

MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

MICROSCOPIA

APRESENTAÇÃO

O Laboratório de Microscopia apresenta coleções de lâminas histológicas e histopatológicas, bem como um acervo de peças anatômicas. Está equipado para a rotina de aulas práticas e monitorias oferecendo o aporte a diversas disciplinas do núcleo de formação básica da área da saúde.

Está localizado no Campus I da Universidade Católica de Brasília, no Bloco São Gaspar Bertoni, sala M-312 e conta com uma área total de 61,65 m².

Sumário

1.	OBJETIVO	4
2.	RESPONSABILIDADE	4
✓	2.1 CURSOS QUE UTILIZAM O LABORATÓRIO:	4
✓	2.2 PESSOAS ENVOLVIDAS DIRETAMENTE COM O LABORATÓRIO:	4
3.	NORMAS DO LABORATÓRIO	4
4.	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	5
✓	IMUNOLOGIA	5
✓	MECANISMOS DE LESÃO E REPARO I.....	5
✓	MONITORIAS	6
5.	PROCEDIMENTOS	6
✓	5.1 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL - EPI	6
✓	5.2 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO COLETIVA - EPC	6
✓	5.3 HIGIENIZAÇÃO/DESINFECÇÃO	7
✓	5.4 OPERAÇÕES DOS EQUIPAMENTOS	7
	<i>Microscópios:</i>	7
	<i>Vídeo-Monitor:</i>	8
	<i>Microcomputador:</i>	9
✓	5.5 TÉCNICAS REALIZADAS NO LABORATÓRIO	9
✓	5.6 MANUSEIO DE PRODUTOS QUÍMICOS	9
✓	5.7 COLETAS, ACONDICIONAMENTO E RECOLHIMENTO DOS RESÍDUOS.	10
6.	PLANO DE AVALIAÇÃO PERIÓDICA DOS ESPAÇOS	10
✓	6.1 PLANO DE MANUTENÇÃO E GUARDA PATRIMONIAL	10
✓	6.2 PLANO DE LIMPEZA E ORGANIZAÇÃO	11
✓	6.3 PLANO DE ATUALIZAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS	11
✓	6.4 AGENDAMENTO PARA AULAS PRÁTICAS	11
7.	CONDUTAS A SEREM ADOTADAS EM CASOS DE ACIDENTES	11
✓	7.1 CONTATOS DE EMERGÊNCIA	12
8.	ANEXOS	13
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

Elaboração: Kélita Lourrany Teixeira Santos	Assinatura ou Rubrica	Data: 19/12/2022
Aprovação: Thalita Tormin Almeida Cavalcanti	Assinatura ou Rubrica	Data: 19/12/2022

1. OBJETIVO

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

2. RESPONSABILIDADE

2.1 Cursos que utilizam o laboratório:

Regular

- Núcleo de Formação Básica da Área da Saúde
- Medicina
- Ciências Biológicas

Eventual

- Biomedicina

2.2 Pessoas envolvidas diretamente com o laboratório:

- Técnico:

- Equipe de Ciências Biológicas

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 e somente será liberada aos alunos e pesquisadores que tiverem autorização.
- É obrigatório o uso de EPI – *Equipamento de Proteção Individual* (jaleco, sapato fechado, e luvas sempre durante a realização de qualquer procedimento além de gorro 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 e técnico 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.
- Após os procedimentos realizados no laboratório o aluno deverá deixá-lo limpo e organizado, e verificar se desligou todos os equipamentos que utilizou.

4. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E TECIDOS, INTEGRAÇÃO MORFOFUNCIONAL DO CORPO HUMANO I E II E BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO

Utilizado em todas as aulas: Microscópios, coleção de lâminas histológicas, vídeo-monitor com câmera acoplada ao microscópio e computador (de uso exclusivo do docente).

IMUNOLOGIA

Aula I: Leucograma – Microscópios, Corante Giemsa, lâminas de vidro, álcool 70%, lâminas extensoras, lancetas, microscópios, suporte para colocação de lâminas, luvas, descarte com hipoclorito de sódio e descarte para perfurocortantes.

