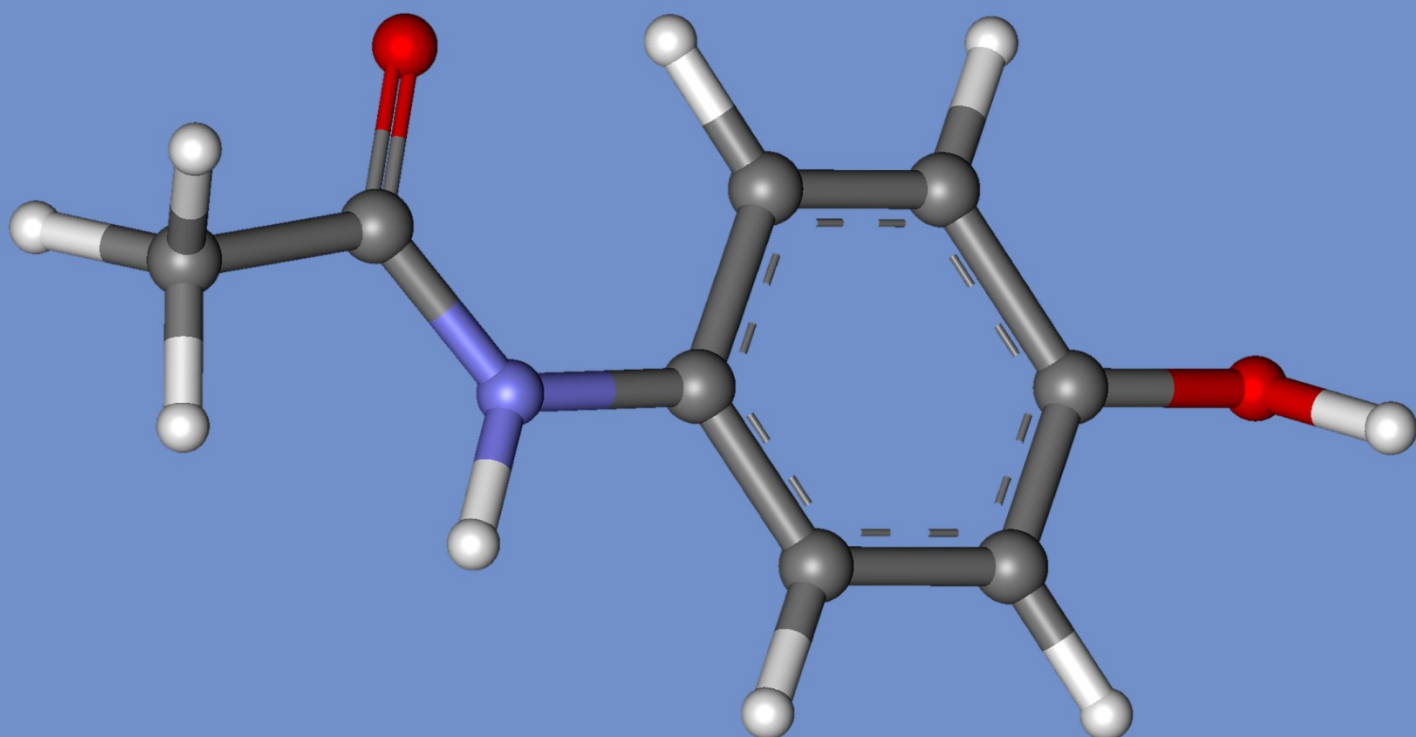




e-book

Profa. Dra. ADJANNY SOUZA



BIOQUÍMICA

ROTEIRO DE AULAS PRÁTICAS



© 2018 by Adjanny Estela
Todos os direitos reservados.

Editora Itacaiúnas

Editor de publicações:

Walter Rodrigues

Pass. Frederico Souza, 10.

Coqueiro - Ananindeua – Pará

91 98216-1196

editoraitacaiunas.com.br

editoraitacaiunas@gmail.com

www.facebook.com/editoraitacaiunas

Projeto de capa e Edição eletrônica:

Editora Itacaiúnas

Foto de capa: Pixabay

Conselho editorial

Colaboradores:

Viviane Corrêa Santos

Márcia Aparecida da Silva Pimentel

Josimar dos Santos Medeiros

Luis Fernando Cardoso e Cardoso

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S719b

Souza, Adjanny Estela Santos de

Bioquímica: roteiro de aulas práticas [livro eletrônico] /

Adjanny Estela. 1.ed. – Ananindeua: Itacaiúnas, 2018.

35p.: PDF

ISBN 978-85-9535-052-6

1. Bioquímica 2. Roteiro de Aulas Práticas I. Título.

CDD: 174.192

Índice para catálogo sistemático:

1. Bioquímica: 174.192

O CONTEÚDO DESTA OBRA, INCLUSIVE SUA REVISÃO ORTOGRÁFICA E GRAMATICAL, É DE RESPONSABILIDADE DE SEU RESPECTIVO AUTOR, DETENTOR DOS DIREITOS AUTORAIS.

Esta obra foi publicada pela Editora Itacaiúnas em fevereiro de 2018.

Sumário

LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA: OBJETIVO, VIDRARIAS, EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS.....	6
1. OBJETIVO:.....	6
2. VIDRARIAS.....	6
3. EQUIPAMENTOS.....	6
4. ACESSÓRIOS.....	6
AMOSTRAS BIOLÓGICAS DESTINADAS À REALIZAÇÃO DE EXAMES.....	10
BIOQUÍMICOS - SANGUE.....	10
I – Obtenção do sangue.....	10
II – Definições.....	10
III – Coagulação do sangue e Anticoagulantes.....	10
IV – Orientações para coleta de sangue.....	11
COLETA DE URINA PARA EXAMES BIOQUÍMICOS.....	16
I – Introdução.....	16
II – Coleta da urina.....	16
1. Urina de rotina (jato médio).....	16
2. Urina de cateterização uretral (sonda vesical).....	16
3. Aspiração suprapúbica.....	16
4. Urina de 24 horas.....	16
EXAME DE URINA ROTINA, TIPO I OU EAS.....	18
1. Análise física.....	18
2. Análise Química.....	18
3. Análise Microscópica (sedimentoscopia).....	19
4. Procedimento para realização do exame.....	19
4.1. Análise Físico-Química.....	19
4.2. Análise Microscópica.....	20
PESQUISA DE ALBUMINÚRIA (PROTEINÚRIA).....	21
1. Introdução.....	21
2. Objetivo:.....	21
3. Amostra:	21
4. Procedimento.....	21
5. Leitura e interpretação.....	21
REAÇÕES GERAIS DOS CARBOIDRATOS.....	22
I – Teste com o Iodo.....	22

II – Reação de Seliwanoff.....	22
PESQUISA DE GLICOSÚRIA – REAÇÃO DE BENEDICT	24
1. Introdução	24
1. Objetivo:	24
2. Amostra:	24
3. Procedimento	24
4. Reação.....	25
6. Leitura e interpretação	25
INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DO DIABETES MELLITUS.....	26
1. Glicose plasmática em jejum	26
2. Glicose sanguínea aleatória	26
3. Glicose plasmática pós-prandial de 2 horas.....	26
4. Teste de O’Sullivan	26
5. Teste oral de tolerância à glicose (TOTG) ou curva glicêmica	26
6. Critérios para o diagnóstico dos estados hiperglicêmicos	27
6.1. Diabetes mellitus em homens e mulheres não grávidas	27
6.2. Glicemia de jejum inapropriada.....	27
6.3. Tolerância à glicose diminuída	27
6.4. Diabetes gestacional	27
7. Critérios para triagem do diabetes em assintomáticos.....	28
DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA – TESTE RÁPIDO	29
1. Material necessário	29
2. Procedimento	29
DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA – MÉTODO COLORIMÉTRICO	29
1. Material necessário - Tubos de ensaio.....	29
2. Procedimento	29
3. Cálculos	30
4. Princípio do método/Reação.....	30
DETERMINAÇÃO DA COLESTEROLEMIA – MÉTODO COLORIMÉTRICO.....	30
1. Material necessário	30
2. Procedimento	30
3. Cálculos	31
4. Princípio do método/Reação.....	31
DETERMINAÇÃO DA TRIGLICERIDEMIA – MÉTODO COLORIMÉTRICO	32
1. Material necessário	32
2. Procedimento	32

3. Cálculos	32
4. Princípio do método/Reação	32
PODER REDUTOR DA VITAMINA C	33
II – Redução do Iodo	33

LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA: OBJETIVO, VIDRARIAS, EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

1. OBJETIVO:

Auxiliar os profissionais de saúde na detecção e na identificação de condições fisiológicas ou de processos patológicos, bem como na avaliação da gravidade do caso ou da resposta ao tratamento.

