas, contadas a partir do momento da extração. Para períodos mais prolongados de conservação, congelar a – 20°C evitando congelamentos e descongelamentos repetidos.

Os soros envelhecidos tendem a se gelificar ao contato com 2-ME, provocando resultados falso-positivos.

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**

**Estabilidade e armazenamento do Kit**

**Reagentes Fornecidos:** são estáveis sob refrigeração (2- 10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

**Diluyente de Soros HAI:** é estável sob refrigeração (2-10°C) 5 dias a contar da data de sua preparação.

**GR não sensibilizados:** manter em posição vertical.

**2-Mercaptoetanol a 1%:** usar logo após preparado. **Antígeno HAI:** uma vez reconstituído, é estável durante 4 meses conservado sob refrigeração (2-10°C). Não congelar. Manter em posição vertical.

**INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES**

Quando o Controle Negativo e todas as diluições de soros são reativos, pode ser indício de autoaglutinação do Antígeno HAI. Conferir destinando uma cavidade da microplaca para misturar Antígeno HAI e Diluyente de Soros HAI, sem a amostra.

Se ainda assim se observa aglutinação, o reagente estará deteriorado. Desprezar. A ausência de reatividade em todas as diluições de soros e Controle Positivo pode ser indício de deterioração dos reagentes. Processar uma amostra com positividade conhecida.

**REAGENTE UTILIZADO**

**Componentes do kit (Marca: Wiener)**

**Reconstituente HAI:** solução fisiológica tamponada a pH 7.

**Antígeno HAI:** liofilizado de glóbulos vermelhos de carneiro sensibilizados com antígenos citoplasmáticos e de superfície de *T. gondii*.

**GR não sensibilizados:** suspensão a 1% de eritrócitos de carneiro não sensibilizados, para controle e absorção de heterofilia.

**Tampão HAI:** solução fisiológica tamponada com fosfatos a pH 7,5 com corante inerte.

**Solução PROTÉICA:** solução de albumina bovina.

**2-Mercaptoetanol:** ampola contendo 2-mercaptoetanol (2-ME).

**Controle Positivo:** soro inativo contendo anticorpos contra o *Toxoplasma gondii*.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 189 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Controle Negativo:** soro não reativo, inativo.

### Instruções de uso

**Antígeno HAI:** preparar com 5,2 ml de Reconstituente HAI. Esperar uma hora antes de usar agitando energeticamente cada 20 minutos para permitir uma reidratação correta do reagente. Homogeneizar mediante agitação cada vez que for utilizar.

**GR não sensibilizados:** homogeneizar mediante agitação antes de usar, evitando a formação de espuma.

**Diluyente de Soros HAI:** adicionar 0,2 ml de Solução Protéica a cada 10 ml de Tampão HAI. Misturar, rotular e datar.

**2-Mercaptoetanol:** uma vez aberta a ampola, transferir o conteúdo ao frasco vazio fornecido, o qual deverá ser fechado imediatamente após o uso.

**2-Mercaptoetanol a 1%:** com o 2-ME fornecido, preparar uma diluição 1/100 com solução fisiológica em quantidade suficiente de acordo com o número de cavidades que forem utilizados. Exemplo: para 96 cavidades: 25 ul de 2-ME em 2,5 ml de solução fisiológica.

**Controle Positivo:** pronto para uso.

**Controle Negativo:** pronto para uso.

### CUIDADOS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS

- Todas as Amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material potencialmente infectante. Os controles encontram-se inativos. No entanto, os mesmos deveram empregando como se tratando de material infectante.

- Os soros controles foram examinados para antígeno de superfície (HBsAg) e HIV encontrando-se não-reativos.

- Todo material utilizado no ensaio, deve ser destruído com o objetivo de inativar os agentes patológicos. O método que é recomendado para este procedimento é autoclavar durante 1 hora a 121°C. Os líquidos de dejetos podem ser desinfetados com hipoclorito de sódio (concentração final 5%) durante 60 minutos.

- Não trocar reagentes de diferentes kits e lotes.

- Não utilizar reagentes de outras origens.

- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

### MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

#### 1- Fornecido

- 1 frasco vazio (para transferir o 2-ME da ampola)  
- 5 microplacas com 96 cavidades de fundo em U (8 fileiras e 12 colunas)

- conta-gotas com misturador descartáveis

#### 2- Não fornecido

- microdiluidores (25 ul)  
- micro conta-gotas (25 ul)  
- tubos de ensaio e material volumétrico adequado  
- fita adesiva

### PROCEDIMENTO

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	<b>UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS</b>	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 190 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Selecionar uma microplaca com cavidades sem utilizar de fundo em U. Passar um pano úmido na base da microplaca antes de usar, colocá-la na posição adequada acima do pano e realizar o ensaio mantendo esta posição.

### **I- TITULAÇÃO SEM 2-ME**

- 1) Com o micro conta-gotas de 25 ul, colocar uma gota de Diluente de Soros HAI em todas as cavidades da microplaca.
- 2) Tomar uma alíquota de cada soro e ensaiar com microdiluidores de 25 ul (um para cada amostra) e colocar nas cavidades da coluna 1. Utilizar-se-ão tantas fileiras horizontais quantos forem os soros ou controles a serem processados.
- 3) Realizar diluições a partir da coluna 1 (diluição 1/2), passando os microdiluidores à coluna 2 (diluição 1/4) e assim sucessivamente até a coluna 6 (diluição 1/64). Se forem processados mais de 8 soros, utilizar as colunas 7 a 12, realizando as diluições da maneira descrita anteriormente.
- 4) Colocar nas colunas 1 e 2 (diluições 1/2 e 1/4) uma gota (25 ul) de GR não sensibilizados, para controle de heterofilia. Fazer o mesmo nas colunas 7 e 8 no caso de sejam utilizadas.
- 5) No resto das cavidades, adicionar uma gota (25 ul) de Antígeno HAI.
- 6) Agitar a microplaca, golpeando com os dedos nas paredes laterais durante 30 segundos no mínimo.
- 7) Deixar em repouso, ao abrigo de vibrações, durante 90 minutos.
- 8) A partir dos 90 minutos, ler. Pode-se aumentar a nitidez da apreciação, lendo-se sobre um espelho, iluminando a placa desde cima e interpondo um papel branco e translúcido entre a microplaca e a fonte de luz.

### **II- TITULAÇÃO COM 2-ME**

- 1) Pipetar uma gota de soro ou controles em cada uma das cavidades da coluna 1 (e 7, se necessário), utilizando conta-gotas com misturador descartáveis (um para cada soro) em posição vertical.
- 2) Adicionar 1 gota (25 ul) de 2-Mercaptoetanol a 1% às mesmas cavidades, utilizando um conta-gotas com misturador descartável.
- 3) Selar as cavidades com fita adesiva e agitar a microplaca, golpeando com os dedos as paredes laterais.
- 4) Incubar 30-60 minutos a 37°C ou 90 minutos em temperatura ambiente.
- 5) Retirar a fita adesiva, passar um pano úmido pela base da microplaca e, com micro conta-gotas de 25 ul, colocar uma gota de Diluente de Soro HAI nas cavidades restantes das fileiras utilizadas.
- 6) Realizar os passos 3 a 8 descritos na Titulação I.