Aula II: Tipagem sanguínea – Álcool 70%, algodão, lancetas estéreis, lâminas de vidro, antissoros monoclonais, luvas, descarte para perfuro cortantes e descarte com hipoclorito de sódio.

Aula III: Teste de gravidez – Soro positivo de BHCG, dois potes estéreis para coleta de urina, kit de gravidez, luvas, descarte com hipoclorito de sódio e álcool 70%.

Aula IV: VDRL- Sífilis – Microscópios, placas escavadas de kline, solução salina 0,9%, antígeno para VDRL, soro a ser testado, micropipetas (p20 e p100), ponteiras de plástico, estante para tubos de ensaio, luvas e descarte com hipoclorito de sódio.

Aula V: Fator Reumatóide – Tubos de ensaio pequenos, micropipetas (p100 e p200), racks com ponteiras, solução salina a 0,9%, soro positivo de FR, kit para fator reumatoide, placas pretas, descarte com hipoclorito de sódio e luvas.

MECANISMOS DE LESÃO E REPARO I

Aula I: Leucograma – Microscópios, Corante Giemsa, lâminas de vidro, álcool 70%, lâminas extensoras, lancetas, microscópios, suporte para colocação de lâminas, luvas, descarte com hipoclorito de sódio e descarte para perfurocortantes.

Aula II: Tipagem sanguínea – Álcool 70%, algodão, lancetas estéreis, lâminas de vidro, antissoros monoclonais, luvas, descarte para perfuro cortantes e descarte com hipoclorito de sódio.

MECANISMOS DE LESÃO E REPARO II E PATOLOGIA

Utilizado em todas as práticas: Microscópios, coleção de lâminas histopatológicas vídeo-monitor com câmara acoplada ao microscópio e computador (de uso exclusivo do docente).

Utilizado esporadicamente: Peças anatômicas conservadas em formol 10%, bandejas, pinças e luvas.

MONITORIAS

Material utilizado pelos estudantes: Microscópios, coleção de lâminas histológicas e histopatológicas.

5. PROCEDIMENTOS

5.1 Equipamentos de Proteção Individual - EPI

- Para manipulação de corantes, peças anatômicas e amostras com risco biológico (sangue, urina e soros positivos para HIV, chagas, sífilis e fator reumatóide): Jaleco, luvas e touca (quando necessário).

5.2 Equipamentos de Proteção Coletiva - EPC

- Ducha oftálmica: Abrir a tampa da ducha, abrir a pálpebra do olho com os dedos polegar e indicador, pressionar a ducha contra o olho com a cabeça abaixada, apertar o frasco fortemente várias vezes.
- Caixa coletora de material perfuro-cortante: Manusear a caixa com cuidado, depositar com cautela o material na abertura central da caixa.



5.3 Higienização/Desinfecção

- O piso é limpo uma vez ao dia pelos servidores do serviço de limpeza e conservação.
- Ao término das aulas as bancadas são limpas com álcool 70%.
- Equipamentos e materiais utilizados são lavados e desinfetados ao término de cada aula e se estiverem contaminados por material biológico são deixados de molho com um detergente desincrustante específico.

5.4 Operações dos equipamentos

Microscópios:

- Retire a capa do equipamento, conecte-o na tomada e ligue-o.
- Verifique se a objetiva de menor aumento está encaixada e se a mesa/platina está totalmente abaixada. Caso seja necessário, movimente o revólver, colocando-a em posição para análise.
- Pegue a lâmina a ser observada, segurando-a apenas pelas bordas. Verifique se a lamínula está voltada para cima.
- Abra a presilha do charriot e coloque a lâmina sobre a platina, encaixando-a perfeitamente. Solte a presilha e verifique se a lâmina está bem encaixada. Centralize o material no orifício da platina, utilizando os controles dos eixos X e Y.
- Verifique se o controle de intensidade da luz encontra-se no mínimo.
- Certifique se o sistema condensador - diafragma encontra-se em sua posição mais elevada.
- Acenda a lâmpada do microscópio e ajuste a intensidade da luz.
- Ajuste a abertura do diafragma de acordo com a abertura numérica da objetiva de menor aumento.
- Levante a platina movimentando o controle macrométrico até o seu ponto máximo.
- Ajuste a distância interpupilar movimentando com cuidado os tubos no cabeçote, abrindo ou fechando conforme a necessidade.

