

Ensinando pela Prática

Construindo Conceitos com Simulações Aplicadas e
Reagentes Universais

LABiEMol - I

Organizadores

Helena Carla Castro & Gilson Pôrto Jr.
Volume 1 – Versão em Português

**Helena Carla Castro
Gilson Pôrto Jr.
(Organizadores)**

**ENSINANDO PELA PRÁTICA:
Construindo Conceitos com Simulações Aplicadas e
Reagentes Universais**

RIO DE JANEIRO
TATIANA MILITÃO
2024

Diagramação/Projeto Gráfico: Dr^a. Helena Carla Castro, Leonardo Miceli e Victor Evangelho
Arte de capa: Victor Evangelho

Apoio Financeiro: Agradecemos à CAPES, FAPERJ e CNPq pelas bolsas, bem como ao PPGPatol, PPBI e PGCTIN da UFF pela assistência técnica e científica.

O padrão ortográfico e o sistema de citações e referências bibliográficas são prerrogativas de cada autor. Da mesma forma, o conteúdo de cada capítulo é de inteira e exclusiva responsabilidade de seu respectivo autor.

ENSINANDO PELA PRÁTICA VOL 1 - Construindo Conceitos com Simulações Aplicadas e Reagentes Universais. Organizadores: Helena Carla Castro e Gilson Pôrto Jr. Niterói, RJ: Tatiane Militão, 2024. 45 p.

ISBN 978-65-01-31266-8

1. Ensino. 2. Patologia. 3. Biotecnologia. 4. Prática. I. Castro, Helena Carla. II. Pôrto Jr, Gilson

O download e o compartilhamento do trabalho são permitidos desde que os créditos sejam dados aos autores, mas não poderá ser modificado de forma alguma ou usado para fins comerciais.

Como Referenciar ABNT NBR 6023/2018

Documento no todo

CASTRO, Helena Carla; PÔRTO JR, Gilson (org.). *Ensino pela Prática: Construindo Conceitos com Simulações Aplicadas e Reagentes Universais*. Vol. I. Niterói, RJ: Tatiana Militão, 2024.

Nos Capítulos

SOBRENOME, Nome; SOBRENOME, Nome. Título do capítulo. In: CASTRO, Helena Carla; PÔRTO JR, Gilson (org.). *Ensino pela Prática: Construindo Conceitos com Simulações Aplicadas e Reagentes Universais*. Vol. I. Niterói, RJ: Tatiana Militão, 2024.

**SINTA-SE À VONTADE PARA ENTRAR EM CONTATO COM OS ORGANIZADORES DO LIVRO
CASO TENHA ALGUMA DÚVIDA SOBRE COMO USAR AS AULAS PRÁTICAS. ESTAMOS AQUI
PARA APOIAR VOCÊ E CERTIFIQUE-SE DE APROVEITAR MÁXIMO ESTE RECURSO!
hcastro@id.uff.br**



SUMÁRIO

PREFÁCIO / PÁG. 5

Helena Carla Castro e Gilson Pôrto Jr.

INTRODUÇÃO / PÁG. 6

Helena Carla Castro

CAPÍTULO 1 / PÁG. 9

Simulação Aplicada - Seção interdisciplinar (Biotecnologia/Patologia).

PRÁTICA: CONHECENDO AS VACINAS E SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA

Autores: Sueli Braga, Aldo Rodrigues, Nadja Avila, Leonardo Miceli e Helena Carla Castro.

CAPÍTULO 2 / PÁG. 18

Simulação Aplicada - Seção interdisciplinar (Patologia/Oncologia/Biotecnologia)

PRÁTICA: A PREVENÇÃO E O COMBATE AO CÂNCER DE PRÓSTATA

Autores: Helena Carla Castro, Nayra Cordeiro da Conceição, Thaís Dias, Leonardo Miceli e Nathália da Rosa Coelho Martins.