2. VIDRARIAS

- 2.1. Tubos de ensaio
- 2.2. Pipeta graduada
- 2.3. Pipeta volumétrica
- 2.4. Bastão de vidro
- 2.5. Vidro de relógio
- 2.6. Becker
- 2.7. Balão volumétrico
- 2.8. Balão de fundo chato
- 2.9. Balão de fundo redondo
- 2.10. Proveta
- 2.11. Gral com pistilo
- 2.12. Erlenmeyer
- 2.13. Funil de vidro
- 2.14. Frasco conta-gotas
- 2.15. kitasato
- 2.16. Funil de decantação
- 2.17. Cálice de sedimentação
- 2.18. Tubo de centrífuga

3. EQUIPAMENTOS

- 3.1. Destilador ou deionizador
- 3.2. Estufa para secagem e esterilização
- 3.3. Banho-maria
- 3.4. Espectrofotômetro
- 3.5. Fotômetro de chama
- 3.6. Capela
- 3.7. Balança analítica
- 3.8. Refrigerador
- 3.9. Centrífuga
- 3.10. Agitador magnético
- 3.11. Phmetro
- 3.12. Termômetro

4. ACESSÓRIOS

- 4.1. Pêra de borracha e pipetador
- 4.2. Lamparina a álcool e Bico de Bunsen
- 4.3. Tripé com tela

4.4. Pisseta

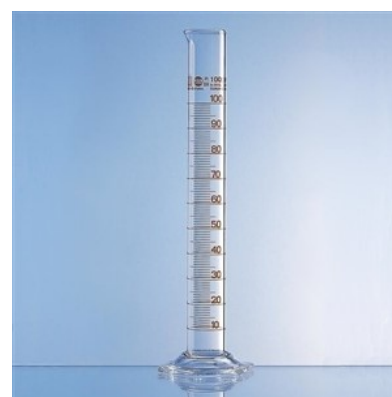
4.5. Estante para tubos

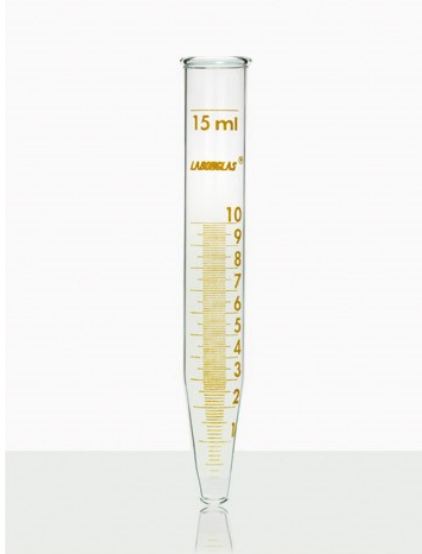
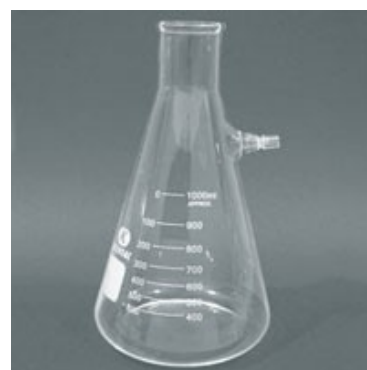
4.6. Pinça para tubos

4.7. Papel de filtro

4.8. Pipeta automática ou micropipeta

VIDRARIAS



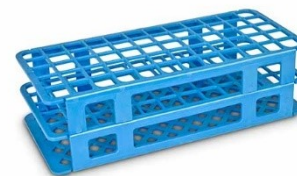


EQUIPAMENTOS





ACESSÓRIOS



AMOSTRAS BIOLÓGICAS DESTINADAS À REALIZAÇÃO DE EXAMES BIOQUÍMICOS - SANGUE

I – Obtenção do sangue

1. Sangue arterial:

é o sangue oxigenado pelos pulmões e bombeado do coração para os tecidos, é coletado para um número limitado de exames entre as quais a análise dos gases sanguíneos (gasometria arterial). É obtido preferencialmente das artérias femoral ou radial.

2. Sangue venoso:

é a amostra de escolha para a maioria das análises, devido a sua facilidade de obtenção, pode ser obtido da veia cubital, cefálica, basílica, no dorso da mão, veias jugulares, veia femoral e seio longitudinal.

3. Sangue do cordão umbilical

4. Sangue capilar:

é uma mistura de sangue das arteríolas, veias e capilares. É portanto, uma mistura de sangue arterial e venoso, contém ainda fluídos intersticiais e intracelulares. É obtido por punção da pele na polpa digital e região plantar lateral, no caso de recém nascidos.

II – Definições

1. Sangue total:

corresponde ao sangue coletado com anticoagulante, sendo constituído de uma parte sólida, representada pelas células e uma parte líquida representada pelo plasma.

2. Plasma:

é a parte líquida do sangue total (coletado com anticoagulante).

3. Soro: é a parte líquida do sangue coagulado (coletado sem anticoagulante).

III – Coagulação do sangue e Anticoagulantes

A coagulação consiste na conversão da protrombina presente no plasma em trombina. Esta última age sobre o fibrinogênio, que se polimeriza e se deposita sob a forma de rede de fibrina, que retém as células sanguíneas, formando o coágulo. Existem substâncias capazes de inibir o processo de coagulação, estas são denominadas anticoagulantes, eles agem no mecanismo de coagulação inibindo a ativação dos fatores, impedindo a transformação do fibrinogênio em fibrina.

Exemplos: heparina, EDTA (ácido etileno diamino tetra-acético), fluoretos, citratos, oxalatos, etc.

IV – Orientações para coleta de sangue

- 1. Jejum:** as coletas devem ser realizadas pela manhã, após o jejum de 8 – 14 horas para a maioria das dosagens bioquímicas. Ex: glicose, colesterol, triglicerídeos, ácido úrico.
- 2. Exercícios:** o paciente deve evitar exercícios físicos, pois eles aumentam os níveis de glicose, proteínas, CPK e ácido láctico.
- 3. Stress e postura:** é recomendado que o paciente descanse por alguns minutos antes da coleta de sangue, pois em situações de stress, várias substâncias são liberadas para o sangue e podem interferir nos resultados de exames. A concentração das proteínas plasmáticas varia de acordo com a postura (posição prolongada) do paciente.
- 4. Drogas (medicamentos):** algumas drogas alteram os resultados de exames, dentre elas o paracetamol que aumenta os níveis de enzimas hepáticas como TGO, TGP e gama GT.
- 5. Dietas:** é recomendado ao paciente manter uma dieta equilibrada dias antes da realização dos exames.
- 6. Álcool:** a ingestão de álcool altera a concentração de várias substâncias no sangue, portanto recomenda-se abstinência. No caso de triglicerídeos o paciente deve abster-se de álcool durante três dias antes do exame, e para o colesterol 24 horas.

OBS1: Em casos especiais deve-se especificar as condições de coleta a fim de evitar erros de interpretação.

OBS2: A ingestão de água durante o período de jejum é livre.

V – Coleta de sangue venoso

Soro

1. Material necessário: álcool a 70%, algodão, torniquete, agulha, seringa e tubos de ensaio sem anticoagulante (tampa vermelha).

2. Processo de coleta

- Selecionar a melhor veia para ser puncionada;
- Amarrar o torniquete para facilitar a punção e realizar assepsia do local;
- Colher 3 a 10 ml de sangue, dependendo dos exames a serem realizados;
- Após a coleta colocar curativo no local da punção venosa.

3. Obtenção do soro

Após a coleta, colocar o tubo de ensaio contendo o sangue em banho-maria a 37°C, durante 15 minutos para coagular, após a formação do coágulo, este fica aderido às paredes do tubo e deve ser desprendido por meio de um bastão de vidro ou madeira, centrifugar a 2000-2500 rpm durante 5 a 10 minutos. Após a centrifugação, separar o soro do coágulo com o uso de uma pipeta.