- Agora, observando através das oculares e utilizando o controle macrométrico, abaixe lentamente a platina, até que o material a ser observado seja visto. Assim que isto ocorrer, corrija a focalização utilizando o controle micrométrico.
- Caso seja necessário, ajuste as diferenças que podem ocorrer entre o olho esquerdo e direito (dioptrias) através do anel de correção de dioptrias no tudo esquerdo.
- Explore o material, movimentando os controles dos eixos X e Y. Coloque sempre o material a ser analisado no centro do campo de observação, antes de passar para a objetiva de aumento imediatamente superior.
- Encaixe a objetiva com o segundo maior aumento e faça o ajuste da focalização, utilizando apenas o controle micrométrico. Ajuste a abertura do diafragma de acordo com a abertura numérica da objetiva. Observe o campo atentamente.
- Selecione uma determinada área do material, centralize-a e encaixe a objetiva de 40X. Faça o ajuste da focalização utilizando apenas o controle micrométrico. Ajuste a abertura do diafragma de acordo com a abertura numérica da objetiva.
- Terminada a observação, reduza a intensidade da luz ao mínimo, desligue a lâmpada, gire o revólver para encaixar a objetiva de menor aumento, abaixe a mesa e retire a lâmina.
- Para utilizar a objetiva de imersão (100X), após a focalização correta nas objetivas menores, deve-se pingar uma gota de óleo de imersão sobre a lâmina e mudar para a objetiva de 100X, utilizando apenas o micrométrico para melhorar a focalização.
- Evite a exposição do microscópio à luz solar direta, poeira ou vibração.
- Nunca aperte simultaneamente os dois botões macrométricos nas direções opostas.
- OBS.: Para desligar o microscópio coloque na objetiva de menor aumento (4x), diminua a intensidade da luz até o fim, desconecte-o da tomada, deixe o fio envolto ao microscópio e coloque a capa.

Vídeo-Monitor:

- Ligar o vídeo-monitor na sequência:
- Estabilizador;

- Microscópio;
- Câmera acoplada o microscópio
- TV.
- OBS.: Para desligar inverta a sequência.

Microcomputador:

- Ligar o estabilizador.
- Ligar a CPU e o MONITOR (caso não esteja ligado direto).
- Iniciar o computador.
- Após o uso não desligar a CPU diretamente, fechar arquivos e programas e desligar primeiramente através do MENU INICIAR.
- Desligar a CPU e MONITOR (caso não desligue direto).
- Desligar o estabilizador

5.5 Técnicas realizadas no laboratório

Coloração de lâminas frescas

Consiste em corar material biológico recém-coletado na lâmina, podendo ser sangue ou saliva. As lâminas são depositadas em um suporte e com uma pipeta são colocadas algumas gotas do corante (Giemsa ou Azul de metileno), logo após, as lâminas são passadas levemente em água corrente (no caso de preparos com sangue) espera-se a lâmina secar e dispõe-se sobre ela uma lamínula para seja observada no microscópio.

Técnicas realizadas em aulas teórico-práticas de Imunologia

Tipagem sanguínea, Teste de gravidez, VDRL e Fator Reumatóide. Vide roteiro de aulas práticas em anexo.

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.

5.7 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 sangue, urina e outros resíduos biológicos que ofereçam risco) – Sacos Brancos Leitosos identificados;
- Resíduos perfurocortantes – São dispostos em coletores adequados de material resistente. Quando atingem 2/3 de sua capacidade são acondicionados em saco branco leitoso, identificados e encaminhados ao abrigo de Resíduos Infectantes (próximo ao bloco S);
- Demais resíduos – Lixeira comum (ao final do expediente segregados conforme classificação de recicláveis);
- 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. PLANO DE AVALIAÇÃO PERIÓDICA DOS ESPAÇOS

As verificações dos laboratórios são feitas diariamente ou semanalmente (dependendo das demandas de aulas e/ou aulas práticas) pelos técnicos responsáveis dos espaços. Qualquer problema de infraestrutura é aberto um chamado via sistema SISPREM, na qual a equipe de manutenção providencie os reparos necessários, dando maior importância para casos de emergência.