### **III- TÉCNICAS ALTERNATIVAS**

Quando se estudam soros altamente reativos ou no caso de população com uma elevada prevalência de toxoplasmose onde habitualmente encontram-se títulos superiores a 1/32 podem ser utilizadas algumas das seguintes técnicas alternativas:

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 191 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Técnica alternativa 1:**

Continuar com as diluições até a coluna 12, inclusive com o que se obtém a diluição final de 1/4.096.

**Técnica alternativa 2:**

Colocar em um tubo "ad hoc" 50 ul de soro e 350 ul de Diluente de Soros (diluição 1/8). Tomar 25 ul desta diluição e colocá-la na coluna 1 da microplaca. Prosseguir conforme se descreve em I, até a coluna 6. Deste modo obtém-se uma diluição final de 1/512.

**IV- ABSORÇÃO SOBRE GLÓBULOS VERMELHOS NÃO-SENSIBILIZADOS**

Em soros que apresentam heterofilia, os anticorpos heterofilos podem absorver-se sobre GR não-sensibilizados da seguinte forma: em um tubo de hemólise com tampa, colocar 50 ul de GR não sensibilizados fornecidos + 50 ul do soro em ensaio.

Deixar a suspensão durante 30 minutos a 37oC agitando ocasionalmente. A seguir centrifugar a 2.000 r.p.m. durante 5 minutos. Tomar 50 ul do sobrenadante e utilizar como diluição 1/2, colocando-a na primeira coluna. Se utiliza-se em titulação com 2-ME, esta coluna corresponde a diluição 1/4.

**RESULTADO**

**Interpretação:**

**Titulação sem 2-ME**

Títulos  $\geq 16$  significam maior probabilidade de infecção toxoplasmática. A fim de determinar uma infecção primária recente, devem processar-se 2 amostras tomadas com intervalo de 2-3 semanas. Um aumento de título maior de 2 diluições entra a 1ª e a 2ª amostras indicam infecção recentemente adquirida.

**Titulação com 2-ME**

O surgimento de títulos baixos na titulação sem 2-ME e a reatividade com glóbulos vermelhos não-sensibilizados que desaparece ao se efetuar a titulação com 2-ME e/ou absorção com GR não-sensibilizados, seriam indicativos da existência de heterofilia. Por outro lado, títulos elevados sem o emprego de 2-ME que diminuem consideravelmente ao se utilizar o 2-ME indicariam a presença de IgM, característica de infecção aguda. Os controles de heterofilia neste caso devem fornecer reação negativa no soro sem tratamento ou através de absorção com GR não-sensibilizados.

**Não Reativo:** presença de um sedimento em forma de botão ou pequeno anel de bordas regulares.

**Reativo:** formação de uma película ou manto que cobre em 50% ou mais o fundo das cavidades.

**VALORES DE REFERENCIA**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 192 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Dentro das técnicas imunológicas, a HAI é considerada um método confiável para a determinação de anticorpos específicos.

No entanto, seus resultados, assim como os de qualquer método sorológico, apenas constituem um dado auxiliar para o diagnóstico.

Por esta razão, os informes devem ser considerados em termos de probabilidade. Neste caso, maior ou menor probabilidade de parasitose por *T. gondii*.

Consideram-se presumivelmente parasitados aqueles indivíduos cujos soros são reativos em diluições maiores ou iguais a 1/16.

Há que se observar que a concentração de anticorpos no soro varia em distintas populações, razão pela qual é possível encontrar soros reativos correspondentes a indivíduos não parasitados, por esta razão é necessário determinar os valores de referência da população em estudo.

## **CONTROLE DA QUALIDADE**

### **LIMITAÇÕES DO MÉTODO**

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

Outras causas de resultados errôneos são:

- Falta de acondicionamento prévio da microplaca. Para eliminar a carga eletrostática é necessário passar um pano úmido na base (vide PROCEDIMENTO).
- Falta de homogeneização dos reagentes antes de seu uso.
- Deficiências de mistura.
- Vibrações acidentais durante o repouso necessário para o desenvolvimento da reação.
- Soros envelhecidos ou congelados e descongelados repetidamente.
- Contaminações acidentais dos reagentes ou do material empregado no ensaio.
- Microplacas trincadas por uso repetido. Não se aconselha reutilizar as cavidades.
- Diluente de Soros HAI conservado por mais que 5 dias.
- Excesso ou falta do Diluente de Soros HAI nas cavidades das microplacas.
- Não respeitar os tempos e temperaturas de incubação no tratamento com 2-ME a 1%.
- 2-Mercaptoetanol a 1% não preparado no momento. Deve se ter em conta que neste tipo de infecção, as titulações isoladas fornecem informação escassa, pelo que se prefere efetuar determinações seriadas a cada 15-20 dias que permitem observar as variações nos títulos. Para este procedimento é conveniente conservar congeladas alíquotas das amostras de dias distintos e processá-las simultaneamente com os mesmos reagentes e com o mesmo operador.

Recordar que cada componente do **Toxotest HAI** forma um kit completo que deve ser considerado como unidade. Por este motivo, não se devem intercambiar os componentes de kits distintos.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Gomez Lus, R. y Benito Ruesca, R. - Medicine 33-2a serie - pág. 1.459 (1984).
- Jacobs, L.; Linde, M.N. - J. Parasitol. 43:308, (1957).



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 193 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

○ **CHAGAS ELISA (Wiener)**

## PRINCÍPIO DE AÇÃO

### FINALIDADE

Nesta técnica qualitativa para a detecção de anticorpos anti- T. cruzi, a amostra é diluída num suporte onde se encontram imobilizados antígenos recombinantes (1, 2, 13, 30, 36 e SAPA), provenientes de proteínas específicas das formas tripomastigota e epimastigota, constituindo-se em um método de 3ª geração. Estes antígenos são obtidos pela técnica de ADN recombinante partindo de proteínas específicas dos estágios epimastigota e tripomastigota do T. cruzi, correspondentes a zonas altamente conservadas entre diferentes cepas.

A tecnologia empregada permite assegurar uma mistura antigênica de composição conhecida e constante lote a lote, oferecendo resultados reproduzíveis, específicos e com alta sensibilidade. Se as amostras de soro contêm os anticorpos específicos, estes formarão um complexo com os antígenos e permanecerão unidos ao suporte.

A fração não ligada é eliminada por lavagem e após se acrescentam anticorpos anti-imunoglobulina humana conjugados com peroxidase. No caso de ocorrer a reação na primeira etapa do processo, o conjugado então se ligará. Após uma nova lavagem se acrescenta o substrato enzimático. A peroxidase presente no conjugado reagirá com o substrato promovendo o desenvolvimento de coloração azul. A reação é interrompida com ácido sulfúrico, que muda a coloração do azul para o amarelo.

### AMOSTRA

#### Amostras utilizadas

Soro ou plasma

- a) **Coleta:** obter soro da maneira usual. Não devem ser usadas amostras inativadas pelo calor.
- b) **Aditivos:** não são necessários para soro. Ao empregar plasma poderá ser utilizado qualquer anticoagulante de uso corrente na prática transfusional.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 194 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** a hemólise, hiperlipemia e outras causas de turbidez podem ser causa de resultados errôneos. Estas amostras devem ser clarificadas por centrifugação.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** as amostras não diluídas podem ser conservadas durante 7 dias entre 2-10°C. Para conservação por períodos mais prolongados devem

ser congelados a -20°C ou temperaturas menores. Evitar os congelamentos e descongelamentos reiterados. Existem evidências que mostram que os congelamentos sucessivos podem ser causa de resultados errôneos.