Sangue total e plasma

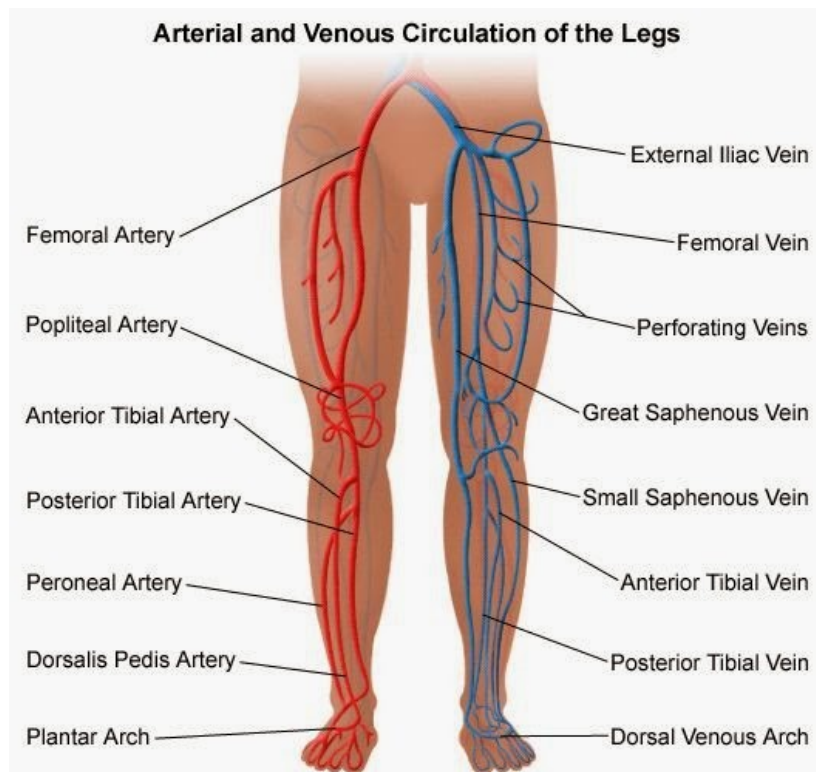
1. Material necessário: álcool a 70%, algodão, torniquete, agulha, seringa e tubo de ensaio com anticoagulante. O anticoagulante usado dependerá do tipo de análise a ser realizada.

2. Processo de coleta

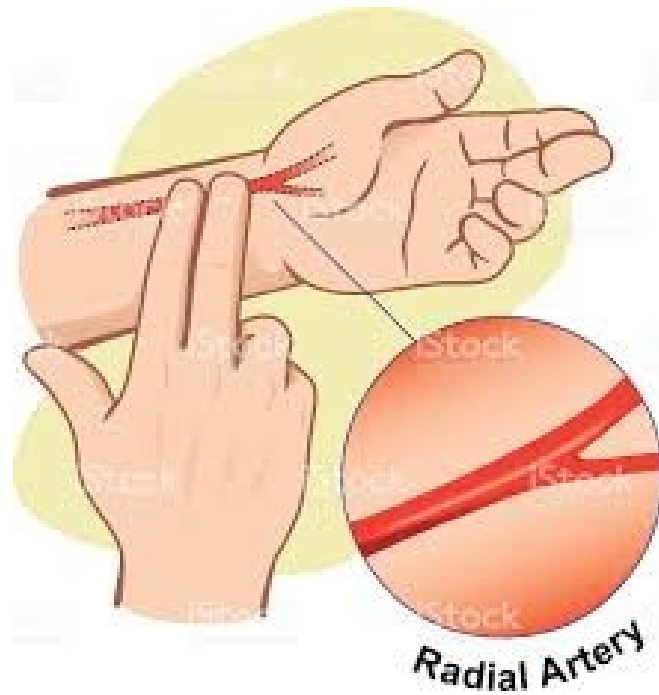
- Selecionar a melhor veia para ser puncionada;
- Amarrar o torniquete para facilitar a punção e realizar assepsia do local;
- Colher 3 a 10 ml de sangue, dependendo dos exames a serem realizados;
- Após a coleta colocar curativo no local da punção venosa.

3. Obtenção do plasma

Após a coleta do sangue centrifugar em 2000 – 2500 rpm por 5 a 10 minutos, após separar o plasma por meio de pipeta.

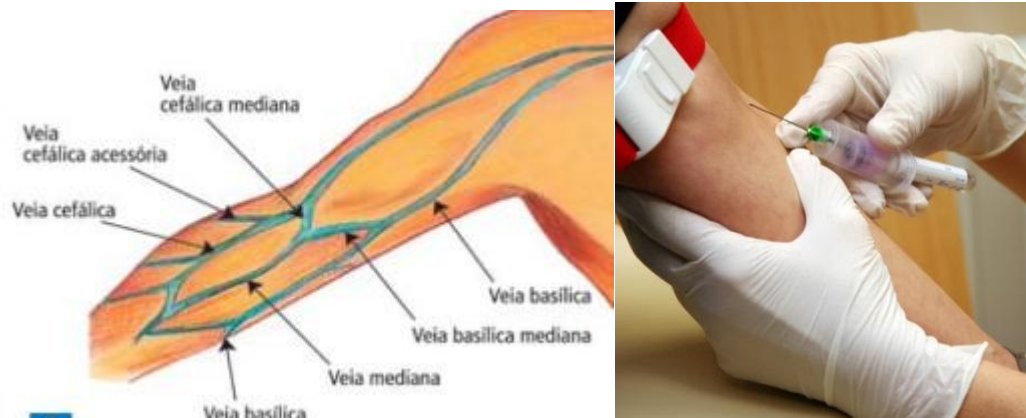


FONTE: <http://anatounalunos.blogspot.com.br/>



Artéria radial

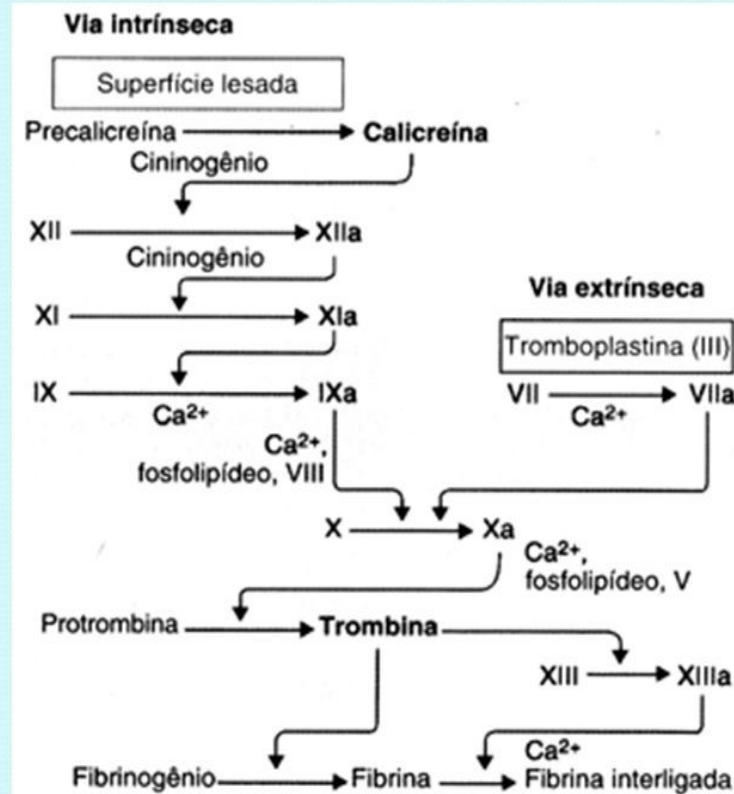
FONTE: <https://www.istockphoto.com/br/vetor/primeiros-socorros-com-vibra%C3%A7%C3%A3o-por-art%C3%A9ria-radial-gm478829890-67562303>



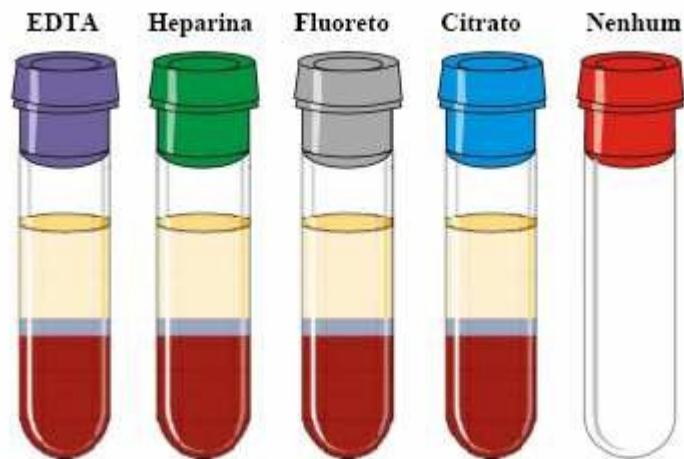
Veias utilizadas para punção

Fonte: <http://omundodapatologiaclinica.blogspot.com.br>

MECANISMO DE COAGULAÇÃO



Fonte: <http://slideplayer.com.br/slide/63760/>



Tubos utilizados para coleta de sangue

Fonte: <http://patclinvetuff.blogspot.com.br/2015/11/tipos-de-anticoagulante-para.html>

Cor da Tampa	Anticoagulante	Exemplos de Uso
Vermelha	Nenhum	Exames que requerem soro. Ex.: bioquímica e sorologia.
Lilás	EDTA	Hematologia e Tipagem sanguínea.
Azul Claro	Citrato de Sódio	Exames de coagulação (TAP, TTPa, Fibrinogênio).
Cinza	Fluoreto de Sódio	Glicose (impede a glicólise).
Verde	Heparina	Alguns exames especiais.

