

Bioquímica Clínica Veterinária

Regina Takahira – LCV – Unesp - Botucatu

Princípios básicos de Bioquímica clínica

Métodos de “bioquímica”


- Refratometria
- Fotometria de chama
- Espectrofotometria
- Fracionamentos - biofísicos
- Colorimétricos/UV
- Eletroforese
- Cinéticos/enzimáticos
- Cromatografia
- Química seca
- Funcionais (tripsina)
- Tiras reagentes
- Imunológicos
- Eletrodos seletivos
- Moleculares
- Absorção atômica
- Outros

Princípios básicos de Bioquímica clínica

■ Reações colorimétricas e espectrofotométricas

Espectrofotométricas: luz visível, IV e UV

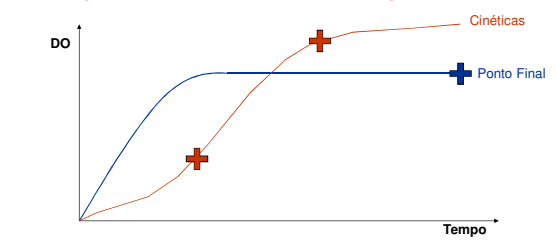
Colorimétricas: ~400 a 700nm



Os cachorros e os gatos não vêem todas as cores, apenas azul e amarelo e em preto e branco numa nuance de cinzas. Humanos: faixa que vai do vermelho ao violeta, passando pelo verde, o amarelo e o azul. Cobras vêm no infravermelho e abelhas no ultravioleta, cores para as quais somos cegos.

Princípios básicos de Bioquímica clínica

■ Reações enzimáticas, cinéticas e de ponto final



Leitura(s) Estabilidade da reação!

Princípios básicos de Bioquímica clínica

■ Reações enzimáticas, cinéticas e de ponto final

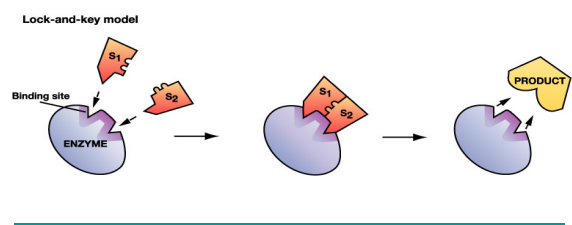
Reação enzimática: aquela que resulta da conversão de um componente em outro

- Enzimáticas cinéticas: enzimas ALT, AST, FA e GGT
- Enzimáticas de ponto final: uréia, glicose, amilase
- Cinéticas não enzimáticas: creatinina
- Não cinéticas e não enzimáticas: PPS, albumina

ENZIMAS

✓ São específicas

Lock-and-key model



COFATOR

✓ Algumas necessitam de um cofator: vitaminas (exceto a vitamina C), metais etc...

Princípios básicos de Bioquímica clínica

- Especificidades técnicas

Amilase

Sacarogénico (glicoamilase)

Valores elevados em cães

Amiloclástico

Amido $\xrightarrow{\text{amilase}}$ Sacarose

O que medimos é a atividade da enzima, não a sua concentração. Logo, há interferência da T°C!

Princípios básicos de Bioquímica clínica

Linearidade

ENZIMAS

- ✓ Avaliação da atividade enzimática
- ✓ 1 UI (Unidade Internacional) é equivalente à quantidade de enzima que catalisa a conversão de 1 mmol de substrato por minuto

Princípios básicos de Bioquímica clínica

Resultados falsamente diminuídos

Controle de qualidade

- Erros laboratoriais
 - Cerca de 70 % erros => fase pré analítica: preparo inadequado, cuidados na identificação, transporte inadequado e interferentes.
 - Cerca de 20 % erros => fase pós-analítica: erros de transcrição de resultados.
 - Apenas 10 % erros => fase analítica: Reagentes impróprios, equipamentos descalibrados, má prática.

Fonte: Wilson Shcolnik. Diretor de Acreditação da SBPC, 2002

Controle de qualidade

■ Erros analíticos:

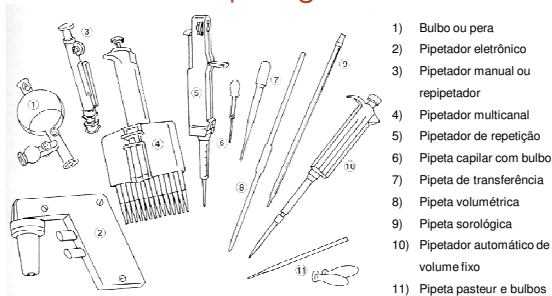
- Lavagem de material (resíduos, descontaminação)
- Pureza da água
- Conservação, preparo e validade dos reagentes
 - Observar prazo de validade e lote na compra e no momento do uso, anotar data de preparo ou abertura dos reativos, observar temperatura de conservação e de trabalho do reagente, verificar deteriorização do reagentes (absorbância do reagente).