6.1 Plano de manutenção e guarda patrimonial

- a) Os técnicos de cada espaço fazem as verificações dos equipamentos e material patrimonial. Se necessário, é feita uma calibração e limpeza externa preventiva dos equipamentos específicos, sempre no início e fim dos semestres, a fim de preparar os equipamentos para os inícios das aulas práticas.

- b) Equipamentos defeituosos são abertos requisições de manutenção enviados para a equipe do almoxarifado. Se for aprovado, o equipamento será levado por uma empresa externa e especialista no equipamento defeituoso.
- c) Observação: Alguns equipamentos só podem ser limpos internamente e calibrados por uma empresa especializada, pois caso seja feita por qualquer outra pessoa, pode danificar, descalibrar e/ou estragar.

6.2 Plano de Limpeza e organização

Em cada andar dos blocos da Universidade, há uma equipe de higienização que ajuda nas lavagens e limpeza dos laboratórios. Esta equipe vai ao laboratório de acordo com as demandas dos espaços, com aulas práticas e monitorias. Montagem e desmontagem de aulas práticas e as limpezas de bancadas são feitas pelos técnicos responsáveis, visando melhor qualidade no conteúdo que será ministrado dentro do espaço.

6.3 Plano de atualização dos equipamentos

Os equipamentos são catalogados em planilhas como o POP (Procedimento Operacional Padrão). Ao final de cada semestre os técnicos responsáveis anexam em planilhas a Previsão orçamentária de equipamentos que precisam ser comprados para aulas práticas.

6.4 Agendamento para aulas práticas

Os agendamentos de aulas práticas são realizado com antecedência, sendo ideal ser agendando no início do semestre para que não haja choque nos horários. A reserva é feita exclusivamente por e-mail: reservasala@ucb.br com cópia para o técnico responsável por aquele espaço. É IMPRESCINDÍVEL QUE ENVIE A RESERVA TAMBÉM PARA O TÉCNICO DO LOCAL, POIS ELE QUE IRÁ ARRUMAR E ORGANIZAR O LABORATÓRIO.

No e-mail precisa constar algumas informações, como: Nome do professor; nome da disciplina; código da disciplina; data; horário; número do laboratório ou nome do laboratório; quantidade de alunos; e em anexo o roteiro de aula prática contendo materiais de interesse. Sem estas informações não será possível a realização da reserva.

7. 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 material perfurocortante e material biológico: Lavar cuidadosamente as mãos e outras áreas expostas, usar iodo (PVP-1) ou álcool iodado a

70%, não apertar, espremer ou pressionar o local, pois isto pode aumentar a superfície de contato.

Em caso de exposição de mucosas: lavar a área com soro fisiológico diversas vezes utilizando a ducha oftálmica.

Em caso de choques elétricos: interromper a descarga, com desligamento imediato da chave.

7.1 Contatos de emergência

- Brigada de Incêndio – 3356-9439 / 8319-2204
- Serviço Especializado de Segurança e Medicina do Trabalho (SESMT) – 3356-9100 / 3356-9287
- Coordenação dos EAPs – 3356-9436/ 3356-9050
- Bombeiro/Defesa Civil - 193/199



8. ANEXOS



Disciplina: Imunologia

ROTEIRO AULA PRÁTICA 2 – TIPAGEM SANGUÍNEA: ABO e FATOR Rh

MATERIAL NECESSÁRIO

- Álcool 70%
- Algodão
- Lancetas estéreis
- Lâminas para microscopia
- Antissoros Monoclonais Humanos anti-A, anti-B, anti-AB e anti-D
- Caixa de descarte de material perfuro-cortante