Cores das tampas dos tubos utilizados para coleta de sangue

Fonte: http://katyweyne.blogspot.com.br/2008/07/tubos-de-coleta-e-anticoagulantes_03.html

COLETA DE URINA PARA EXAMES BIOQUÍMICOS

I – Introdução

A urina produzida nos rins é transportada para a bexiga pelos ureteres. Os rins filtram 180 litros de líquido nas 24 horas, e o volume da diurese normal, em adultos, varia entre 800 a 1800 mL em 24 horas. Estes valores estão sujeitos a variações, pois são influenciados pelo volume corporal, consumo de líquidos, sudorese e temperatura ambiente.

Um volume urinário maior que 2.000 mL/dia é denominado poliúria, enquanto uma excreção menor que 500 mL/dia chama-se oligúria. As principais causas de poliúria são: grande ingestão de líquidos (polidipsia), insuficiência renal crônica, diabetes, aldosteronismo primário e mobilização de líquido previamente acumulado em edemas. A oligúria é encontrada na redução da ingestão de água, desidratação (diarreia, vômitos prolongados, sudorese excessiva) sem a reposição adequada de líquidos, isquemia renal, reações de transfusões, pielonefrite, disfunção glomerular, obstrução e agentes tóxicos.

II – Coleta da urina

1. Urina de rotina (jato médio)

- 1.1. De preferência, utilizar a primeira urina da manhã;
- 1.2. Lavar os genitais externos com água e sabão;
- 1.3. Colher a urina em recipiente limpo e seco e enviá-la imediatamente ao laboratório;
- 1.4. Colher somente o jato médio, desprezando o início e o fim da micção;
- 1.5. Em mulheres, recomenda-se abstinência sexual de 24 horas;
- 1.6. Em mulheres menstruadas, usar tampão vaginal depois da lavagem, para não contaminar a urina com sangue;
- 1.7. O volume a ser coletado de verá ser de aproximadamente 50 mL;
- 1.8. Em crianças utilizar coletores plásticos, após a limpeza da higiene da genitália.

2. Urina de cateterização uretral (sonda vesical)

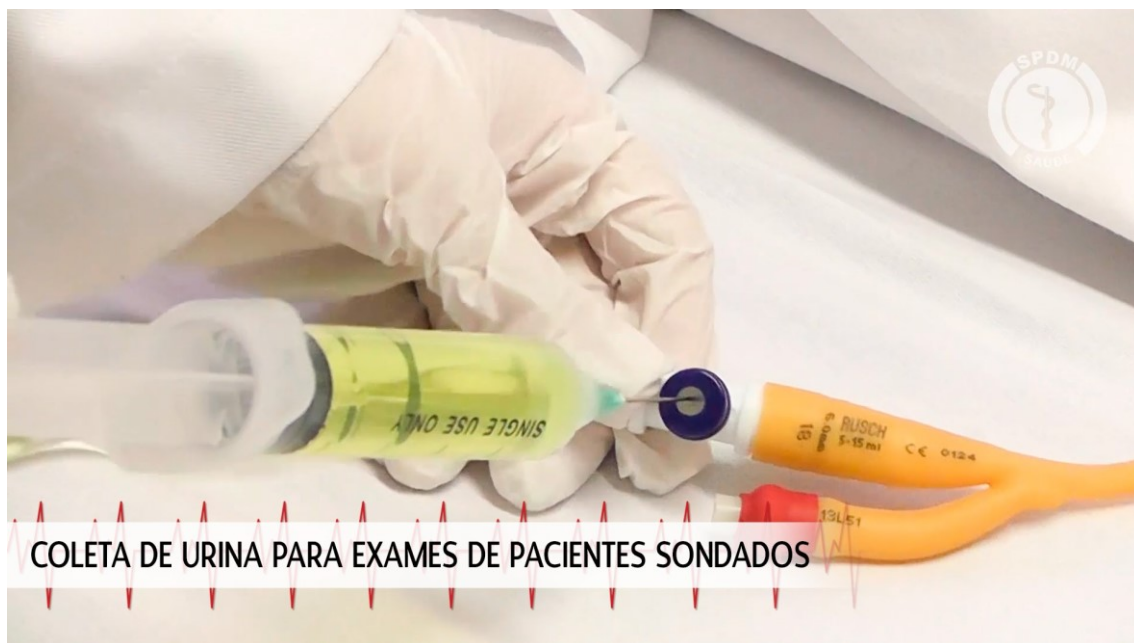
- 2.1. Interromper o fluxo de urina na altura do tubo de drenagem, durante alguns minutos;
- 2.2. Após assepsia na proximidade da junção com o tubo de drenagem, retirar a urina com auxílio de seringa e agulha, obtendo-se um volume de 5-10 mL. A parte distal do cateter não é adequada, assim como a urina oriunda da bolsa coletora.

3. Aspiração suprapúbica

A urina é aspirada com seringa e agulha acima da sínfise púbica através da parede abdominal diretamente da bexiga. Este procedimento é recomendado em casos de pacientes com obstrução da uretra (estenose), o que inviabiliza a utilização do cateter.

4. Urina de 24 horas

- 4.1. Pela manhã ao acordar, esvaziar completamente a bexiga e desprezar a urina. Marcar a hora;
- 4.2. Recolher todas as urinas emitidas durante o dia e a noite, durante 24 horas, acondicionando em recipiente de 2 L e mantê-lo sob refrigeração;
- 4.3. Enviar imediatamente ao laboratório.



Coleta de urina em sonda vesical
Fonte: <https://www.google.com.br>

EXAME DE URINA ROTINA, TIPO I OU EAS

1. Análise física

1.1. Cor

a) **Amarelo citrino (normal)**

b) **Amarelo-claro ou incolor:** é encontrado em pacientes poliúricos.

c) **Amarelo-escuro ou castanho:** é frequente em pacientes oligúricos, estados febris, início de icterícia, exercícios vigorosos e ingestão de argirol, mepacrina, ruibarbo e furandantoínas.

d) **Alaranjada ou avermelhada:** é comum na presença de hematúria, hemoglobinúria, icterícias hemolíticas, no uso de anilina, eosina, fenoltaleína, rifocina, sulfanol, tetranol, trional, xantoína, beterraba, vitamina A, derivados da piridina, nitrofurantoína.

e) **Marrom-escuro ou enegrecida:** ocorre no carcinoma de bexiga, glomerulonefrite aguda, febres palustres, melanoma maligno, uso de metildopa ou levodopa, metronidazol, argirol e salicilatos.

f) **Azulada ou esverdeada:** deve-se a infecção por *Pseudomonas*, icterícias antigas, cólera, uso de riboflavina, amitriptilina, metocarbamol.

g) **Esbranquiçada ou branco leitosa:** está presente na quilúria, lipidúria maciça, fosfatúria e enfermidades purulentas do trato urinário.

1.2. Aspecto

a) **Límpida (normal)**

b) **Ligeiramente turva**

c) **Turva**

1.3. **Densidade** – a densidade é a relação direta entre o número de partículas na urina e o volume.

1.4. **pH** – reflete a capacidade dos rins em manter a concentração normal dos íons hidrogênio no líquido extracelular. Normalmente, o pH urinário varia entre 4,5 e 8,0. pH urinário baixo (acidez), está presente na acidose metabólica, acidose respiratória, clima quente, dieta protéica, fenilcetonúria, intoxicação pelo álcool metílico, salicilato, medicações acidificantes (cloreto de amônio), tuberculose renal e urina matinal.

pH urinário elevado (alcalinidade) é comum na acidose tubular renal, alcalose metabólica e respiratória, aldosteronismo primário, deficiência potássica, dieta vegetariana, diuréticos, infecções urinárias, urina pós-prandial e vespertina.

2. Análise Química

É realizada com o emprego de fitas reativas

2.1. **Proteínas** – indicam lesão da membrana glomerular, comprometimento da reabsorção tubular, mieloma múltiplo, nefropatia diabética, pré-eclâmpsia, proteinúria ortostática ou postural.

2.2. **Glicose** – a glicose aparece na urina, quando a concentração no sangue estiver elevada, ultrapassando o limiar renal (180 mg/dl), tal como ocorre no diabetes e em enfermidades do túbulo proximal que podem impedir a capacidade de absorção.