CAPÍTULO 3 / PÁG. 27

Simulação Aplicada - Seção interdisciplinar (Patologia/Imunologia)

PRÁTICA: IDENTIFICANDO ALERGIAS PARA MELHOR QUALIDADE DE VIDA

Autores: Helena Carla Castro, Marcelo Rodrigues, Amanda Santos Antunes, Leonardo Miceli e Aldo Rodrigues

CAPÍTULO 4 / PÁG. 35

Simulação Aplicada - Seção interdisciplinar (Patologia/Bioquímica)

PRÁTICA: O pH E SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA

Autores: Mansur Dewu Muhammad, Isabela Marinho Américo, Luís Eduardo Cople Maia e Helena Carla Castro.

REFERÊNCIAS / PÁG. 44

SOBRE OS EDITORES / PÁG. 45

PREFÁCIO

O uso da simulação como estratégia de ensino tem ganhado importância em muitos contextos educacionais, especialmente nas disciplinas relacionadas à saúde. No entanto, sua aplicação em ciências básicas, ainda é limitada, particularmente no que diz respeito a correlação direta com os aspectos práticos voltados às profissões de saúde. Este livro não é apenas um guia; é um ponto de partida para usar seus princípios, aplicações práticas e estudos de caso inspiradores, para equipar estudantes e profissionais para defender a inovação, ao mesmo tempo em que honramos a nossa responsabilidade coletiva com as gerações futuras, explorando lições práticas.

Este livro aborda o desenvolvimento e a implementação de aulas práticas que utilizam indicadores de pH, que chamamos de reagentes universais. Esses reagentes seguros podem ser usados em um contexto prático e/ou para facilitar a compreensão da relação entre conhecimentos fundamentais de diferentes áreas básicas, e vários temas de Biotecnologia e Saúde, bem como diagnósticos de doenças, por meio de simulações laboratoriais.

Cada simulação emprega um indicador de pH extraído do repolho roxo, destacando seu potencial em conectar disciplinas básicas a aplicações clínicas e/ou profissionais. Também amostras biológicas como soro de plasma foram substituídas por vinagre de maçã, pois este livro fornece um chamado à ação usando materiais simples para simular contextos complexos.

Este livro é o resultado de um esforço colaborativo entre a Dra. Helena Carla Castro, do Departamento de Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal Fluminense (UFF) em Niterói, Brasil, e Dr. Gilson Pôrto Jr da Universidade Federal de Tocantins. É parte de seu trabalho produzido no âmbito do Projeto de Extensão Ser Humano, coordenado pela Dra. Helena. Esta iniciativa visa disseminar o conhecimento científico em diversos cenários, promovendo o aprendizado e o engajamento com a ciência em comunidades acadêmicas e não acadêmicas, usando e ensinando estratégias seguras e debaixo custo.

Niterói, Rio de Janeiro, Brasil, 22 de dezembro de 2024

*Helena Carla Castro
Gilson Pôrto Jr.*

INTRODUÇÃO

Em um mundo cada vez mais definido pela urgência da sustentabilidade e inovação, os princípios da química verde se destacam como um farol de esperança e responsabilidade. A química verde vai além de minimizar os danos. Ela imagina um futuro em que ciência e sustentabilidade estão intrinsecamente ligadas. Promovendo criatividade, colaboração e consciência, a química verde capacita cientistas, educadores e líderes da indústria a projetar soluções que sejam mais seguras, mais eficientes e em harmonia com o nosso planeta.

Da mesma forma, a simulação surgiu como uma ferramenta importante nas práticas educacionais em diversas disciplinas, particularmente em áreas relacionadas à saúde e no treinamento clínico. Ela permite a recriação de cenários do mundo real em um ambiente controlado e livre de riscos, proporcionando aos alunos oportunidades de aprendizado prático e interativo. Estudos demonstraram a eficácia da simulação na educação médica e de enfermagem, destacando seu impacto no desenvolvimento de habilidades técnicas e pensamento crítico [1-2]. No entanto, sua aplicação em disciplinas como bioquímica ainda é pouco explorada.

Patologia, Biotecnologia, Bioquímica, Imunologia e Oncologia são disciplinas básicas fundamentais nas ciências médicas, da saúde e biológicas, abordando processos biológicos humanos e animais complexos. Conceitos como pH, produção de anticorpos e vacinas são essenciais para a compreensão da homeostase fisiológica, sendo cruciais no diagnóstico e manejo de várias doenças [3].