Se as amostras precisam ser transportadas, embalar de acordo com as especificações legais relativas ao envio de materiais infecciosos.

### **Estabilidade e armazenamento do Kit**

**Reagentes Fornecidos:** são estáveis sob refrigerador (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

**Tampão de Lavagem:** é estável 3 meses a temperatura ambiente.

**Policubeta sensibilizada:** as tiras de cubetas com antígeno imobilizado são fornecidas fechadas no vácuo e com dessecante. Não abrir o envoltório até o momento de uso, nem antes que esteja a temperatura ambiente, pois ao contrário se favorecerá a humectação do conteúdo. As tiras de cubetas não utilizadas devem ser conservadas na embalagem com o dessecante, fechado e a 2-10°C. As tiras conservadas nestas condições podem ser utilizadas nos 5 meses posteriores desde que não se ultrapasse a data de vencimento do kit.

## **REAGENTE UTILIZADO**

### **Componentes do kit**

**Policubeta sensibilizada:** policubeta de tiras removíveis com cubetas que contêm antígenos recombinantes de *Trypanosoma cruzi* imobilizados.

**Conjugado:** anti-imunoglobulinas humanas (cabra) conjugados com peroxidase.

**Revelador A:** peróxido de hidrogênio 60 mmol/l em tampão citrato 50 mmol/l pH 3,2.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 195 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

**Revelador B:** tetrametilbenzidina (TMB) 0,01 mol/l em ácido clorídrico 0,1 N.

**Stopper:** ácido sulfúrico 2 N.

**Tampão de Lavagem concentrado:** cloreto de sódio 1,4 mol/l em tampão fosfatos 100 mmol/l e tensoativo não iônico 0,1 g/l.

**Diluyente de Amostras:** albumina bovina em solução fisiológica tamponada com tampão fosfatos pH 7,2.

**Controle Positivo:** diluição de soro inativado contendo anticorpos contra o *Trypanosoma cruzi*.

**Controle Negativo:** diluição de soro não reativo, inativado.

### **CUIDADOS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS**

- Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se fossem capazes de transmitir infecção. Os controles encontram-se inativados. No entanto, devem ser usados como se tratando de material infectante.
- Os soros controles foram examinados para antígenos de superfície da hepatite B (HBsAg), vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da hepatite C, encontrando-se não reativos.
- Todos os materiais empregados no ensaio devem ser destruídos a fim de assegurar a inativação dos agentes patogênicos. O método recomendado para este procedimento é autoclavar durante 1 hora a 121°C. Os líquidos de dejetos podem ser desinfetados com hipoclorito de sódio (concentração final 5%) durante no mínimo 60 minutos.
- Não misturar reagentes de diferentes kits e lotes.
- Não usar reagentes de outra origem.
- As policubetas devem ser incubadas em estufa. Não usar banho-maria. Deve-se evitar abrir a estufa durante este processo.
- Evitar que vapores de hipoclorito provenientes dos recipientes para dejetos biológicos entrem em contato com a policubeta, já que o hipoclorito afeta a reação. Os reagentes são para uso diagnóstico “in vitro”.
- Evitar o contato do ácido sulfúrico com a pele ou mucosas.
- Evitar derramar os líquidos e a formação de aerossóis.

## **EQUIPAMENTOS**

- Micropipetas para medir os volumes indicados.
- Relógio alarme ou cronômetro.
- Estufa a 37°C.
- Espectrofotômetro para leitura de policubetas.
- Lavadora de policubetas.

## **PROCEDIMENTO**

### **I- TÉCNICA COM REVELADORES SEPARADOS**

Levar os reagentes e amostras a temperatura ambiente antes de iniciar a prova. Uma vez iniciada a análise deve ser completada sem interrupção.

Processar simultaneamente 2 Controles Positivos (CP), 3 Negativos (CN) e os Desconhecidos (D). Ao dispensar as amostras e/ou Controles sobre o Diluente de Amostras, deve assegurar-se de colocar os mesmos no centro do líquido e não sobre as paredes ou o fundo da cubeta. Enxaguar a pipeta com o Diluente dispensado na cubeta, para assegurar a correta homogeneização.

Nas cubetas a utilizar da policubeta colocar:

	D	CP	CN
Diluente de amostras	200 µl	200 µl	200 µl
Controle Positivo	---	10 µl	
Controle Negativo	---		10 µl
Amostras	10 µl	---	---

Misturar aplicando batidas suaves nas laterais da policubeta durante 10 segundos após pipetadas as amostras

em cada tira. No procedimento manual, para evitar a evaporação, cobrir a placa e incubar em estufa 30 +/-2 minutos a 37 +/- 2°C. Após, aspirar cuidadosamente o líquido de cada cubeta desprezando-o em um recipiente para dejetos biológicos que contenha hipoclorito de sódio a 5%. Na continuação, lavar 5 vezes com Tampão de Lavagem (preparado conforme as instruções de uso da página. 1) empregando aproximadamente 300 ul/vez/cubeta. Após cada lavagem o líquido deve ser descartado no recipiente com hipoclorito. Empregar lavador automático. Ao finalizar a última lavagem, eliminar completamente o líquido residual, invertendo a policubeta e batendo-a várias vezes sobre papel absorvente, exercendo uma leve pressão com a mão nas laterais maiores do suporte, para evitar a caída das tiras de cubetas. Após adicionar em cada cubeta:

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 197 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Conjugado	50 µl	50 µl	50 µl
-----------	-------	-------	-------

Pode-se colocar 1 gota, utilizando o frasco gotejador fornecido. Misturar aplicando batidas suaves nas laterais da policubeta durante 10 segundos. No procedimento manual, para evitar a evaporação, cobrir a placa e incubar durante  $30 \pm 2$  minutos em estufa a  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ . Após, aspirar o líquido das cubetas, desprezando-o no recipiente com hipoclorito e lavar conforme se indicou anteriormente. Ao finalizar a última lavagem, eliminar completamente o líquido residual, invertendo a policubeta e batendo-a várias vezes sobre papel absorvente, exercendo uma leve pressão com a mão sobre as laterais maiores do suporte, para evitar a caída das tiras de cubetas. Após adicionar em cada cubeta respeitando a ordem dos reagentes:

Revelador A	50 µl	50 µl	50 µl
Revelador B	50 µl	50 µl	50 µl

Pode-se colocar 1 gota de cada Revelador, utilizando o frasco gotejador fornecido. Misturar aplicando batidas suaves nas laterais da policubeta durante 10 segundos. Incubar  $30 \pm 2$  minutos a temperatura ambiente ( $18-25^\circ\text{C}$ ), após adicionar:

Stopper	50 µl	50 µl	50 µl
---------	-------	-------	-------

Pode-se colocar 1 gota, utilizando o frasco gotejador fornecido. Misturar aplicando batidas suaves nas laterais da policubeta durante 10 segundos. Ler em espectrofotômetro a 450 nm ou efetuar leitura bicromática a 450/620 nm.

## II- TÉCNICA COM REVELADORES PRE-MISTURADOS

Levar os reagentes e amostras a temperatura ambiente antes de iniciar a prova. Uma vez iniciada a análise deve ser completada sem interrupção.