2.3. Corpos cetônicos ou cetonas – a excessiva formação destes compostos ocorre devido a distúrbios no metabolismo dos carboidratos e lipídeos.

2.4. Urobilinogênio – o urobilinogênio é um pigmento biliar resultante da degradação da hemoglobina. É formado no intestino a partir da redução da bilirrubina pelas bactérias intestinais. Encontra-se grande quantidade de urobilinogênio nas hepatopatias e distúrbios hemolíticos.

2.5. Bilirrubina – Está presente na urina de paciente portadores de enfermidades hepáticas ou icterícia obstrutiva. Em pacientes em uso de clorpromazina e fenazopiridina encontram-se resultados falso-positivo.

2.6. Hemoglobina – Está relacionada à hematúria, encontrada em pacientes com sangramento ao longo do trato urinário, infecções, cálculos, tumores, rim policístico e glomerulonefrite. A presença de hemoglobina pode indicar também a presença de hemólise intravascular que ocorre em episódios de síndrome hemolítica urêmica, púrpura trombocitopênica, reações transfusionais, hemólise por toxinas bacterianas, veneno de animais peçonhentos, malária e queimaduras severas.

2.7. Nitrito – A presença de nitrito este relacionada à presença de bactérias na urina.

3. Análise Microscópica (sedimentoscopia)

3.1. Células epiteliais – resultam da descamação normal das células velhas, podem ser escamosas sem significado patológico, transicionais ou caudadas que aumentam após cateterização e células dos túbulos renais, quando aumentadas indicam isquemia, doença tubular renal tóxica.

3.2. Leucócitos/piócitos – Quando aumentados indicam infecções bacterianas ou outras doenças do trato urinário.

3.3. Hemácias – quando aumentadas indicam doenças renais com glomerulonefrites, pielonefrites, cistites, cálculos, tumores e traumas.

3.4. Cilindros – está relacionado a presença de proteínas na urina, podem ser hialinos, hemáticos, piocitários, epiteliais e granuloso.

3.5. Bactérias – normalmente não se encontra na urina, a sua presença está relacionada à infecções ou contaminação da urina.

3.6. Cristais (uratos, oxalatos, ácido úrico, fosfatos, etc)

4. Procedimento para realização do exame

4.1. Análise Físico-Química

O aspecto e cor são analisados visualmente, pH, densidade e os compostos químicos são determinados através do emprego da fita reativa.

Imergir a fita reativa na urina durante 5 segundos, em seguida efetuar a leitura junto ao frasco da fita.

4.2. Análise Microscópica

Centrifugar a urina a 2000 rpm por 5 minutos, desprezar o sobrenadante e em seguida colocar uma gota do sedimento em uma lâmina, cobrir com lamínula e levar ao microscópio e efetuar a leitura com objetiva de 40x.

PESQUISA DE ALBUMINÚRIA (PROTEINÚRIA)

1. Introdução

A albumina é a principal proteína plasmática, sendo responsável pela regulação da distribuição de água entre os compartimentos intra e extracelulares. Em certas condições, nas quais os teores de albumina encontram-se anormalmente baixos, ocorre o movimento de água do leito vascular para os tecidos provocando o aparecimento de edemas. A ocorrência de hipoalbuminemia pode estar relacionada à perda pela urina (albuminúria) que tem como causas: síndrome nefrótica, glomerulonefrite crônica, diabetes, lúpus eritematoso sistêmico e gravidez.

2. Objetivo:

pesquisar a ocorrência de albumina na urina

3. Amostra:

urina recente ou urina de 24 horas

4. Procedimento

- Em caso de volume de 24 horas medir o volume em proveta e anotar na requisição do paciente;
- Homogeneizar todo o material, separar uma alíquota de 10 ml e centrifugar em 2000 rpm, durante 5 minutos;
- Em tubo de ensaio adicionar 2 ml de urina e em seguida acrescentar 2 ml de ácido sulfossalicílico a 3%.

5. Leitura e interpretação

- Líquido sem turvação: Ausência de albumina
- Líquido com formação de precipitado branco: Traços
- Líquido turvo: (+)
- Líquido com opalescência: (++)
- Líquido com acentuada opalescência: (+++)

REAÇÕES GERAIS DOS CARBOIDRATOS

- I - Teste com o Iodo
- II - Reação de Seliwanoff
- III - Reação de Benedict

Os procedimentos relativos a estes métodos podem servir de modelo para a caracterização dos constituintes de material biológico.

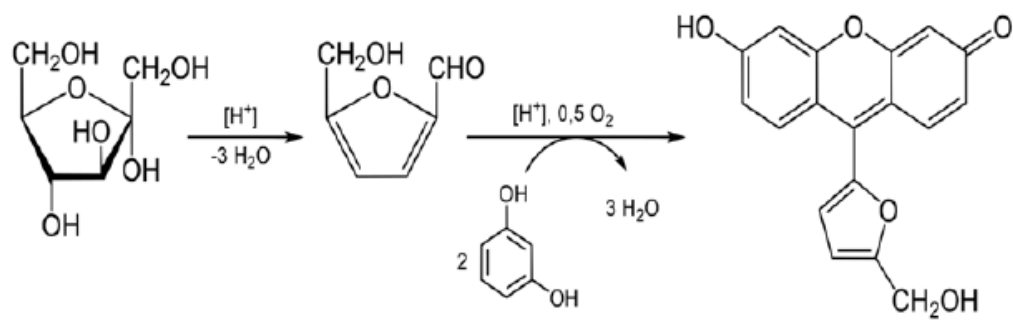
I – Teste com o Iodo

1. **Materiais:** solução de amido a 1%, solução de glicose a 1%, solução de frutose a 1%, solução de iodo (lugol), tubos de ensaio e pipetas
2. **Procedimento:** Colocar em um tubo 2 ml de solução de amido e adicionar 2 gotas de solução de iodo. O aparecimento de coloração azul indica reação positiva para o amido
3. **Interpretação:** Serve para diferenciar homopolissacarídeos de outros carboidratos. Os homopolissacarídeos do tipo amido, formam com o iodo um complexo (produto de absorção) colorido. Pela coloração resultante pode se identificar, por exemplo:
azul=amido;
avermelhado=glicogênio

II – Reação de Seliwanoff

1. **Materiais:** Reativo de Seliwanoff (0.05g de resorcinol em 100ml de solução de HCl a 6N), tubos de ensaio, pipetas, Solução de frutose e glicose
2. **Procedimento:** Colocar em um tubo 2 ml de solução de frutose e em outro tubo 2ml de solução de glicose, acrescentar em cada tubo 1 ml de reativo de Seliwanoff, homogeneizar e colocar em banho-maria u aquecer. No momento em que a coloração do tubo da frutose ficar vermelho retira-se os tubos do banho-maria.
3. **Interpretação:** Serve para diferenciar cetose de aldoses. Pela ação de ácidos minerais diluídos e do calor. As aldopentoses formam o furfural, enquanto as cetohexoses formam o hidroximetilfurfural. O furfural e o hidroximetilfurfural reagem com substâncias fenólicas originando produtos de condensação coloridos. Reações desse tipo são a de Molish-Udransky geral de carboidratos, a de Bial e a de Tollens, para as pentoses e a de Seliwanoff para a frutose. Pela ação do ácido diluído a quente, sobre a frutose (cetose), resulta na formação do 4-hidroximetilfurfural que reage com o resorcinol, originando um produto de condensação de cor vermelha. A intensidade de cor é proporcional à concentração de frutose.

4. Reação:



PESQUISA DE GLICOSÚRIA – REAÇÃO DE BENEDICT

1. Introdução

A glicose é normalmente filtrada pelos glomérulos e quase totalmente reabsorvida pelos túbulos renais. Entretanto, quando os teores sanguíneos atingem a faixa de aproximadamente 160 mg/dL (limiar renal), a glicose aparece na urina, o que é denominado glicosúria.

O limiar renal nem sempre obedece o valor de 160 mg/dL, ele pode variar para mais ou para menos, dependendo das condições do paciente.

A glicosúria não pode ser utilizada, como único critério na triagem de pacientes diabéticos, pois existem outros exames mais específicos que devem ser realizados, como a glicemia de jejum.

1. Objetivo:

pesquisar a presença de glicose na urina. Serve para diferenciar açúcares redutores dos não redutores. Os açúcares redutores são capazes de se oxidar em solução alcalina de íons de determinados metais como: cobre, bismuto, mercúrio, ferro e prata. Todos os monossacarídeos são redutores. Com alguns dissacarídeos não acontece, como a sacarose, por não possuírem grupos redutores livres. Na reação de Benedict os íons cobre são reduzidos a quente pelos grupos carbonila das aldoses e cetoses, formando óxido cuproso, de coloração vermelho tijolo. A coloração final ou o precipitado amarelo depende da concentração do açúcar.