Em ambientes educacionais tradicionais, os alunos frequentemente se deparam com diferentes tópicos por meio de aulas teóricas e discussões abstratas. Essa abordagem, no entanto, pode dificultar a conexão entre teoria e prática, limitando a capacidade dos alunos de relacionar o conteúdo aprendido em sala de aula aos cenários práticos que enfrentarão em suas carreiras.

A integração do aprendizado baseado em simulação aplicada nas disciplinas básicas apresenta uma oportunidade única para preencher essa lacuna. Ela permite que os alunos visualizem e compreendam melhor o papel dos conceitos aprendidos na prática profissional, tornando o aprendizado mais relevante e impactante [4].

O objetivo principal deste livro é apresentar aulas práticas baseadas em simulação que utilizam um indicador de pH natural e seguro, extraído da couve roxa.

Essas aulas foram desenvolvidas para demonstrar conceitos de diferentes áreas em um contexto aplicado. A simulação envolveu o uso de amostras não biológicas que simulam fluidos corporais, como vinagre de maçã, refrigerante de limão, água, bicarbonato e leite de magnésia, reduzindo os riscos associados ao uso de amostras biológicas reais.

Nessas simulações, os alunos são desafiados a identificar esses pacientes, materiais aprovados por voluntários (como vacinas) e correlacionar os resultados com condições associadas às mudanças observadas. Essas aulas práticas proporcionam uma experiência de aprendizado envolvente, permitindo que os alunos apliquem o conhecimento teórico em um cenário prático simulado. Ao mesmo tempo, este livro busca demonstrar a relevância das disciplinas básicas para o estabelecimento de diagnósticos por parte de estudantes das áreas da saúde, promovendo uma compreensão mais profunda de como os conceitos aprendidos se relacionam diretamente com a prática profissional.

Neste livro, cada capítulo permite a discussão de um tópico diferente nas áreas de Patologia, Biotecnologia, Imunologia, Farmacêutica e Oncologia, apresentando o desenvolvimento, a aplicação e a avaliação desta estratégia de ensino baseada em simulação. Os resultados da simulação, incluindo o feedback dos alunos e a eficácia da abordagem na conexão entre teoria e prática, devem sempre ser discutidos ao final. Por meio deste livro, esperamos contribuir para investimentos em mais estudos sobre aprendizagem baseada em simulação e sua aplicação na educação de jovens e adultos em diferentes níveis educacionais, pois permite seu uso desde crianças até estudantes idosos.

Todas as aulas práticas incluem orientações distintas para alunos/participantes e para monitores e professores, garantindo que o ambiente de simulação esteja alinhado com a abordagem específica de cada tema. Para os alunos, apenas o ambiente de simulação é apresentado, enquanto para monitores e professores toda a aula, incluindo a preparação do indicador de pH e das "amostras biológicas," é relatada. A análise final dos resultados e a discussão também são estimuladas, mas não se limitam a algumas perguntas propostas neste manual, com o objetivo de criar um ambiente de reflexão e aprendizado simultaneamente.

Por favor, sinta-se à vontade para entrar em contato com os organizadores do livro caso tenha dúvidas sobre como utilizar as aulas práticas (hcastro@id.uff.br). Estamos aqui para apoiá-lo e garantir que aproveite ao máximo este recurso, além de estarmos abertos a colaborações nacionais e internacionais.



CAPÍTULO I

SIMULAÇÃO APLICADA

Seção Interdisciplinar (Biotecnologia-Patologia)

Tópico: *Compreendendo as Vacinas e Sua Importância Médica*

Versão: *Monitores e Professores*

Autores: *Sueli Braga,
Aldo Rodrigues,
Nadja Avila,
Leonardo Miceli,
Helena Carla Castro*

| Logo da sua Instituição | Nome de sua Instituição Projeto Ser Humano: Kit de Simulação Aplicada (KitSA-LABiEMol) Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular Universidade Federal Fluminense/Instituto de Biologia | |
|-------------------------|---|--|
|-------------------------|---|--|

Seção Interdisciplinar (Biotecnologia - Bioquímica)
Versão: Monitores e Professores