Processar simultaneamente 2 Controles Positivos (CP), 3 Negativos (CN) e os Desconhecidos (D). Ao dispensar as amostras e/ou Controles sobre o Diluente de

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	<b>UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS</b>	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 198 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Amostras, deve assegurar-se de colocar os mesmos no centro do líquido e não sobre as paredes ou o fundo da cubeta. Enxaguar a pipeta com o Diluente dispensado na cubeta, para assegurar a correta homogeneização.

Nas cubetas a utilizar da policubeta colocar:

	D	CP	CN
Diluente de amostras	200 µl	200 µl	200 µl
Controle Positivo	---	10 µl	
Controle Negativo	---		10 µl
Amostras	10 µl	---	---

Misturar aplicando batidas suaves nas laterais da policubeta durante 10 segundos após pipetadas as amostras

em cada tira. No procedimento manual, para evitar a evaporação, cobrir a placa e incubar em estufa 30-35 minutos a  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ . Após, aspirar cuidadosamente o líquido de cada cubeta desprezando-o em um recipiente para dejetos biológicos que contenha hipoclorito de sódio a 5%. Na continuação, lavar 5 vezes com Tampão de Lavagem (preparado conforme instruções de uso da página. 1) empregando aproximadamente 300 ul/vez/cubeta.

Após cada lavagem o líquido deve ser descartado no recipiente com hipoclorito. Empregar lavador automático. Ao finalizar a última lavagem, eliminar completamente o líquido residual, invertendo a policubeta e batendo-a várias vezes sobre papel absorvente, exercendo uma leve pressão com a mão sobre as laterais maiores do suporte, para evitar a caída das tiras de cubetas. Após adicionar em cada cubeta:

Conjugado	50 µl	50 µl	50 µl
-----------	-------	-------	-------

Pode-se colocar 1 gota, utilizando o frasco gotejador fornecido. Misturar aplicando batidas suaves nas laterais da policubeta durante 10 segundos. No procedimento manual, para evitar a evaporação, cobrir a placa e incubar durante 20-25 minutos em estufa a  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ .

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 199 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Após, aspirar o líquido das cubetas, desprezando-o no recipiente com hipoclorito e lavar conforme se indicou anteriormente. Ao finalizar a última lavagem, eliminar completamente o líquido residual, invertendo a policubeta e batendo-a várias vezes sobre papel absorvente, exercendo uma leve pressão com a mão sobre as laterais maiores do suporte, para evitar a caída das tiras de cubetas. Após adicionar uma mistura de partes iguais de Revelador A + Revelador B (estável 24 horas):

Reveladores Misturados	100 µl	100 µl	100 µl
---------------------------	--------	--------	--------

Misturar aplicando batidas suaves nas laterais da policubeta durante 10 segundos.  
Incubar 20-25 minutos a temperatura ambiente (18-25°C), após adicionar:

Stopper	50 µl	50 µl	50 µl
---------	-------	-------	-------

Pode-se colocar 1 gota, utilizando o frasco gotejador fornecido. Misturar aplicando batidas suaves nas laterais da policubeta durante 10 segundos. Ler em espectrofotômetro a 450 nm ou efetuar leitura bicromática a 450/620 nm.

A cor da reação é estável durante 30 minutos, portanto os resultados devem ser observados durante este período.

## RESULTADO

**Interpretação:** A presença ou ausência de anticorpos anti-*T. cruzi* é determinada relacionando a absorbância da amostra com o valor do Cut-off.

Cut-off = CNx + 0,300 D.O.

onde CNx: média das leituras do Controle Negativo.

Zona de indeterminação: Cut-off ± 10%

**Amostras Não Reativas:** são consideradas aquelas com absorbâncias menores que o limite inferior da zona de indeterminação.

**Amostras Reativas:** são consideradas aquelas com absorbâncias maiores que o limite superior da zona de indeterminação.

**Amostras Indeterminadas:** são consideradas aquelas com absorbâncias que caem dentro da zona de indeterminação. Estas amostras devem ser ensaiadas novamente.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 200 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO DA PROVA

A prova é considerada válida se cumpridas simultaneamente as seguintes condições:

- a) As leituras de pelo menos 2 dos 3 Controles Negativos corrigidas contra o Branco de Reagente devem ser menores ou iguais a 0,150 D.O.
- b) A leitura média dos Controles Positivos corrigida deve ser maior ou igual a 0,600 D.O. Se uma ou ambas as condições não se cumprirem, repetir a prova. Para ambos os casos lembrar que as leituras obtidas dependerão da sensibilidade do aparelho empregado.

## CONTROLE DA QUALIDADE

### LIMITAÇÕES DO MÉTODO

#### Sensibilidade

Não se observa diferença significativa nos resultados obtidos na performance, utilizando os dois procedimentos anteriores.

- a) **Sensibilidade:** num painel de 70 amostras com xenodiagnóstico e sorologia positivos a sensibilidade estima-se em 100%. Em outro painel de 144 amostras com sorologia positiva com métodos de hemaglutinação indireta, imunofluorescência indireta e outros ELISA, a sensibilidade estima-se em 99,5%.
- b) **Especificidade:** num painel de 75 amostras com xenodiagnóstico e sorologia negativos, a especificidade estima-se em 98,7%. Em outro painel de 200 amostras com sorologia negativa por métodos de hemaglutinação indireta, imunofluorescência indireta e outros ELISA, a especificidade estima-se em 100%.
- c) **Estudo populacional:** em uma população geral que inclui indivíduos sadios, doadores, chagásicos e com outras patologias, a correlação em relação a métodos confirmatórios foi de 99,6%.

A sensibilidade do método (seus resultados) ao igual que os de qualquer método sorológico, só constituem mais um dado auxiliar em termos de probabilidade. Por essa razão os informes devem ser considerados prováveis. Neste caso, maior ou menor probabilidade de parasitose por *T. cruzi*.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 201 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Qualquer resultado Reativo, deve ser conferido por outra técnica. Deve-se lembrar o critério recomendado pelo "Instituto Fatale Chaben" segundo o qual o imunodiagnóstico da infecção deve ser feito pelo menos por dois dos seguintes métodos: imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta, ELISA, aglutinação de partículas (látex), devidamente validados pelo Centro Nacional de Referência.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Frasch, A.; Reyes, M. - Parasitol. Today 6/4, 1990. Affranchino, J. et al. - Mol. Biochem. Parasitol. 34:221, 1989.
- Pastini, A.C.; Iglesias, S.R.; Carricarte, V.C.; Guerin, M.E.; Sánchez, D.O.; Frasc, A.C. - Clin. Chem. 40/10:1893, 1994.
- Iglesias, S.R. - Instituto de Investigaciones Bioquímicas "Fundación Campomar", Buenos Aires, 1991.
- Knecher, L.M.; Rojkín, L.F.; Capriotti, G.A.; Lorenzo, L.E.- Int. J. Parasitol. 24/2: 207-211 (1994).
- Knecher, L.M.; Capriotti, G.A.; Rojkín, L.F.; Lorenzo, L.E. - Rev. Asoc. Bioq. Arg. 58/3:125, 1994.
- Capriotti, G.A.; Felcaro, M.V.; Toplikar, E.M.; Gariglio, R.C. Congreso A.A.C.C., 23-27 julio San Francisco, California - U.S.A., 2000.
- Ministerio de Salud y Acción Social, Instituto Nacional de Parasitología "Doctor Mario Fatale Chabén" - Normas para el diagnóstico de la infección chagásica - Resolución ministerial 523/97, 1998.
- Capriotti, G.A.; Felcaro, M.V.; Toplikar, E.M.; Gariglio, R.C. 52° Annual Meeting AACC, San Francisco, CA - Clin. Chem. 46/S6:A51, Abs 190A, 2000.