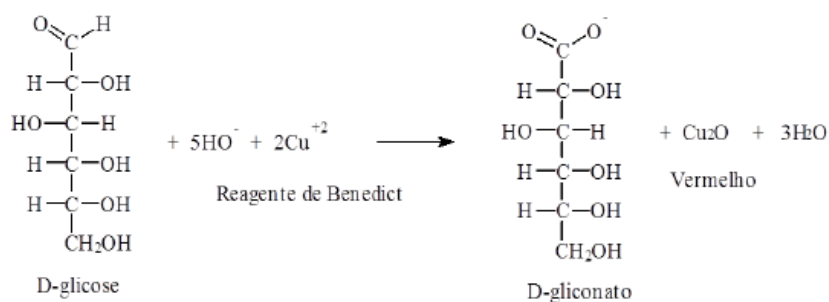
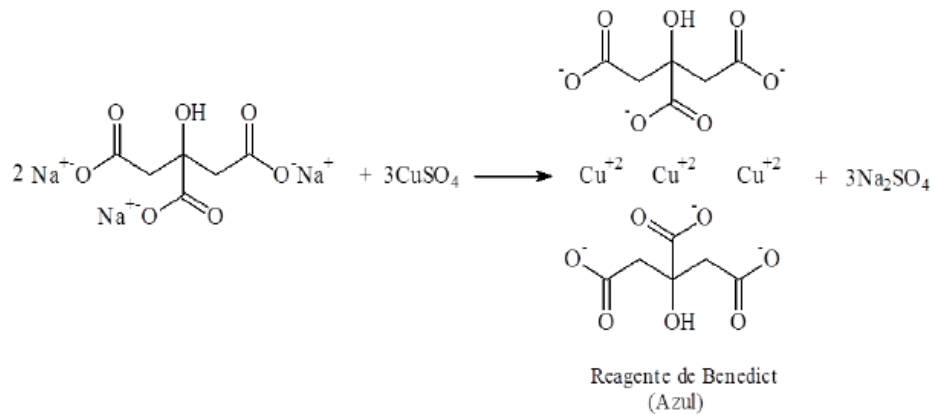
2. Amostra:

urina recente (jato médio da primeira urina da manhã)

3. Procedimento

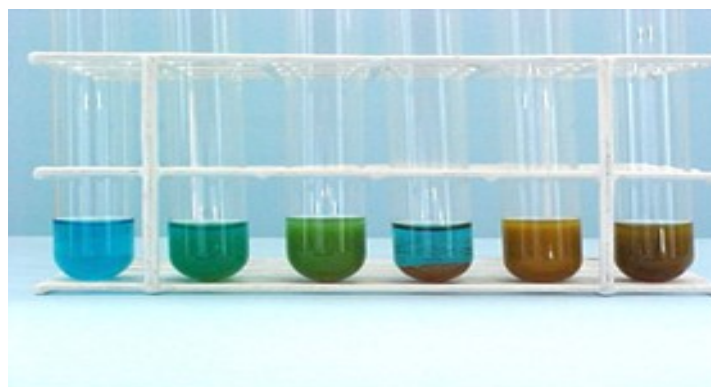
- Homogeneizar a amostra, separar uma alíquota de 10 mL e centrifugar em 2000 rpm, durante 5 minutos;
- Em tubo de ensaio adicionar 200 uL de urina e em seguida acrescentar 2,5 mL de reativo de Benedict;
- Aquecer em bico de Bunsen ou lamparina;
- Observar a intensidade de coloração.

4. Reação



6. Leitura e interpretação

ASPECTO	RESULTADO
Azul ou verde sem precipitado	Negativo
Verde com precipitado amarelo	Positivo (+)
Amarelo ou verde oliva com precipitado	Positivo (++)
Amarelo alaranjado com precipitado	Positivo (+++)
Vermelho tijolo com precipitado	Positivo (++++)



Escala de cores para leitura

Fonte: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAA29cAF/interpretacao-exames-laboratoriais>

INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DO DIABETES MELLITUS

1. Glicose plasmática em jejum

A determinação da glicemia é realizada com o paciente em jejum de 12-14 horas. Resultados normais não devem excluir o diagnóstico de distúrbios metabólicos dos carboidratos.

Valores de referência

Normal: 60 - 99 mg/dL

Glicemia de jejum inapropriada (pré-diabetes): 100-126 mg/dL

Diabéticos: acima de 126mg/dL

2. Glicose sanguínea aleatória

Em uma emergência, a glicose sanguínea aleatória é a única dosagem requerida. Deve-se esperar valores de glicemia inferior a 130mg/dL nos não diabéticos. Para estabelecer o diagnóstico é necessário realizar a determinação da glicemia em jejum.

3. Glicose plasmática pós-prandial de 2 horas

A glicemia duas horas após a ingestão de 75 g de glicose em solução aquosa a 25% (ou refeição contendo 75 g de carboidratos) é de considerável utilidade na avaliação do diabetes. Normalmente, após a ingestão de carboidratos, a glicose sanguínea tende a retornar ao normal dentro de duas horas.

Após duas horas de sobrecarga, os valores de glicemia plasmática superior ou igual a 200 mg/dl são considerados diagnósticos de diabetes mellitus. Níveis entre 140 e 200 mg/dl são encontrados na “ tolerância à glicose alterada” . Os indivíduos normais que se submetem a esta prova, apresentam teores glicêmicos inferior ou igual a 140 mg/dl. Entretanto, medicações, agentes químicos, desordens hormonais e dietas devem ser considerados ao examinar estes resultados. Além disso, os valores tendem a crescer com a idade (10 mg/dl por década de vida, após a idade de 40 anos)

Valores de referência

Normal: até 140mg/dL

Tolerância à glicose alterada: 140-200mg/dL

Diabéticos: acima de 200mg/dL

Obs: Os valores de glicemia tendem a crescer com a idade (10mg/dL por década de vida, após a idade de 40 anos). Deste modo, concentrações acima de 200mg/dL podem ser encontrados em indivíduos idosos que não apresentam diabetes.

4. Teste de O’Sullivan

O teste de O’Sullivan é empregado para detectar o diabetes gestacional e deve ser realizado entre 24^a. e a 28^a. semana de gestação. À paciente em jejum é administrada 50 g de glicose por via oral. O sangue é colhido após 1 hora. Resultados iguais ou superiores a 140 mg/dL indicam a necessidade de um teste completo.

5. Teste oral de tolerância à glicose (TOTG) ou curva glicêmica

Consiste em medidas seriadas de glicose plasmática, nos tempos 0, 30, 60,90 e 120 minutos após administração de 75g de glicose anidra via oral.

As crianças devem receber 1,75g/Kg de peso até a dose máxima de 75g de glicose.

O TOTG é indicado nas seguintes situações: -
 Diagnóstico do diabetes mellitus gestacional; -
 Diagnóstico de “tolerância à glicose alterada”

Ex: pacientes com teores de glicemia plasmática em jejum entre 100 e 126 mg/dL;
 - Avaliação de pacientes com nefropatia, neuropatia ou retinopatia não explicada e com glicemia de jejum abaixo de 126 mg/dL.

Durante o teste o paciente deve se manter em repouso e sem fumar, não deve estar usando medicação que interfira no metabolismo de carboidratos e o exame deve ser realizado pela manhã com o paciente em jejum de 8 – 10 horas.

Fatores que afetam o TOTG

Antes do teste	Durante o teste
Ingestão de carboidratos	Postura
Cirurgia digestória	Náusea
Tiazidas	Ansiedade
Estrogênios	Cafeína
Fenitoína	Tabagismo
Propranolol	Horário do dia
Corticosteróides	Atividade
Idade	Quantidade de glicose ingerida
Inatividade	
Peso	
Estresse	

6. Critérios para o diagnóstico dos estados hiperglicêmicos

6.1. Diabetes mellitus em homens e mulheres não grávidas

- Sintomas e sinais de diabetes (polidipsia, poliúria, emagrecimento, astenia, distúrbios visuais e outros);
- Glicose plasmática em jejum de oito horas superior a 126 mg/dL, confirmado por um segundo teste;
- Glicose plasmática igual ou superior a 200 mg/dL, durante o TOTG aos 120 minutos após a sobrecarga.

6.2. Glicemia de jejum inapropriada

É definida pela glicemia de jejum igual ou superior a 100 e menor que 126 mg/dL

6.3. Tolerância à glicose diminuída

É definida por glicose plasmática pós-prandial de duas horas maior que 140 mg/dL, mas menor que 200 mg/dL.