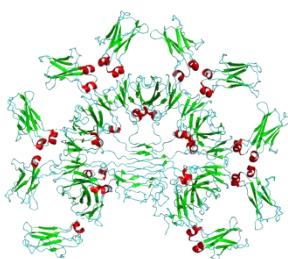
TÓPICO: COMPREENDENDO AS VACINAS E SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA

1. Introdução

As vacinas são uma das mais importantes estratégias de prevenção de doenças infecciosas existentes na atualidade. A partir da ativação do sistema imunológico para o desenvolvimento de anticorpos contra agentes patogênicos específicos, elas funcionam apresentando ao organismo componentes do agente infeccioso, também chamados de抗ígenos, o que inclui proteínas, RNA, DNA ou partículas virais inativadas. Essas moléculas estimulam o sistema imune sem induzir a doença, permitindo a produção de anticorpos, que são de fato proteínas com atividade protetora e que vão proteger o organismo a partir da interação com células do sistema imunológico do indivíduo vacinado.

Para verificação da atuação da vacina, a produção de anticorpos é um dos principais indicadores de sua eficiência protetora. Dentre os anticorpos avaliados, temos:

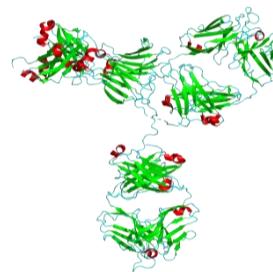
a) IgM, que indica uma resposta imunológica inicial, sendo primeiro anticorpo produzido após a exposição ao antígeno.



Imunoglobulina M (IgM)

b) IgG, anticorpo relacionado à memória imunológica e responsável pela proteção a longo prazo. A ação neutralizante desses anticorpos em bloquear a infecção por

patógenos é o principal foco para avaliar a eficácia de diversas vacinas.



Imunoglobulina G (IgG)

Os testes de anticorpos, também conhecidos como sorologias devido ao uso de soro sanguíneo, são utilizados para avaliar a eficácia da vacina ao medir os níveis de anticorpos específicos no sangue. Esses testes possuem várias finalidades, incluindo: a) Confirmação da Resposta Imunológica, verificando o nível de produção de anticorpos, b) Avaliação da Duração da Proteção, monitorando a quantidade de anticorpos ao longo do tempo e indicando a necessidade de reforços vacinais, e c) Análise de estudos clínicos durante o desenvolvimento de vacinas, onde os testes de anticorpos ajudam a determinar se uma formulação é eficaz antes de ser liberada para uso público.

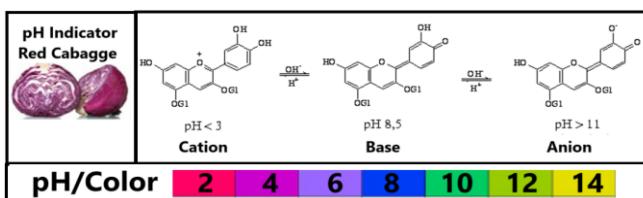
Nesta prática, cada grupo de alunos irá avaliar diferentes hipóteses que levarão à análise de vacinas experimentais contra um patógeno desconhecido.

Portanto, é importante realizar um teste controle negativo (Paciente 1 Normal), onde o soro não causa alteração no reagente utilizado, assim como um teste controle positivo (Paciente 2 Imunizado), onde a presença do anticorpo é observada e a mudança de cor é garantida.

Neste trabalho, a substituição do material biológico por simuladores aplicados será feita utilizando um material diferente para a preparação das "amostras dos voluntários". Neste caso, vinagre de maçã. O indicador de pH será preparado como uma solução de repolho roxo. Esses reagentes são de fácil acesso, simples de preparar, com baixo custo e baixos riscos.

O repolho roxo pode ser utilizado como um indicador ácido-base porque contém moléculas que mudam de cor ao entrar em contato com ácidos ou bases. Essas moléculas são as antocianinas, pigmentos pertencentes ao grupo dos flavonoides, que são responsáveis pela grande variedade de cores em frutas, folhas e flores.

A função da antocianina na planta é proteger contra a luz ultravioleta e prevenir a produção de radicais livres. Essa substância é altamente sensível e deve ser armazenada em um freezer ou refrigerador até o momento de



uso.