PROCEDIMENTO

1. Fazer a antisepsia do quarto dedo com o álcool 70% e deixar secar espontaneamente.
2. Puncionar com a lanceta estéril.
3. Aplicar uma gota de sangue em cada uma das extremidades das duas lâminas de vidro. Na primeira lâmina aplicar o soro anti-A e anti-B em cada uma das gotas de sangue, e na segunda lâmina aplicar uma gota do soro anti-AB e anti-D.
4. Misturar bem, individualmente, cada soro com a respectiva gota de sangue. Assegurar a mistura perfeita entre o soro e o sangue fazendo oscilar a lâmina com movimentos basculantes. Observar onde há aglutinação das hemácias. Os testes que não apresentarem aglutinação não devem ser observados por mais de 2 minutos. Não interpretar secagem periférica como aglutinação.

Resultado qualitativo: aglutinação ou não aglutinação

	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D
Amostra 1				
Amostra 2				

Histórico

James Blundell (1818) - primeira transfusão sanguínea com sucesso

Karl Landsteiner (1901) - soro indivíduo X aglutinava sangue (hemácias) de indivíduo Y



Disciplina: Imunologia

ROTEIRO AULA PRÁTICA 3 – Fator reumatóide

PRINCÍPIO

Pesquisa de fator reumatóide em amostras de soro, empregando partículas de látex com IgG humana por aglutinação direta. Quando a suspensão de látex revestida com IgG humana altamente purificada é misturada em uma área do cartão teste com soro contendo níveis aumentados de fator reumatóide, observa-se uma aglutinação nítida no período máximo de 2 minutos.

IMPORTÂNCIA CLÍNICA

O diagnóstico da artrite reumática é amplamente baseado no exame clínico. No entanto, os testes radiológicos e laboratoriais são úteis para confirmar o diagnóstico clínico e para avaliar a severidade do curso da doença. O marcador clínico da artrite reumatóide é o Fator Reumatóide (FR) no soro. O FR é um termo usado para descrever uma variedade de anticorpos (IgM, IgG, IgA e IgE) que podem se ligar ao fragmento Fc de uma imunoglobulina G. São portanto uma anti-imunoglobulina.

MATERIAL E EQUIPAMENTOS

Para execução deste procedimento são necessários além dos reagentes do kit, os seguintes materiais: Tubos de ensaio, Pipetas sorológicas, Estantes para tubos e racks de ponteiras, Recipientes para descarte e Salina a 0,9%.

OBS: Verificar a validade dos reativos e a integridade dos rótulos, sempre que for utilizá-los.

PROCEDIMENTO

1. AMOSTRA:

Soros livres de hemólise, lipemia e contaminação bacteriana. As amostras podem ser conservadas no freezer a -20°C, por no máximo seis semanas ou entre 2 - 8°C por 48 horas. Os soros devem ser usados puros, ou seja, não diluídos. Não usar plasma, porque o fibrinogênio pode causar aglutinação inespecífica.



2. Teste Qualitativo

- 1) Pipetar 25 µl do soro do paciente em uma área do cartão teste.
- 2) Homogeneizar a suspensão de látex e pipetar 25 µl na mesma área da amostra.
- 3) Misturar muito bem o soro com o látex, espalhando cuidadosamente com uma vareta plástica.
- 4) Através de movimentos suaves de rotação, sob uma boa fonte de luz, observar durante 2 minutos a formação de uma eventual aglutinação.

Resultado positivo: Aglutinação tênue ou nítida. Concentração igual ou superior a 8 UI/ml

Resultado negativo: Total ausência de aglutinação. Concentração inferior a 8 UI/ml

3. Teste Semi-Quantitativo

- 1) Diluir o soro do paciente em salina (NaCl a 0,9%) 1:2; 1:4; 1:8; 1:16 (e mais se for necessário).
- 2) Pipetar 25 µl do soro equivalente a cada diluição em cada área do cartão teste.
- 3) Homogeneizar a suspensão de látex e pipetar 25 µl nas mesmas áreas da amostra nas diferentes diluições.
- 4) Misturar muito bem o soro com o látex, espalhando cuidadosamente com uma vareta plástica.
- 5) Através de movimentos suaves de rotação, sob uma boa fonte de luz, observar durante 2 minutos a formação de uma eventual aglutinação.