### **Fluidos Corporais**

#### ○ **EAS**

#### **NOME DO EXAME**

Sinonímia

Urina do tipo 1;

Urina parcial;

EAS (elementos anormais e sedimento);

O exame de urina é um prático e preciso meio de avaliação da função renal do organismo humano, sendo portanto, um elemento de diagnóstico no estudo das patologias renais e afins, através da coleta da urina.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 202 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

## **AMOSTRA**

### **Amostras utilizadas**

- Amostra de escolha: Primeira urina da manhã, jato médio, sem preservativos.
- Alternativa: Amostra de urina aleatória, colhida após 4 horas da última micção.

## **ORIENTAÇÃO PARA TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRA**

- Manter a amostra ao abrigo da luz. Transportar a amostra para o laboratório imediatamente.
- Caso o exame não possa ser realizado em até duas horas após a coleta, recomendasse armazenar a amostra, imediatamente após a coleta, sob refrigeração entre 4 – 8° C por até 6 – 8 horas, em recipiente fechado.

## **INDICAÇÃO CLÍNICA**

Diagnóstico e monitoramento de:

- Doenças renais e do trato urinário;
- Doenças sistêmicas ou metabólicas;
- Doenças hepáticas e biliares;
- Desordens hemolíticas.

## **CUIDADOS PARA COLETA**

Utilizar frascos descartáveis, não reutilizados e estéreis.  
Não adicionar agentes conservantes a amostra de urina.

## **PREPARO DO PACIENTE**

Recomenda-se que a coleta seja realizada após 8 horas de repouso, antes da realização das atividades físicas habituais do indivíduo e, preferencialmente, em jejum. Alternativamente, a amostra de urina pode ser coletada em qualquer momento do dia, preferencialmente após 4 horas da última micção. O paciente deve ser orientado com relação ao procedimento de coleta de urina de jato médio.

## **MATERIAIS**

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 203 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- Câmara de Neubauer ou Lâmina e Lamínula
- Pipeta de pasteur
- Estante para tubos
- Tubos tipo falcon 10 ml
- Centrifuga
- Microscópio

## PROCEDIMENTO

### ✓ Análise dos Aspectos Físicos

- Cor – Análise visual da cor da urina.
- Densidade – Juntamente com a análise química, imergindo a tira de urina na amostra a ser analisada (ver procedimento abaixo)
- Aspecto – Análise visual do aspecto da urina.
- Ph – Juntamente com a análise química, imergindo a tira de urina na amostra a ser analisada. (ver procedimento abaixo)

### ✓ Análise Química

Realizada através de tiras reativas para determinação manual com leitura visual ou automatizada em amostras de urina, dos seguintes parâmetros: sangue, urobilinogênio, bilirrubina, proteínas, nitrito, corpos cetônicos, glicose, Ph, densidade e leucócitos.

Protocolo:

1. Conferir no rótulo a validade do produto
2. Retirar uma tira do frasco e tampa-lo imediatamente após.
3. Inspeccionar a fita procurando por indícios de alterações eventualmente provocadas por umidade ou manipulação indevida da tira, que podem ser observadas através de escurecimento ou descoloração das áreas reativa.
4. Imergir completamente as áreas reagentes na amostra de urina por cerca de 1 segundo. Não permanecer com a fita por mais de tempo na urina para evitar a dissolução dos reagentes.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 204 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

5. Escorrer o excesso de urina inclinando e deslizando a fita pela borda do recipiente da própria amostra ou através de um papel toalha.
6. Mantenha a tira em posição horizontal enquanto decorre o tempo de reação, ou seja, entre 30 a 60 segundos (Leucócitos devem ser avaliados entre 60 e 120 segundos)
7. Nota: As etapas 5 e 6 tem como objetivo evitar a contaminação entre reagentes de áreas adjacentes.
8. Após esse tempo, compare cuidadosamente, sob boas condições de iluminação, as cores formadas em cada área com a escala de cores fornecida no rótulo de cada tubo. Mudanças de cores que ocorram após 2 minutos ou apareçam apenas nas bordas das áreas de reação não tem valor diagnóstico.
9. Descartar a fita usada em recipiente adequado.

✓ **Análise Microscópica**

1. Usando tubos cônicos, enchê-los de urina até a marca de 10 mL.
2. Centrifugar os tubos a 2500 r.p.m. por 10 minutos.
3. Retirar o sobrenadante deixando 1 mL no tubo
4. Agitar o tubo e colocar a urina com uma pipeta, na câmara de Neubauer
5. Proceder leitura no microscópio (40x) - primeiro focar com uma objetiva menor e depois proceder para a objetiva maior.

**Contagem no exame microscópico:**

1. Se for contado um quadrante: multiplicar o valor de hemácias e leucócitos encontrados por 1.000
2. Se for contado os 4 quadrantes da câmara, multiplicar o valor encontrado por 250 e liberar o resultado por mL.
3. Cilindros multiplicar o valor encontrado por 110, separando os tipos encontrados.

É importante observar se a quantidade de elementos está homogênea no quadrante para não obter resultados enganosos. Se por exemplo encontrar 10 leucócitos em

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 205 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

um quadrado, observar se a média de, pelo o menos, 3 quadrados está a mesma. Se no caso encontrar muitos leucócitos e poucas hemácias ou vice-verso, observar e fazer a contagem individual do elemento no quadrante inteiro.

**OBSERVAR:** A PRESENÇA DE: LEVEDURAS, CILINDROS, HEMÁCIAS FANTASMAS, FILAMENTOS DE MUCO, CRISTAIS, ESPERMATOZÓIDES, TRICHOMONAS VAGINALIS.

**Descrição:**

Filamentos de Muco: Raros, Vários, Alguns, Numerosos

Leveduras: Raras, Várias, Algumas, Numerosas

Cristais: Raros, Vários, Alguns, Numerosos (Citar o tipo encontrado)

Trichomonas Vaginalis: Citar presença

Espermatozóides: Citar presenças (apenas em urinas de homens).