2. Objetivo

Nosso propósito é simular a análise de amostras de soro sanguíneo de voluntários para a produção de anticorpos e a adequação das quatro "vacinas" produzidas na proposta de simulação aplicada.

3. Reagentes

- 5 seringas de 5 ml ou pipetas Pasteur de plástico.
- 5 placas de cultura celular recicladas de 6 poços ou 14 tubos de vidro.



- 1 Repolho roxo.
- 1 Liquidificador.
- 1 Peneira.
- água e vinagre de maçã

4. Preparo dos Reagentes

♦ Identificador de pH:

Pesar 500g de repolho roxo picado e com 1L de água, cozinhar por 15 minutos. Posteriormente bater no liquidificador e coar na peneira, guardando no congelador. Usar 2 ml do indicador em cada poço da microplaca de cultura de célula reciclada ou tubo de vidro.

♦ Amostras dos Pacientes (Volume depende do uso de tubo ou placa)

Voluntário C1 (Normal): Controle Negativo
Normal: água (0,5 ml)

Voluntário C2 (Produzindo anticorpo): Controle

Positivo Alterado: vinagre de maçã (0,5 ml)

Voluntário 1: Vacina 1 (Produção de Anticorpo)

Alterado: vinagre de maçã (0,5 ml)

Voluntário 2: Vacina 2 (Necessidade de Reforço)

Vacinal) Alterado: solução de bicarbonato de sódio ou leite de magnésia (0,5 ml)

Voluntário 3: Vacina 3 (Não Imunizado)

Normal: água (0,5 ml)

Voluntário 4: Vacina 4 (Não Imunizado)

Normal: água (0,5 ml)

5. Procedimentos

- ♦ Colocar ____ml de cada paciente em cada poço da placa respectivamente
- ♦ Transferir 2 mL de identificador;
- ♦ Misturar e observar a coloração do líquido.

| RESULTADOS | |
|------------------------|--------|
| Cor inalterada (roxo) | Neutro |
| Verde-azulado ou verde | Básico |
| Rosa ou Vermelho | Ácido |

Resultado do Voluntário C1: _____

Resultado do Voluntário C2: _____

Resultado do 1º Voluntário: _____

Resultado do 2º Voluntário: _____

Resultado do 3º Voluntário: _____

Resultado do 4º Voluntário: _____

6. Questões para Discussão

6.1. Comente (sucintamente) o resultado relacionando com as vacinas analisadas.

6.2. Conceitue e compare os dados encontrados para as duas vacinas.

6.3. Qual o tipo de teste realizado: direto ou indireto? Justifique.

Reação Colorimétrica

INTRODUÇÃO

As reações colorimétricas oferecem alta sensibilidade e especificidade, tornando-se ferramentas valiosas para diagnósticos rápidos e confiáveis em vários contextos de saúde. Este princípio é amplamente utilizado para diagnósticos clínicos, como:

- HIV:** Detecção de anticorpos contra o vírus.
- COVID-19:** Identificação de anticorpos ou antígenos do SARS-CoV-2.
- Doenças autoimunes:** Avaliação de autoanticorpos.

Uma reação colorimétrica em um teste diagnóstico envolvendo antígeno e anticorpo pode ocorrer de forma indireta ou direta:

A. Reação Colorimétrica Indreta

Imunoensaios como ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) identificam a interação específica entre um antígeno (uma molécula de um patógeno ou marcador de doença) e um anticorpo ligado a uma enzima. Eles geram uma mudança de cor que indica a presença do antígeno no anticorpo na amostra, seguindo estas etapas:

- *Preparação da Placa:* Um antígeno ou anticorpo específico é fixado na superfície de uma microplaca. A amostra biológica (como sangue ou soro) é adicionada, permitindo que o antígeno se ligue ao anticorpo correspondente, caso ambos estejam presentes.
- *Adição do Conjugado de Enzima:* Um anticorpo secundário ligado a uma enzima, como *peroxidase de rábano (HRP)* ou *fosfatase alcalina*, é adicionado. Este anticorpo se liga ao complexo formado entre o antígeno e o anticorpo primário.
- *Substrato Cromogênico:* Após a lavagem para remover componentes não ligados, um substrato específico para a enzima é adicionado. Quando a enzima interage com o substrato, ocorre uma reação química, resultando na formação de um produto colorido.
- *Exemplo de Substrato Cromogênico:* Para a HRP, o substrato cromogênico mais usado é o *TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina)*. Na presença de peróxido de hidrogênio, a HRP catalisa a oxidação do TMB, resultando em uma cor azul que pode ser transformada em amarelo pela adição de ácido sulfúrico.
- *Detecção de Cor:* A intensidade da cor gerada é proporcional à quantidade de antígeno presente na amostra e pode ser medida por um espectrofotômetro ou visualmente, dependendo do teste.

B. Reação Colorimétrica Direta

Existem reações colorimétricas diretas onde a ligação entre um anticorpo e um antígeno resulta em uma mudança de cor. Esses métodos geralmente utilizam anticorpos conjugados a moléculas cromogênicas que mudam de cor ao se ligarem ao antígeno-alvo. Um exemplo clássico é o uso de anticorpos ligados a

partículas de ouro coloidal, que geram uma mudança de cor visível sem a necessidade de etapas adicionais com substratos ou enzimas. Essas metodologias são úteis em diagnósticos rápidos, especialmente em cenários de triagem e emergências médicas.

Exemplos de Reações Colorimétricas Diretas:

estes Rápidos Baseados em Partículas de Ouro Coloidal:

- Amplamente utilizados em testes diagnósticos rápidos, como testes de gravidez ou testes de COVID-19.
- O anticorpo é conjugado a nanopartículas de ouro que exibem coloração vermelha intensa. Quando o anticorpo encontra o antígeno correspondente, as partículas de ouro se acumulam, formando uma linha colorida visível.

Uso de Fluoróforos ou Cromóforos Acoplados a Anticorpos:

Alguns anticorpos podem ser diretamente conjugados a compostos cromogênicos que mudam de cor em resposta a alterações conformacionais durante a ligação ao antígeno.

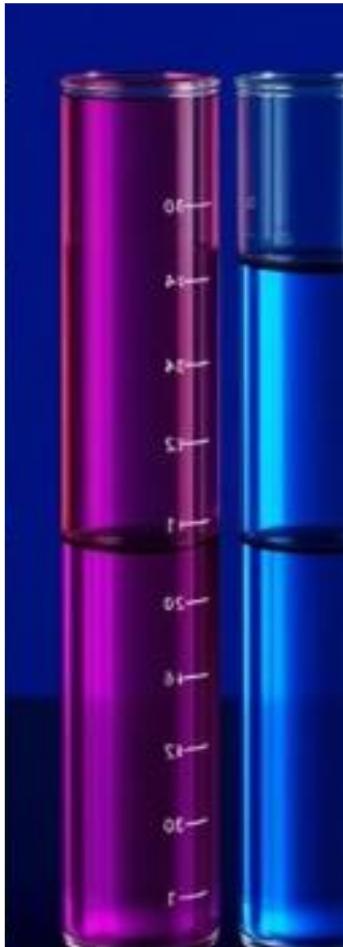
Vantagens da Reação Direta:

Rápida: Elimina etapas intermediárias, como lavagem e adição de substratos.

- **Prática:** Ideal para dispositivos portáteis ou testes de campo.
- **Custo reduzido:** Menor complexidade técnica e operacional.

Limitações:

1. **Menor sensibilidade:** Comparada a métodos enzimáticos, como ELISA.
2. **Dependência de alta especificidade:** Para evitar falsos positivos ou negativos.