O título da amostra corresponderá a maior diluição em que ocorrer a aglutinação. A concentração de FR será dada pelo cálculo:

Concentração (UI/ml) = 8 x D, onde 8 é a sensibilidade do teste e D, a maior diluição que representa a aglutinação.



Disciplina: Imunologia

ROTEIRO AULA PRÁTICA 4 – VDRL (*Veneral Disease Research Laboratory*)

DIAGNÓSTICO NÃO-TREPONÊMICO PARA SÍFILIS

Kit para determinação de anticorpos (reaginas) no soro, plasma ou líquido cefalorraquidiano (LCR) por floculação para diagnóstico da sífilis.

PRINCÍPIO

Quando a suspensão antigênica é misturada com o soro, plasma ou líquido cefalorraquidiano (LCR) que contenham anticorpos (reaginas), as partículas de antígeno floculam e o resultado da reação é observado ao microscópio. A ausência de floculação indica resultado negativo.

IMPORTÂNCIA CLÍNICA

A sífilis é uma doença infecciosa humana produzida por uma espiroqueta, o *Treponema pallidum*. Ela é, primeiramente, uma doença transmitida sexualmente. Outras possíveis vias de transmissão são a transfusão de sangue infectado, hoje praticamente eliminada devido a triagem sorológica de rotina; e a perinatal (sífilis congênita) transmitida pelos treponemas procedentes da mãe infectada para o feto em desenvolvimento.

Os testes sorológicos para sífilis são classificados como não-treponêmicos (VDRL - *Veneral Disease Research Laboratory* e RPR - *Rapid Plasma Reagin*), usados mais comumente para a triagem e, os treponêmicos (TPHA - *Treponema pallidum Hemagglutination*, FTA-Abs - *Fluorescent Treponemal Antibody Absorption*, ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), usados como testes confirmatórios para os soros reativos.

O VDRL é um teste de floculação, não-treponêmico, para diagnóstico da sífilis, através da pesquisa de anticorpos (reaginas) no soro, plasma ou líquido cefalorraquidiano (LCR), com a grande vantagem sobre o VDRL clássico por consistir em uma suspensão estabilizada e pronta para uso.

Os testes de cardioplipina utilizam como antígeno esse fosfolípido para a pesquisa das “reaginas”, anticorpos que, embora habitualmente encontrados no soro em quantidades diminutas, na sífilis atingem altos níveis. Presente em numerosos tecidos orgânicos, a cardioplipina é de especificidade limitada; porém, a alta sensibilidade, a pronta resposta à terapêutica, o custo reduzido e a simplicidade de execução dos testes lipídicos asseguram-lhes uso generalizado na sorologia da sífilis. Basicamente, consistem em suspensões de cristais de colesterol como suporte da cardioplipina, em meio aquoso contendo lecitina, que são aglutinados em presença do soro reagente.

MATERIAL E EQUIPAMENTOS

- Pipetas semi-automáticas de 50µl e 20µl.
- Ponteiras descartáveis
- Lâminas escavadas
- Microscópio com ocular de 10x e objetiva de 10x
- Cronômetro
- Agitador de kline (opcional)
- Kit contendo: 1. Suspensão antigênica (5ml), 2. Instruções para uso (250 determinações), 3. Soro Controle positivo (0,5ml) e 4. Soro Controle negativo (0,5ml)

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

1. Conservar os reagentes entre 2-8 C. Não congelar.
2. A suspensão antigênica do contém timerosal a 0,1% como conservante, o qual é tóxico, quando ingerido.
3. Não utilizar reagentes fora do prazo de validade.
4. Seguir as boas práticas laboratoriais (BPLs) na conservação, manuseio e descarte dos materiais.



PROCEDIMENTO TÉCNICO

AMOSTRAS

Soro ou plasma não inativados e líquido cefalorraquidiano (LCR), livre de hemólise, lipemia e contaminação. Em caso de necessidade, as amostras podem ser conservadas no máximo por 4 a 6 semanas a -20 C.