6.4. Diabetes gestacional

Os indícios de diabetes gestacional incluem uma forte história familiar de diabetes, idade superior a 30 anos, história de gravidez com recém-nascidos grandes para a idade gestacional ou com mais de 4 kg, uma história inexplicada de morte de morte fetal ou morte neonatal, história de diabetes gestacional, presença de hipertensão ou pré-eclâmpsia, história

de reprodução dificultada, macrossomia. Achados clínicos incluem obesidade ou ganho de peso na gravidez atual, glicosúria, infecções recorrentes por Cândida.

O teste de tolerância à glicose e os critérios diagnósticos são ligeiramente diferentes em gestantes. Nestes casos, administra-se 100g de glicose e as amostras de sangue são colhidas nos tempos 0, 60, 120 e 180 minutos. Os valores em mulheres não diabéticas são:

Jejum < 105 mg/dL

60 minutos < 190 mg/dL

120 minutos < 165 mg/dL

180 minutos < 145 mg/dL

O diagnóstico de diabetes gestacional ocorre quando dois desses limites forem atingidos ou ultrapassados.

Em gestantes a partir da 20^a. Semana de gravidez, indica-se glicemia em jejum como teste de rastreamento. Valores maiores que 85 mg/dL são considerados positivos sendo necessário proceder ao TOTG. Considera-se, também, confirmatórios de diabetes gestacional valores obtidos de duas glicemias em jejum igual ou inferior a 105 mg/dL.

7. Critérios para triagem do diabetes em assintomáticos

O teste diagnóstico deve ser considerado em todos os indivíduos de 45 anos ou mais e, se normal repetido a cada 3 anos. Também devem ser realizados em adultos de qualquer idade ou mais frequentemente nos de 45 anos para cima, nas seguintes situações:

- Com excesso de peso (igual ou superior a 120% do peso ideal);
- Com parentesco em primeiro grau com diabéticos;
- Membros de grupos étnicos de alto risco (afro-americanos, hispânicos, asiáticos, indígenas americanos e outros);
- Com história de macrossomia fetal (> 4 Kg) ou diagnóstico anterior de diabetes gestacional;
- Com hipertensão (> 140/90);
- Com colesterol-HDL < 35 mg/dL e/ou triglicerídeos > 250 mg/dL;
- Com teste prévio positivo de “glicemia de jejum inapropriada” ou “ tolerância à glicose alterada”.

DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA – TESTE RÁPIDO

1. Material necessário

- Lancetas estéreis
- Algodão
- Álcool
- Aparelho para a determinação com fitas
- Recipiente para descarte de material perfurocortante e contaminado

2. Procedimento

- Realizar assepsia do local (polpa digital) com algodão embebido em álcool
- Fazer pequena incisão com lanceta
- Gotejar o sangue sobre a fita no local indicado e introduzi-la no aparelho e aguardar o resultado.

DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA – MÉTODO COLORIMÉTRICO

1. Material necessário -

- Tubos de ensaio
- Micropipetas de 20 uL
- Banho-maria a 37°C
- Pipeta de 2 mL
- Espectrofotômetro
- Cronômetro
- Ponteiras
- Recipiente para descarte
- Luvas
- kit de Glicose

2. Procedimento

Permitir que os reagente e a amostra atinjam a temperatura ambiente, em seguida pipetar em diferentes tubos de ensaio previamente identificados, conforme a tabela abaixo.

Tubos	Amostra	Padrão	Reagente enzimático
Branco	--	--	2 mL
Amostra	20uL	--	2 mL
Padrão	--	20uL	2 mL

Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37 °C durante 15 minutos. Após esse tempo, determinar as absorvâncias do padrão e da amostra em 500nm acertando o zero com o tubo branco.

3. Cálculos

$$\text{Fator de calibração} = \frac{100}{\text{Absorvância do padrão}}$$

$$\text{Glicose (mg/dL)} = \text{absorvância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

4. Princípio do método/Reação

Em presença de oxigênio, a glicose da amostra sofre ação da glicose oxidase, produzindo peróxido de hidrogênio, que pela ação da peroxidase e em presença de fenol e da 4-amino-antipirina produz um composto colorido (quinonimina), com um máximo de absorção em 500nm. A cor formada é proporcional à concentração de glicose na amostra.



DETERMINAÇÃO DA COLESTEROLEMIA – MÉTODO COLORIMÉTRICO

1. Material necessário

- Tubos de ensaio
- Micropipetas de 20uL
- Banho-maria a 37°C
- Pipeta de 2mL
- Espectrofotômetro
- Cronômetro
- Ponteiras
- Recipiente para descarte
- Luvas
- kit de colesterol

2. Procedimento

Permitir que os reagentes e a amostra atinjam a temperatura ambiente, em seguida pipetar em diferentes tubos de ensaio previamente identificados, conforme a tabela abaixo.

Tubos	Amostra	Padrão	Reagente enzimático
Branco	--	--	2 mL
Amostra	20 uL	--	2 mL
Padrão	--	20uL	2 mL

Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos. Após esse tempo, determinar as absorvâncias do padrão e da amostra em 500nm acertando o zero com o tubo branco.

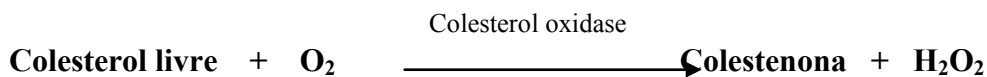
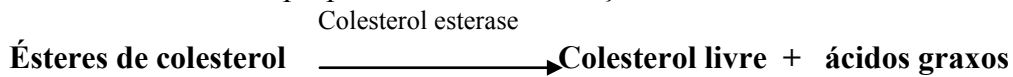
3. Cálculos

$$\text{Fator de calibração} = \frac{200}{\text{Absorvância do padrão}}$$

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \text{absorvância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

4. Princípio do método/Reação

Os ésteres de colesterol sofrem ação das enzimas colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase, resultando em um composto final corado com um máximo de absorção em 500 nm. A cor formada é proporcional á concentração de colesterol na amostra.



DETERMINAÇÃO DA TRIGLICERIDEMIA – MÉTODO COLORIMÉTRICO**1. Material necessário**

- Tubos de ensaio
- Micropipetas de 20uL
- Banho-maria a 37°C
- Pipeta de 2mL
- Espectrofotômetro
- Cronômetro
- Ponteiras
- Recipiente para descarte
- Luvas
- kit de triglicerídeos
-

2. Procedimento

Permitir que os reagente e a amostra atinjam a temperatura ambiente, em seguida pipetar em diferentes tubos de ensaio previamente identificados, conforme a tabela abaixo.

Tubos	Amostra	Padrão	Reagente enzimático
Branco	--	--	2 mL
Amostra	20uL	--	2 mL
Padrão	--	20uL	2 mL

Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos. Após esse tempo, determinar as absorvâncias do padrão e da amostra em 500nm acertando o zero com o tubo branco.

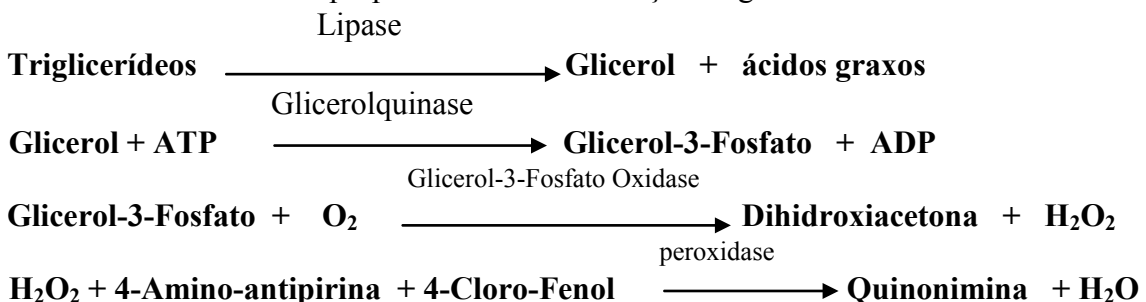
3. Cálculos

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{200}}{\text{Absorvância do padrão}}$$

$$\text{Glicose (mg/dL)} = \text{absorvância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

4. Princípio do método/Reação

Em presença de oxigênio, os triglicerídeos da amostra sofre ação da oxidase, produzindo peróxido de hidrogênio, que pela ação da peroxidase e em presença de fenol e da 4-amino-antipirina produz um composto colorido (quinonimina), com um máximo de absorção em 500nm. A cor formada é proporcional à concentração de glicose na amostra.