CAPÍTULO I

SIMULAÇÃO APLICADA

Seção Interdisciplinar (Biotecnologia-Patologia)

Tópico: *Compreendendo as Vacinas e Sua Importância Médica*

Versão: *Alunos/Participantes*

Autores: *Sueli Braga,
Aldo Rodrigues,
Nadja Avila,
Leonardo Miceli,
Helena Carla Castro*

| Logo da sua Instituição | Nome de sua Instituição Projeto Ser Humano: Kit de Simulação Aplicada (KitSA-LABiEMol) Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular Universidade Federal Fluminense/Instituto de Biologia | |
|-------------------------|---|--|
|-------------------------|---|--|

Seção Interdisciplinar (Biotecnologia-Bioquímica)

Versão: Alunos/Participantes

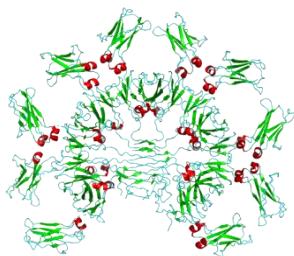
TÓPICO: COMPREENDENDO AS VACINAS E SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA

1. Introdução

As vacinas são uma das mais importantes estratégias de prevenção de doenças infecciosas existentes na atualidade. A partir da ativação do sistema imunológico para o desenvolvimento de anticorpos contra agentes patogênicos específicos, elas funcionam apresentando ao organismo componentes do agente infeccioso, também chamados de抗ígenos, o que inclui proteínas, RNA, DNA ou partículas virais inativadas. Essas moléculas estimulam o sistema imune sem induzir a doença, permitindo a produção de anticorpos, que são de fato proteínas com atividade protetora e que vão proteger o organismo a partir da interação com células do sistema imunológico do indivíduo vacinado.

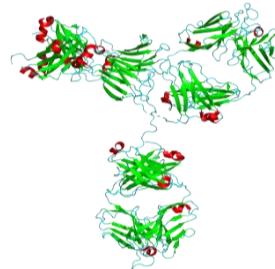
Para verificação da atuação da vacina, a produção de anticorpos é um dos principais indicadores de sua eficiência protetora. Dentre os anticorpos avaliados, temos:

a) IgM, que indica uma resposta imunológica inicial, sendo primeiro anticorpo produzido após a exposição ao antígeno.



Imunoglobulina M (IgM)

b) IgG, anticorpo relacionado à memória imunológica e responsável pela proteção a longo prazo. A ação neutralizante desses anticorpos em bloquear a infecção por patógenos é o principal foco para avaliar a eficácia de diversas vacinas.



Imunoglobulina G (IgG)

Os testes de anticorpos, também conhecidos como sorologias devido ao uso de soro sanguíneo, são utilizados para avaliar a eficácia da vacina ao medir os níveis de anticorpos específicos no sangue. Esses testes possuem várias finalidades, incluindo: a) Confirmação da Resposta Imunológica, verificando o nível de produção de anticorpos, b) Avaliação da Duração da Proteção, monitorando a quantidade de anticorpos ao longo do tempo e indicando a necessidade de reforços vacinais, e c) Análise de estudos clínicos durante o desenvolvimento de vacinas, onde os testes de anticorpos ajudam a determinar se uma formulação é eficaz antes de ser liberada para uso público.

Nesta prática, cada grupo de alunos irá avaliar diferentes hipóteses que levarão à análise de vacinas experimentais contra um patógeno desconhecido.

Portanto, é importante realizar um teste controle negativo (Paciente 1 Normal), onde o soro não causa alteração no reagente utilizado, assim como um teste controle positivo (Paciente 2 Imunizado), onde a presença do anticorpo é observada e a mudança de cor é garantida.

Neste trabalho, a substituição do material biológico por simuladores aplicados será feita utilizando um material diferente para a preparação das "amostras dos voluntários". Neste caso, vinagre de maçã. O indicador de pH será preparado como uma solução de repolho roxo. Esses reagentes são de fácil acesso, simples de preparar, com baixo custo e baixos riscos.

O repolho roxo pode ser utilizado como um indicador ácido-base porque contém moléculas que mudam de cor ao entrar em contato com ácidos ou bases. Essas moléculas são as antocianinas, pigmentos pertencentes ao grupo dos flavonoides, que são responsáveis pela grande variedade de cores em frutas, folhas e flores.

A função da antocianina na planta é proteger contra a luz ultravioleta e prevenir a produção de radicais livres. Essa substância é altamente sensível e deve ser armazenada em um freezer ou refrigerador até o momento de uso.