TESTE QUALITATIVO

Pipetar em lâmina escavada (placas de Kline):

Amostra (s) /controle(s) _____ 50µl

Antígeno sífilis _____ 20µl

RESULTADOS

Não reagente: não há floculação. A suspensão é de aspecto homogêneo.

Reagente: presença de floculação com a formação de grumos de tamanhos variáveis. A suspensão é de aspecto heterogêneo

Reação Negativa: AUSÊNCIA de agregados. Aspecto homogêneo.

Reação Fracamente Positiva: PRESENÇA de pequenos agregados dispersos.

Reação Positiva: PRESENÇA de médios e grandes agregados.

TESTE SEMI-QUANTITATIVO

Pipetar em 6 cavidades da placa de kline 50µl de solução fisiológica e a seguir 50µl de amostra a ser titulada na cavidade nº1. Homogeneizar, transferir 50µl sucessivamente até a sexta cavidade. Desprezar os 50µl em excesso da última cavidade. Adicionar 20µl de antígeno em cada círculo da placa e misturar. Agitar a lamina escavada, 4 minutos em agitador de kline a 180 r.p.m. Ao término da agitação examinar no microscópio com ocular de 10x e objetiva de 10x. As amostras podem ser testadas em maiores diluições, seguindo o mesmo procedimento.

Cavidade nº 1:	1	2	3	4	5	6
Diluição :	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64

RESULTADO: Considera-se como título a maior diluição da amostra em que ocorreu floculação.

INTERPRETAÇÃO

Podem ocorrer reações falso-positivas em condições como: imunizações, infecções, gravidez, malária, doenças autoimune (lupus eritematoso sistêmico, etc), doenças malignas, etc. Se VDRL for positivo deve-se realizar um teste confirmatório, específico para treponema - FTA-Abs (Imunofluorescência), o TPHA (Hemaglutinação).

Disciplina: Imunologia

ROTEIRO AULA PRÁTICA 5 – Teste de gravidez

FINALIDADE: Imunoensaio cromatográfico rápido para a detecção qualitativa de Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) em urina ou soro, para auxiliar na detecção precoce da gravidez. No caso do representante usado, a sensibilidade do teste é de 25mUI/mL.

PRINCÍPIO: O teste utiliza uma combinação de anticorpos que incluem um anticorpo monoclonal hCG para detectar seletivamente níveis elevados de hCG. A linha de controle está composta por anticorpos policlonais de cabra e partículas de ouro coloidais. O teste se realiza inserindo a tira de análise em uma amostra de urina ou soro e observando a formação de linhas de cor. A amostra migra por ação capilar pela membrana para reagir com o conjugado de cor.

AMOSTRA:

- urina: coletar a amostra de urina em um recipiente limpo e seco. Prefere-se a primeira amostra de urina da manhã, já que contém, geralmente, a concentração mais alta de hCG; entretanto, podem-se usar amostras de urina colhidas em qualquer momento do dia. Amostras de urina que apresentem precipitação visível deverão ser centrifugadas, filtradas ou deixadas em repouso para obter-se uma amostra transparente para realização do teste.

- soro: o sangue se extrairá assepticamente em um tubo limpo sem coagulantes. Separe o soro do sangue assim que seja possível para evitar a hemólise. Sempre que for possível, usar amostras transparentes não hemolizadas.

TESTE QUALITATIVO: Com as setas apontando para a amostra de urina ou soro, insira a tira verticalmente na amostra de urina ou soro por pelo menos 10-15 segundos. Não deixe ultrapassar a linha máxima (MAX).

TESTE SEMI-QUANTITATIVO (em caso de outras marcas de testes)

1. Fazer diluições seriadas da urina com solução fisiológica (1:2; 1:4; 1:8; 1:16; etc).
2. Efetuar a reação com cada uma das diluições de maneira idêntica à utilizada com o teste qualitativo.
3. Proceder aos cálculos de concentração, utilizando o maior título de diluição com resultado positivo.

