

Unidade 4 |

Roteiro

Aula Prática



**Práticas Aplicadas
em Bioquímica e
Imunologia clínica**

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA

NOME DA DISCIPLINA: Práticas Aplicadas em Bioquímica e Imunologia Clínica

Unidade 4

OBJETIVOS

Definição dos objetivos da aula prática:

- Determinar a presença de anticorpos para sífilis, por método não-treponêmico utilizando a floculação (VDRL);

INFRAESTRUTURA

Instalações:

Laboratório de Análises Clínicas (LEAC)

Materiais de consumo:

Descrição	Quantidade de materiais por procedimento/atividade
Tubos de ensaio 5 mL	3 para cada 02 alunos
Estantes para tubo de ensaio	1 para cada 02 alunos
Luvras de Procedimento	1 para cada aluno
Pipetas automática de volume variável (100-1000uL)	1 para cada 02 alunos
Pipetas automática de volume variável (10 – 100 uL)	1 para cada 02 alunos
Ponteiras azuis 1000uL	1 caixa por laboratório
Ponteiras amarelas 200 uL	1 caixa por laboratório
Kit para determinação de anticorpos não treponêmicos para sífilis (VDRL)	1 por laboratório
Soro fisiológico 0,9%	20 ampolas – 5mL/ cada por laboratório
Placa de Kleni	1 para cada 03 alunos
Microscópio binocular	1 para cada 03 alunos
Amostra de sangue humano (Soro humano)	2 tubos de tampa vermelha/ amarela 8 mL

Software:

Sim () Não (X)

Em caso afirmativo, qual?

Pago () Não Pago ()

Tipo de Licença:

Descrição do software:

NSA.

Equipamento de Proteção Individual (EPI):

- Jaleco com manga longa, comprimento até o joelho
- Calçados fechados
- Cabelo preso
- Não utilizar brincos, pulseiras, anéis
- Luvas de procedimento

PROCEDIMENTOS PRÁTICOS

Neste momento, o aluno deve seguir as orientações apresentadas no vídeo da aula prática, bem como as apresentadas pelo tutor no momento da realização das atividades. Lembre-se de organizar o ambiente para que a atividade ocorra da melhor forma e em segurança, garantindo a todos uma excelente experiência de aprendizado.

Procedimento n1

Atividade proposta:

Determinação de anticorpos para sífilis (VDRL)

Procedimentos para a realização da atividade:

Princípio do Teste:

O VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) é um teste sorológico não-treponêmico para sífilis. O VDRL é um teste de floculação por meio do qual se realiza a pesquisa de anticorpos (reaginas) para sífilis no soro, plasma ou líquido cerebrospinal (LCE). Quando a suspensão antigênica do VDRL é misturada com o soro, plasma ou LCE que contenham anticorpos (reaginas) para sífilis, as partículas de antígeno floculam e o resultado da reação é observado ao microscópio. A ausência de floculação indica resultado negativo.

Aplicação clínica:

O VDRL é uma técnica utilizada no diagnóstico laboratorial da sífilis, uma doença infecciosa humana ocasionada por uma espiroqueta, o *Treponema pallidum*.

- **TESTE QUALITATIVO**

Procedimento Técnico:

- Pipetar 50 µL das amostras (soro) nas cavidades da placa escavada (placas de Kline);

- Pipetar 20 µL da suspensão antigênica homogeneizada nas mesmas cavidades das amostras. Não é necessário misturar esses dois componentes;
- Agitar a placa durante 4 minutos a 180 rpm;
- Imediatamente após os 4 minutos, observar o material ao microscópio óptico.

RESULTADO DAS LEITURAS:

- **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**

- **Preparar diluições seriadas do soro com resultado reagente no teste qualitativo: 1/2; 1/4; 1/8; 1/16; 1/32 em tubos de ensaio utilizando solução salina (0,9%).**

- Adicionar 0,1 mL de solução salina em cada tubo. Transferir para o 1º tubo 0,1 mL da amostra que apresentou teste qualitativo reagente. Misturar e transferir 0,1 mL do 1º para o 2º tubo, misturar e transferir 0,1 mL do 2º tubo para o 3º tubo e assim sucessivamente até o 5º tubo. Obtêm-se diluições 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32.
- Pipetar 50 uL das diluições em cada cavidade da placa escavada (placa de Kline);
- Dispensar 20 uL da suspensão antigênica sobre a amostra. Não é necessário misturar os dois componentes.
- Agitar a placa durante 4 minutos, observar o resultado ao microscópio óptico utilizando o aumento de 100X, comparando o resultado da amostra com os controles positivos e negativos.
- Será considerado como título a maior diluição da amostra que apresentar aglutinação microscópica. Se a aglutinação estiver presente até 1/32, continuar as diluições a partir do 5º tubo e prosseguir com o teste.

Realizar o descarte do material utilizado obedecendo os critérios de biossegurança.

Checklist:

- Verificar se os materiais necessários para a aula prática se encontram no laboratório.

- Verificar se todos os equipamentos estão em funcionamento.
- Verificar a utilização dos EPI's em especial das luvas durante a realização das análises.
- Avaliar a estabilidade dos reagentes.
- Os volumes necessários para a reação variam de acordo com o fabricante do kit, é necessário realizar a leitura da bula do kit antes de realizar a reação.
- Seguir com os procedimentos da aula prática.
- Todos os alunos deverão realizar as atividades propostas a fim de se familiarizarem com os princípios da técnica de VDRL, por floculação;
- Todos os alunos deverão estar aptos a realizar a interpretação dos dados obtidos;
- Todos os alunos deverão realizar o descarte adequado dos materiais utilizados no treinamento da técnica de diagnóstico.

RESULTADOS

Resultados da aula prática:

Como resultados dessa prática, espera-se que o aluno tenha compreendido quais são os procedimentos a serem realizados nas técnicas de diagnóstico laboratorial abordadas na aula.