Bactérias: Raros, Vários, Alguns, Numerosos

**RESULTADO**

**INTERPRETAÇÃO**

Valores de referência:

**Caracteres Gerais**

**Cor:** Amarelo Citrino; **Odor:** característico; **Aspecto:** límpido; **Densidade:** 1,005 – 1,030; **pH:** 4,5 – 7,8

**Exame Bioquímico**

**Proteínas:** negativo; **Glicose:** negativo; **Cetonas:** negativo; **Sangue:** negativo; **Leucócitos:** negativo; **Nitrito:** negativo; **Bilirrubina:** negativo; **Urobilinogênio:** até 1 mg/dL; **pH:** 4,5 – 7,8; **Densidade:** 1,005 – 1,030

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 206 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### **Sedimentoscopia**

Hemácias:

Homens: 0 – 3/campo 400X

Mulheres: 0 – 5/campo 400X

Leucócitos: 0 – 4/campo 400X

Epitélios: 0 – 1 (pavimentoso)/campo 400X

Cilindros: 0 – 1 (hialino)/campo 100X

Flora microbiana: Ausente ou escassa

### **Modelo Laudo EAS**



**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA**  
**Laboratório Escola de Análises Clínicas**  
**Bloco/ Sala: M 220 – Telefone: 3356-9177**

### **Exame de urina de rotina**

**Nome:**

**Data de nasc.:**

**Documento:**

**Contato:**

**Médico responsável:**

**Instituição:**

**Localidade:**

**Código do exame:**

**Código da coleta:**

**Data do exame:**

**Data de entrega:**

**Resultado emitido em:**

### **Análise Físico-Química**

	<b>Resultado</b>	<b>Valor de referência</b>
<b>Volume</b>		50-100 ml
<b>Cor</b>		Amarelo citrino
<b>Aspecto</b>		Límpido
<b>Densidade</b>		1.015 a 1.025
<b>pH</b>		4.8 a 7.4
<b>Glicose</b>		Ausente
<b>Cetonas</b>		Negativo

<b>Proteínas</b>		Negativo ou < 10 mg/dL ou 0,05 g/L
<b>Sangue</b>		Negativo
<b>Bilirubina</b>		Negativo (< 0.2 mg/dL)
<b>Urobilinogênio</b>		Normal (<1 mg/dL)
<b>Nitrito</b>		Negativo
<b>Leucócitos</b>		Negativo
<b>Ácido ascórbico</b>		-

### **Microscopia do Sedimento**

	<b>Resultado</b>	<b>Valor de referência</b>
<b>Células epiteliais</b>	P/C	-
<b>Muco</b>		-
<b>Hemácias</b>	P/C	Menos que 3 a 5 hemácias por campo
<b>Piócitos</b>	P/C	Menos de 5 células por campo
<b>Bactérias</b>		-
<b>Leveduras</b>		Ausente
<b>Trichomonas</b>		Ausente
<b>Cilindros</b>		Ausente
<b>Cristais</b>		Ausente

Observações:

\_\_\_\_\_  
Biomédico responsável/ n° CRBM

---

### **COMENTÁRIOS CLÍNICOS**

1. As principais causas de erro e de resultados falsos do exame de urina estão relacionadas à fase préanalítica (preparo do paciente, coleta, transporte e armazenamento da amostra).
2. Em urinas armazenadas entre 4 e 8°C pode haver a precipitação de solutos como uratos e fosfatos que interferem no exame microscópico. Leucócitos e hemácias podem sofrer lise e os cilindros podem se dissolver, com redução significativa de seu número após 2 a 4 horas. Quanto maior o tempo de armazenamento, maior a

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 208 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

decomposição dos elementos, especialmente quando a urina está alcalina (pH >7,0) e a densidade é baixa ( $\rho$  1,010).

3. **Proteinúria:** é provavelmente o achado isolado mais sugestivo de doença renal, especialmente se associado a outros achados do exame de urina (cilindrúria, lipidúria e hematúria).
4. **Glicosúria:** pode ocorrer quando a concentração de glicose no sangue alcança valores entre 160 e 200 mg/dL ou devido a distúrbio na reabsorção tubular renal da glicose: desordens tubulares renais, síndrome de Cushing, uso de corticoesteróides, infecção grave, hipertireoidismo, feocromocitoma, doenças hepáticas e do sistema nervoso central e gravidez.
5. **Cetonúria:** As principais condições associadas são diabetes mellitus e jejum prolongado.
6. **Sangue:** a **hematúria** resulta de sangramento em qualquer ponto do trato urinário desde o glomérulo até a uretra, podendo ser devido a doenças renais, infecção, tumor, trauma, cálculo, distúrbios hemorrágicos ou uso de anticoagulantes. A pesquisa de hemácias dismórficas auxilia na distinção das hematúrias glomerulares e não glomerulares. A **hemoglobinúria** resulta de hemólise intravascular, no trato urinário ou na amostra de urina após a colheita. Os limites de detecção das tiras reagentes são: 5 hemácias por campo de 400X (hematúria) ou 0,015 mg de hemoglobina livre por decilitro de urina (hemoglobinúria).
7. **Leucocitúria (ou piúria):** está associada à presença de processo inflamatório em qualquer ponto do trato urinário, mais comumente infecção urinária (pielonefrite e cistite), sendo, portanto, acompanhada com frequência de bacteriúria. A tira regente detecta tanto leucócitos íntegros, como lisados, sendo, portanto, o método mais sensível.
8. **Nitrito:** sugere o diagnóstico da infecção urinária, especialmente quando associado com leucocitúria. Indica a presença de 10<sup>5</sup> ou mais bactérias/mL de urina, capazes de converter nitrato em nitrito, principalmente *Escherichia coli*.
9. **Bilirrubinúria:** observada quando há aumento da concentração de bilirrubina conjugada no sangue (> 1 a 2 mg/dL), geralmente secundária a obstrução das vias biliares ou lesão de hepatócitos.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 209 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

10. Urobilinogênio aumentado: observado nas condições em que há produção elevada de bilirrubina, como nas anemias hemolíticas e desordens associadas a eritropoiese ineficaz, e nas disfunções ou lesões hepáticas (hepatites, cirrose e insuficiência cardíaca congestiva).
11. Cilindros: importantes marcadores de lesão renal, podem aparecer em grande número e de vários tipos dependendo da gravidade e do número de néfrons acometidos. Cilindros largos, em geral céreos ou finamente granulados, são característicos da insuficiência renal crônica. Cilindros leucocitários podem ocorrer em condições inflamatórias de origem infecciosa ou não-infecciosa, indicando sempre a localização renal do processo. A presença de cilindro eritrocitário está associada a hematúria glomerular.
12. Células epiteliais: as escamosas revestem a porção distal da uretra masculina, toda a uretra feminina e também a vagina e são as mais comumente encontradas no exame do sedimento urinário. A presença de número aumentado de células epiteliais escamosas indica contaminação da amostra de urina com material proveniente da vagina, períneo ou do meato uretral.
13. Flora bacteriana: A presença de bactérias na urina pode estar relacionada à infecção urinária, mas apresenta baixa especificidade para esse diagnóstico.

○ **Espermocitograma**

**I) FASE PRÉ-ANALÍTICA**

O paciente deverá receber instruções fáceis de serem entendidas, se possível por escrito. Nestas instruções devem estar contidas explicações sobre a forma de coleta, tempo de entrega (se material for coletado em domicílio), perdas de material clínico, temperatura ambiente e de transporte, hora da coleta e/ou entrega no laboratório, principalmente para que haja tempo hábil, dentro de horário de funcionamento do laboratório clínico.