PODER REDUTOR DA VITAMINA C

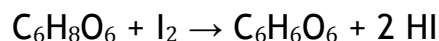
I – Redução do Nitrato de Prata

- 1. Materiais:** Solução de vitamina C a 1% e Solução de Nitrato de Prata a 2%, tubos de ensaio, pipetas.
- 2. Procedimento:** Colocar em um tubo de ensaio 5 ml de solução de nitrato de prata a 2%. Acrescentar 1 ml de solução de vitamina C a 1% e observar o aparecimento de um precipitado escuro de prata metálica.
- 3. Interpretação:** O ácido ascórbico é um poderoso redutor (anti-oxidante). Reduz o nitrato de prata mesmo a frio. Nesta reação de oxirredução, o ácido ascórbico converte-se em ácido Desidroascórbico.

II – Redução do Iodo

- 1. Materiais:** Solução de vitamina C a 1% , solução de Iodo-iodetada-ácida
- 2. Procedimento:** Colocar em um tubo de ensaio 2 ml de solução de iodo-iodetada ácida. Acrescentar gota a gota a solução recente de vitamina C a 1% e observar o progressivo esmaecimento da cor.
- 3. Interpretação:** O iodo é reduzido à ácido iodídrico, e o ácido ascórbico se oxida a ácido desidroascórbico.

4. Reação



Reação do Iodo para identificar a vitamina C em diferentes alimentos

1. Material e reagentes

- Nove copos de becker;
- Uma solução de amido de milho (preparada pela adição de 1 colher de chá cheia de amido de milho em 200 mL de água aquecida a cerca de 50° C. Deixe essa solução esfriar antes de utilizá-la);
- Uma solução de vitamina C 1 g/L (prepare essa solução dissolvendo um comprimido efervescente de vitamina C em 500 mL de água filtrada e depois acrescente mais água filtrada até atingir o volume de 1 L);
- Suco de laranja feito no dia anterior;
- Suco de laranja feito na hora;

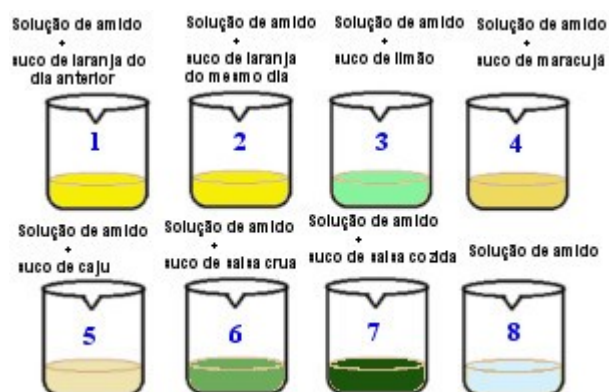
- Suco de limão, de maracujá e de caju;
- Suco de salsa cozida;
- Suco de salsa crua;
- Caneta e etiquetas para identificar cada recipiente;
- Conta-gotas;
- Solução de tintura de iodo a 2%.



Tintura de iodo e conta-gotas usados neste experimento

4. Procedimento experimental

- 1- Coloque 20 mL da solução de amido de milho nos recipientes;
- 2- Adicione respectivamente em cada recipiente cerca de 5 mL de cada um dos sucos, deixando um dos recipientes com somente a solução de amido. Deve ficar da seguinte forma:



Esquema de experimento sobre atuação da vitamina C como agente redutor

3. Acrescente em cada copo, gota a gota, a tintura de iodo e anote quantas gotas são necessárias para que a solução fique roxa. Não se esqueça de agitar a mistura depois de cada gota para verificar se a solução não volta a ficar incolor.

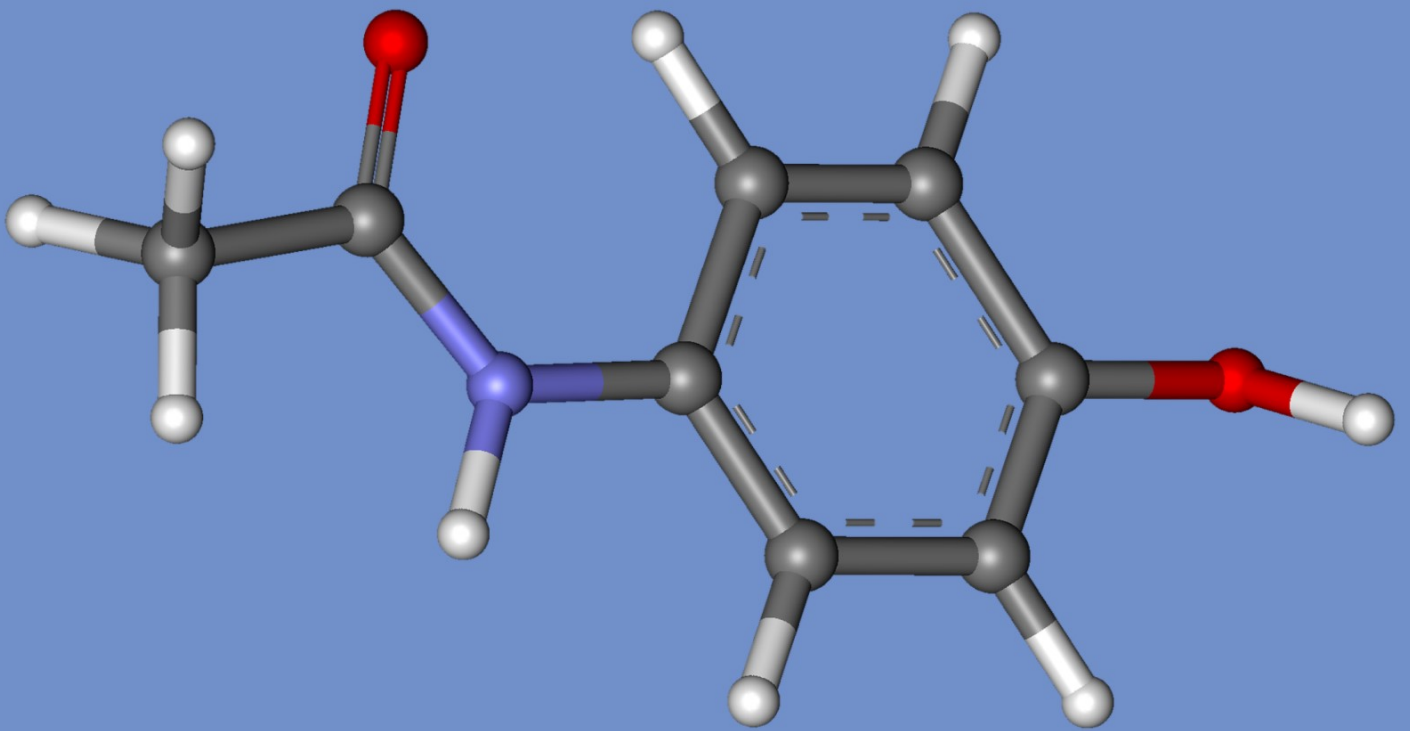
O ácido ascórbico é um agente redutor poderoso porque deixa a solução incolor pela redução do iodo. Então, quanto mais vitamina C o suco possuir, mais gotas de tintura de iodo serão necessárias para que a coloração azul inicial da substância amilácea retorne. Evidentemente, o recipiente 8, com a solução de amido, precisa de apenas uma gota para ficar na cor azul, pois não há vitamina C nele.

Quando comparamos os sucos de laranja feitos em dias diferentes, vemos que são necessárias mais gotas de tintura de iodo no suco feito no mesmo dia do que no suco feito no dia anterior. Dessa forma, fica claro que o suco feito no mesmo dia possui maior quantidade de vitamina C. Isso explica que “a vitamina C pode ser destruída parcial ou completamente durante longos períodos de armazenagem. Por exemplo, a cada mês armazenada, a batata perde 15% de sua vitamina C”.

Comparando os sucos de salsa crua e cozida, podemos observar que o suco de salsa crua necessitou de maior quantidade de iodo para adquirir coloração azul, o que indica que ele possui mais vitamina C. Isso ocorre porque o ácido ascórbico pode ser destruído pela ação do calor.

Alimentos cozidos por muito tempo e alimentos que foram submetidos a processamento industrial contêm pouca vitamina C. No caso da batata, se ela for cozida sem a casca, perderá imediatamente de 30% a 50% de sua propriedade.

Além disso, se o alimento for preparado em panelas de cobre ou de ferro, perderá ainda mais a vitamina C, pois o ácido dehidroascórbico (forma oxidada do ácido ascórbico) é convertido rapidamente em ácido-2,3-dicetogulônico, em uma reação catalizada pelo Cu^{2+} e por outros íons de metais de transição.



ISBN 978-85-9535-052-6