SIGNIFICADO CLÍNICO: Gonadotrofina coriônica é uma glicoproteína secretada pela placenta. O aparecimento de hCG, tanto na urina quanto no soro, após a concepção assim como a sua rápida elevação são excelentes marcadores de confirmação de gravidez. A função mais conhecida da hCG é a de prolongar a atividade funcional do corpo lúteo no ovário, permitindo a continuidade de produção de progesterona e estrógenos, mantendo-os em nível que sustente a gestação até que a placenta desenvolva sua atividade estrogênica. A hCG é um heterodímero composto de duas subunidades heterogêneas, α e β , de ligação não covalente. Quando o dímero é dissociado, perde-se a atividade biológica. Com recombinação equimolar das duas subunidades, a maior parte da atividade biológica é restaurada. Para a subunidade α dos hormônios glicoprotéicos (TSH, FSH, LH e hCG), existe apenas um gene localizado no cromossoma 6, razão pela qual testes imunológicos com anticorpos anti subunidade α dão reação cruzada com os hormônios citados. A produção de hCG se intensifica logo após a nidação do ovo, dobrando em média a cada 2 dias, atingindo os maiores níveis em torno da 10ª semana de gestação. A partir da 15ª semana até o final da gestação, a produção de hCG cai a valores mínimos (média de 10.000 U.I./L).

FALSOS POSITIVOS: Doenças trofoblásticas e certas neoplasias não trofoblásticas, como tumores testiculares, câncer de próstata, câncer de pulmão e câncer de mama. Assim, o teste não deverá ser usado para diagnosticar uma gravidez a menos que estas circunstâncias tenham sido desprezadas.

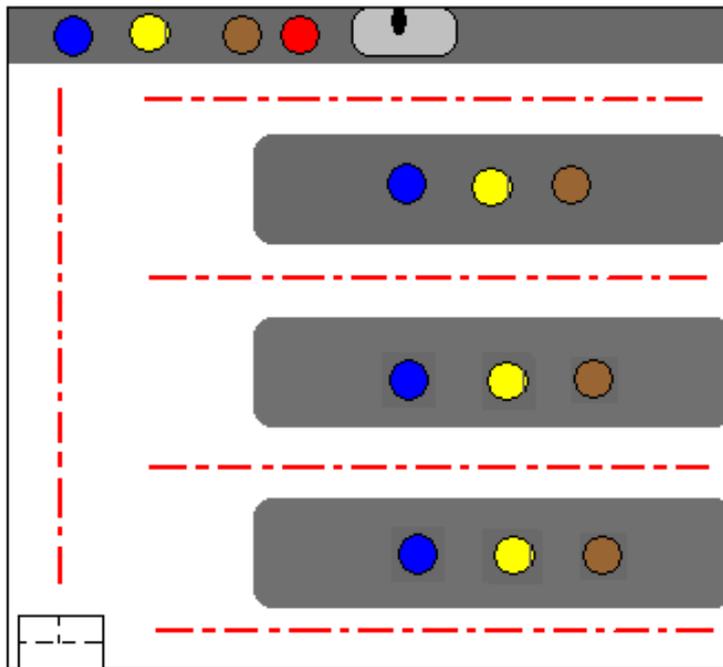


Mapa de Riscos



Universidade
Católica de Brasília

Laboratório de Microscopia M - 312



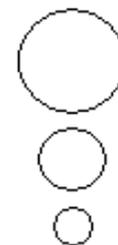
Legenda

 **Riscos Químico** -
Compostos e produtos químicos
em geral.

 **Riscos Biológico** -
Sangue.

 **Riscos Ergonômico** -
Esforço físico,
levantamento de peso,
postura inadequada,
situação de estresse,
monotonia e
repetitividade,
imposição de rotina
intensa.

 **Riscos de Acidentes** -
Lâminas.



 **Rota de Fuga**

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ Roteiro de aulas Práticas – Laboratório de Microscopia. Técnico: Gabriel Barroso dos Santos. Universidade Católica de Brasília-UCB, 2015.