**II) INSTRUÇÕES SOBRE A COLETA DO SÊMEN PARA O ESPERMOCITOGRAMA**

- 1- O paciente deverá estar por 3 a 5 dias em total abstinência sexual (sem relações sexuais ou masturbações)

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 210 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

- 2- O espermatozoide deverá ser coletado por auto-masturbação. Sem nenhum tipo de lubrificantes. A coleta por coito interrompido não é recomendado em decorrência da possível perda de parte do primeiro jato.
- 3- Não é permitido o uso de preservativos pela ação espermaticida do látex
- 4- Se a coleta for realizada em domicílio, o paciente deverá obter frasco para a coleta oferecido pelo laboratório.
- 5- O paciente deverá urinar antes da coleta e fazer boa higienização das mãos e do pênis
- 6- O paciente não deverá perder partes do sêmen durante a coleta. Fechar o frasco e anotar o horário da coleta no rótulo do frasco.
- 7- Nas coletas domiciliares, o material deverá ser entregue no laboratório no prazo de 1 hora.
- 8- Informações importantes que o paciente deve dar ao laboratório:
  - a) Profissão (se submetido a radiações ionizantes, agrotóxicos)
  - b) Doenças anteriores (caxumba, hérnias, varicocele...)
  - c) Vícios (tabagismo, etilismo e outros)
  - d) Motivo do exame (controle de tratamento de infertilidade, pré-nupcial, outros)
  - e) Medicação pregressa, recente ou atual
  - f) Filhos anteriores ao estado infértil

### III) FASE ANALÍTICA

#### 1) Coagulação-Liquefação

A primeira ejaculação é rica em espermatozoides, líquido epididimário e líquido prostático que é rico em enzimas de liquefação.

As ejaculações posteriores são ricas em proteínas com propriedades de coagulação, provenientes das vesículas seminais.

Duas proteínas produzidas pelas vesículas seminais estão envolvidas no processo de liquefação: a Fibronectinae e Lactoferrina.

A Fibronectina se liga a Semenogelina, que é uma proteína predominantemente encontrada no líquido seminal, para depois com interações iônicas e variações abruptas do pH, sofrer ação das proteínas líticas ou espermolisinas.

O espermatozoide passa por 3 fases após ser ejaculado:

- a) Uma fase inicial liquefeita;
- b) Uma segunda fase de coagulação;
- c) E uma terceira fase de liquefação (também chamada de Liquefação secundária)

### IV) VISCOSIDADE

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 211 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

A viscosidade elevada é uma anormalidade que não tem haver diretamente com as alterações da liquefação, com a ausência de liquefação secundária ou liquefação parcial ou incompleta. A viscosidade pode ser normal ou diminuída em casos de alterações da Coagulação-Liquefação.

#### MÉTODO PARA AVALIAÇÃO DA VISCOSIDADE:

1. Mergulhar com uma bastão de vidro no esperma recém-liquefeito
2. Deixar o material gotejar
3. Media a filância do esperma com a régua

#### V) ASPECTO E ODOR

O aspecto sofre alterações à medida que os fenômenos de coagulação e liquefação vão ocorrendo.

Passa de um estado gelatinoso, com aspecto heterogêneo e espesso a um estado iquefeito, mais fluido e homogêneo, na maioria dos casos.

O esperma tem um odor característico, que alguns autores comparam a Cloro ou hipoclorito de sódio, que vai se acentuando com o tempo, após o ejaculado. Isso ocorre em decorrência da presença de três aminas polialifáticas chamadas: Putrescina, Espermidina e Espermina.

#### VI) pH

O pH é resultado da mistura das secreções das vesículas seminais e da secreção prostática. As vesículas seminais produzem uma secreção com pH elevado, acima de 8,0. O líquido prostático tem o pH ácido, que pode variar de 5,0 a 6,0.

#### MÉTODO PARA AVALIAÇÃO DO pH:

1. Tira reativa
2. Leitura

Valor de referencia para o pH espermático: 7,2 a 8,2.

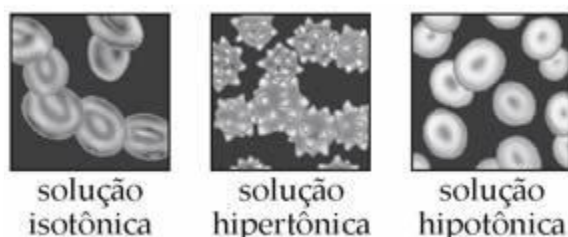
#### ○ Regulação Matabólica

##### Teste de Resistência Globular

A membrana celular das hemácias é semipermeável à água e eletrólitos. Em presença de uma solução salina tamponada hipertônica, as hemácias perdem líquido celular, tornando-se crenadas. Em meio hipotônico, a água passa para o interior das células, distendendo suas membranas. A penetração de água e as alterações eletrolíticas provenientes alteram a molécula de hemoglobina, permitindo sua passagem pelos poros das membranas. A concentração de soluto de hemoglobina resultante é

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 212 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

determinada fotocolorimetricamente e comparada com curvas-padrão construídas a partir de sangue normal.



Fragilidade osmótica diminuída ocorre nas hipocromias e em número significativo de hemácias em alvo. Assim, as anemias ferroprivas, sideroblásticas, talassemia, das doenças hepáticas crônicas e pós-esplenectomia implicam fragilidade osmótica diminuída.

Fragilidade osmótica aumentada ocorre na presença de esferócitos por aumento da razão volume/área de superfície. A esferocitose hereditárias e algumas anemias hemolíticas induzidas por anticorpo são situações comuns.

#### Reagentes:

- Cloreto de sódio 0,2 M (estoque)
- Cloreto de sódio 0,15 M (Solç. Fisiológica)
- Cloreto de sódio 0,08 M
- Cloreto de sódio 0,02 M
- Suspensão de eritrócitos em cloreto de sódio 0,15 M

Suspensão de eritrócitos: adicionar em torno de 10 ml de solução fisiológica para cada 5 ml de sangue colhido com qualquer anticoagulante, misturar por inversão e centrifugar por 10 minutos a uma velocidade de 3.000 rpm em centrifuga clínica. Retirar com cuidado o líquido sobrenadante (plasma com solução fisiológica). Repetir esta lavagem mais duas vezes e ressuspender as células em 5 ml de solução fisiológica.

#### Técnica:

5. Numerar quatro tubos de ensaio e distribuir os reagentes conforme indicado a seguir:

Tubos / Reagentes	1	2	3	4
NaCL 0,02M	5 mL	---	---	---
NaCL 0,08M	---	5 mL	---	---
NaCL 0,15M	---	---	5 mL	---
NaCL 0,2M	---	---	---	5 mL

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 213 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

Suspensão de eritrócitos	5 gotas	5 gotas	5 gotas	5 gotas
--------------------------	---------	---------	---------	---------

2. Agitar por inversão;
  3. Centrifugar a 3.000 rpm (em centrífuga clínica) por 10 minutos, verificar e anotar as mudanças ocorridas;
  4. Justificar os resultados obtidos.
- Determinação do Espectro de Absorção de Corantes e Construção de uma Curva-padrão

### **Introdução:**

A determinação da concentração de um soluto em uma solução-problema por espectrofotometria envolve a comparação da absorbância da solução-problema com uma solução de referência, na qual já se conhece a concentração do soluto. Em geral, é utilizada uma solução-padrão com diferentes concentrações (pontos), que tem sua absorbância determinada. Esses pontos são preparados diluindo-se a solução-padrão na proporção necessária para a obtenção das concentrações desejadas.

Com os valores de absorbância e de concentração conhecidos, pode-se traçar um gráfico cujo perfil é conhecido como “curva de calibração” ou “curva-padrão”. Nesse gráfico, a reta, que deve passar obrigatoriamente pela origem, indica a proporcionalidade entre o aumento da concentração e da absorbância e a porção linear correspondente ao limite de sensibilidade do método espectrofotométrico para o soluto em questão.