Controle de qualidade

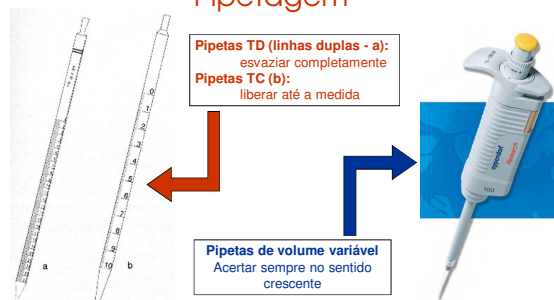
■ Erros analíticos:

- Manutenção e calibração de equipamentos
 - Verificar bomba peristáltica, filtros, estabilidade de temperatura, reprodutividade de reação
- Controle de temperatura de banhos-maria e geladeiras
- Uso de padrões e controles confiáveis
- Calibração e uso correto de pipetas

Pipetagem



Pipetagem

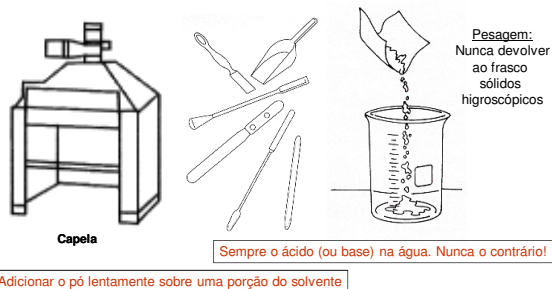


Preparo de soluções

- **Becker:** ideal para misturar sólidos em solução, nunca para medir volumes.
- **Proveta:** ideal para medir volumes precisos de líquidos, nunca para misturar reagentes (líquidos ou sólidos)
- **Balões e outras vidrarias volumétricas:** medidas q.s.p. (quantidade suficiente para). Mistura por agitação.
- **Erlenmeyer:** misturas que liberem gases



Preparo de soluções



Preparo de soluções

Molaridade

Peso molecular em gramas em 1.000mL (1 litro) de água

Ex.: NaCl 5M

Na – PM=22,98

Cl – PM=35,45

NaCl – PM= 58,43

$58,43 \times 5 = 292,15\text{g}$ em 1 litro

NaCl 0,25M

Na – PM=22,98

Cl – PM=35,45

NaCl – PM= 58,43

$58,43 \times 0,25 = 14,6\text{g}$ em 1 litro

Número Atômico: 1
 Símbolo Químico: H
 Nome do Elemento: Hidrogênio
 Peso Atômico: 1,00794

Preparo de soluções

Normalidade

Peso molecular em gramas de uma substância dissolvida (dividido pelo número de **hidrogênios** equivalentes por litro de solução)

Ex.: H₂SO₄

18M equivale a 36N, pois é um composto divalente.

Preparo de soluções

Osmolaridade

Um osmol de qualquer substância é igual 1g PM (mol) dividido pelo número de partículas formadas pela dissociação da molécula

Ex.: Glicose

1 Osmol glicose = 1 mol de glicose = 180g

1 Osmol de NaCl = $58,5 / 2 = 29,25\text{g}$

Osmolaridade:

A osmolaridade de uma solução é igual à **multiplicação** da concentração molar pelo número de partículas por mol resultante da ionização

pH (potência de íons hidrogênio)

Logaritmo negativo da concentração molar dos íons hidrogênio

Preparo de soluções

Diluições

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

onde:

C1 = concentração da sol inicial (estoque)
 V1 = volume necessário da solução estoque
 C2 = concentração da solução desejada
 V2 = volume desejado de solução

Exemplo:

Tenho solução estoque de álcool 30%,
 mas preciso de 100 mL de uma solução 3%

$30 \times V1 = 3 \times 100\text{mL}$;
 logo necessito de 10 mL da solução estoque (V1) para fazer os 100 mL
 (10 mL da solução estoque + 90mL de água ou outro solvente)

Soluções em porcentagem:

- Porcentagem de peso por volume (p/v):**
 gramas do soluto por 100mL do solvente (expresso em %)
 Ex.: NaCl 20%:
 20g de NaCl em 100mL de água q.s.p (volume final de 100mL)
- Porcentagem por volume (v/v):**
 mL de solvente por mL de solução
- Porcentagem por peso (pp):**
 gramas de soluto por grama de solvente (uso em soluções de gradiente)
 Ex.: solução de sacarose 10% (p/p):
 10g de sacarose + 90g (90 mL) de água (volume final maior que 90 mL)

Preparo de soluções

- Sempre identifique os frascos com as soluções
 - Nome da solução/reagente
 - Fórmula/recomendações de uso
 - Data de preparo/validade
 - Nome do responsável pelo uso/preparo
- pH e volume se alteram de acordo com a T°C

Preparo de soluções

A adição de 1 mL em 9 mL é descrita como 1:10

Unidades:

1 mL equivale a 1.000 μ L

1 dL equivale a 100mL

deci (d) = 10^{-1}

Centi (c) = 10^{-2}

mili (m) = 10^{-3}

micro (μ) = 10^{-6}

nano (n) = 10^{-9}

pico (p) = 10^{-12}

femto (f) = 10^{-15}

ato (a) = 10^{-18}

deca (da) = 10^1

hecto (h) = 10^2

quilo (k) = 10^3

mega (M) = 10^6

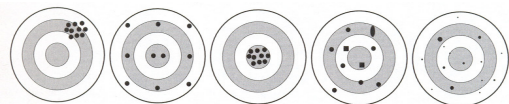
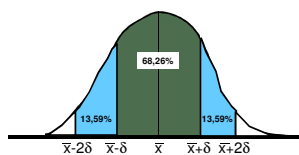
giga (G) = 10^9

tera (T) = 10^{12}

peta (P) = 10^{15}

exa (E) = 10^{18}

Valores de referência



Precisão Imprecisão Acurácia Especificidade Sensibilidade