### **Objetivos:**

- Determinar o espectro de absorção de soluções de azul de bromofenol (ABF) e metilorange (MO ou alaranjado de metila).
- Caracterizar o comprimento de onda ( $\lambda$ ) onde ocorre absorção máxima.
- Construir uma curva-padrão para cada um dos corantes nos  $\lambda$ s adequados.

### **Técnica:**

1. Padronizar 12 cubetas separando as que possuem absorbância próxima utilizando  $\lambda = 450$  nm.
2. Em uma cubeta, colocar aproximadamente 1,3 mL de MO 0,01 mg/mL.
3. Em outra cubeta, colocar aproximadamente 1,3 mL de ABF 0,01 mg/dL.
4. Utilizando água destilada como branco, calibrar o espectrofotômetro em T = 100% (Abs = 0).
5. Varrer o espectro com as duas soluções conforme esquema abaixo, calibrando o espectrofotômetro com o branco em cada  $\lambda$  utilizando:

$\lambda$ (nm)	450	460	470	480	590	600
----------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Absorbância MO						
Transmitância (%)						

$\lambda$ (nm)	550	560	570	580	590	600
Absorbância ABF						
Transmitância (%)						

6. Selecionar o  $\lambda$  máximo de cada solução para a construção da respectiva curva-padrão.
7. Utilizando o  $\lambda$  máximo de cada solução, construir a curva-padrão para ABF e MO a partir da Tabela 1.

**Tabela 1: Dados para concentração das Curvas-padrão de Metilorange e Azul de Bromofenol**

Tubo	MO (mL)	H2O (mL)	Diluição (vezes)	Abs (nm)	Concentração (mg/mL)
1	---	2,0		0,000	0,00
2	0,5	2,0			
3	1,0	1,5			
4	1,5	1,0			
5	2,0	0,5			
6	2,0	---	---		0,01

Tubo	ABF (mL)	H2O (mL)	Diluição (vezes)	Abs (nm)	Concentração (mg/mL)

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 215 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

<b>1</b>	---	<b>2,0</b>		<b>0,000</b>	<b>0,00</b>
<b>2</b>	<b>0,5</b>	<b>2,0</b>			
<b>3</b>	<b>1,0</b>	<b>1,5</b>			
<b>4</b>	<b>1,5</b>	<b>1,0</b>			
<b>5</b>	<b>2,0</b>	<b>0,5</b>			
<b>6</b>	<b>2,0</b>	---	---		<b>0,01</b>

8. Com os dados da Tabela 1, calcular quantas vezes cada tubo foi diluído utilizando a fórmula:

$$\text{Diluição} = \text{Volume final} / \text{Volume da solução-mãe}$$

9. Calcular a concentração das soluções de MO e ABF diluídas:

$$[ ] \text{ MO ou ABF} = [ ] \text{ solução mãe (0,01/mL) / diluição}$$

10. Lançar, em gráfico, as leituras de Absorbância (A) X Concentração (mg/mL).

11. Aplicar os dados à regressão linear, encontrado a equação da reta e o coeficiente de regressão linear (r<sup>2</sup>).

Importante: Os protocolos das dosagens abaixo são seguidos conforme a Bula do Fabricante do kit, conforme o link abaixo ou nos anexos.

### 5.6 Manuseio de produtos químicos

O laboratório utiliza produtos químicos para realização de pesquisas, projetos e procedimentos para as práticas didáticas os quais são acondicionados em suas embalagens originais devidamente identificados e segregados por compatibilidade química.

Os produtos químicos adquiridos por projetos são segregados e acondicionados separadamente dos produtos químicos adquiridos pela instituição. Este controle deverá ser realizado tanto fisicamente quanto na planilha eletrônica de controle do laboratório. As notas fiscais destes produtos químicos adquiridos por projetos são arquivadas em pastas separadas.

 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 216 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### 5.5 Coletas, Acondicionamento e Recolhimento dos resíduos

Todos os resíduos gerados no laboratório são segregados e devidamente acondicionados, conforme legislação vigente e da seguinte maneira:

- Resíduos infectantes (Material contaminado com fluidos biológicos tais como: tiras reativas de urina, gaze, papel toalhas, pipetas pasteur com sangue, soro, plasma, urina, entre outros) – Sacos Brancos Leitosos identificados;
- Resíduos perfurocortantes (ex: lâmina, lamínulas, lancetas, seringas e vidrarias quebradas) – Coletor de materiais pérfuro-cortantes;
- Demais resíduos – (ex: papel toalha, embalagens de seringas, caixas de kits manuais, ou qualquer material livre de contato com fluidos biológicos) - Lixeira comum.
- Os resíduos são recolhidos diariamente pela equipe de higienização e transportados para o armazenamento externo (abrigos). O recolhimento se dá em horário pré-estabelecido e, quando necessário, imediatamente após a sua geração.

### 6 - CONDUTAS A SEREM ADOTADAS EM CASOS DE ACIDENTES

É fundamental informar a Brigada de Incêndio, ao Serviço Especializado de Segurança e Medicina do Trabalho (SESMT), a Coordenação do EAP's e aos Responsáveis pelo laboratório a ocorrência de qualquer acidente no laboratório.

Em caso de acidentes com ácido: lavar as partes afetadas com bastante água. Se os olhos forem atingidos, lavá-los com bastante água e pingar gotas de uma solução diluída de ácido bórico a 2%.

Em caso de acidentes com acetona P.A.: em caso de respingo nos olhos, lave-os com água em abundância durante vários minutos, vítimas de inalação de vapores devem ser retiradas para ambientes arejados.

Choques elétricos: interromper a descarga, com desligamento da chave imediato.



 <b>Universidade Católica de Brasília</b>	UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS	
Revisão 15/12/2022	Emissão: 10/04/15	Página 217 de 217
<b>MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b>		

### 6.1 Contatos de emergência

- Brigada de Incêndio – 3356-9439
- Serviço Especializado de Segurança e Medicina do Trabalho (SESMT) – 3356-9100 / 3356-9287
- Coordenação dos EAPs – 3356-9050 /
- Bombeiro/Defesa Civil - 193/199
- Laboratório de Análises Clínicas – 3356-9177

## 7 - ANEXOS

## 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ CARVALHO, W. F. **Técnica Hematologia e Imunohematologia**. Belo Horizonte: Coopmed, 2002.
- ✓ LORENZI, T.F. **Manual de Hematologia**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2002.
- ✓ OLIVEIRA, R. A. G. **Hemograma: Como fazer e interpretar**. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2007.
- ✓ **Manual Coleta de Material Biológico**. Agencia de Cooperação Intermunicipal em Saúde Pé da Serra. P. 1-13.
- ✓ **Manual de Biossegurança**. Laboratório de hemoglobinas e genética das doenças hematológicas. Universidade Estadual Paulista UNESP- São Jose do Rio Preto -SP.
- ✓ BASIOLI, W. M. **Atlas do Sedimento Urinário**. Control Lab. Fortaleza, 1980.
- ✓ **Gerenciamento de resíduos Químicos: Normas e procedimentos Gerais**. Laboratório de Resíduos Químicos. Universidade de São Paulo -USP – Campus Ribeirão Preto – SP.