Nessa prática, cada grupo de estudantes avaliará diferentes hipóteses que levarão à análise de vacinas experimentais contra um patógeno desconhecido, tendo sido contratados pela Agência Nacional de Saúde do país para realizar essa avaliação. Portanto, é importante realizar um teste de controle negativo (Voluntário C1, Normal), onde o soro não

causa alteração no reagente utilizado, bem como um teste de controle positivo (Voluntário C2, Imunizado), onde se observa a presença do anticorpo e a mudança de cor está garantida.

2. Objetivo

Nosso objetivo é analisar as amostras de soro sanguíneo dos voluntários para verificar a produção de anticorpos e a adequação das vacinas produzidas.

3. Reagentes

-5 seringas/pipetas de 5 ml ou pipetas Pasteur de plástico.



-5 microplacas recicladas de cultura celular de 6 ou 12 poços ou 14 tubos de vidro.

-Reagente com antígeno viral marcado com substância cromogênica

4. Preparo dos Reagentes

- ♦ **Amostras dos Pacientes** (*Volume depende do uso de tubo ou placa*)
 - Rotular os Tubos/Placa referentes aos soros.

Voluntário C1 (Normal): Controle Negativo

Voluntário C2 (Imunizado): Controle Positivo

Voluntário 1: Vacina 1 (Desconhecida)

Voluntário 2: Vacina 2 (Desconhecida)

Voluntário 3: Vacina 3 (Desconhecida)

Voluntário 4: Vacina 4 (Desconhecida)

5. Procedimentos

- ♦ Colocar _____ ml de cada paciente em cada poço da placa respectivamente
- ♦ Transferir 2 mL de identificador;
- ♦ Misturar e observar a coloração do líquido.

| RESULTADOS | |
|------------------------|--------|
| Cor inalterada (roxo) | Neutro |
| Verde-azulado ou verde | Básico |
| Rosa ou Vermelho | Ácido |

Resultado do Voluntário C1: _____

Resultado do Voluntário C2: _____

Resultado do 1º Voluntário: _____

Resultado do 2º Voluntário: _____

Resultado do 3º Voluntário: _____

Resultado do 4º Voluntário: _____

6. Questões para Discussão

6.1 Comente (de forma sucinta) sobre os resultados relacionados às vacinas analisadas.

6.2. Defina e compare os dados encontrados para as duas vacinas.

6.3. Que tipo de teste foi realizado: direto ou indireto? Justifique.

Reação Colorimétrica

INTRODUÇÃO

As reações colorimétricas oferecem alta sensibilidade e especificidade, tornando-se ferramentas valiosas para diagnósticos rápidos e confiáveis em vários contextos de saúde. Este princípio é amplamente utilizado para diagnósticos clínicos, como:

- HIV:** Detecção de anticorpos contra o vírus.
- COVID-19:** Identificação de anticorpos ou抗ígenos do SARS-CoV-2.
- Doenças autoimunes:** Avaliação de autoanticorpos.

Uma reação colorimétrica em um teste diagnóstico envolvendo antígeno e anticorpo pode ocorrer de forma indireta ou direta:

A. Reação Colorimétrica Indireta

Imunoensaios como **ELISA** (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) identificam a interação específica entre um antígeno (uma molécula de um patógeno ou marcador de doença) e um anticorpo ligado a uma enzima. Eles geram uma mudança de cor que indica a presença do antígeno no anticorpo na amostra, seguindo estas etapas:

- **Preparação da Placa:** Um antígeno ou anticorpo específico é fixado na superfície de uma microplaca. A amostra biológica (como sangue ou soro) é adicionada, permitindo que o antígeno se ligue ao anticorpo correspondente, caso ambos estejam presentes.
- **Adição do Conjugado de Enzima:** Um anticorpo secundário ligado a uma enzima, como *peroxidase de râbano* (HRP) ou *fosfatase alcalina*, é adicionado. Este anticorpo se liga ao complexo formado entre o antígeno e o anticorpo primário.
- **Substrato Cromogênico:** Após a lavagem para remover componentes não ligados, um substrato específico para a enzima é adicionado. Quando a enzima interage com o substrato, ocorre uma reação química, resultando na formação de um produto colorido.
- **Exemplo de Substrato Cromogênico:** Para a HRP, o substrato cromogênico mais usado é o *TMB* (*3,3',5,5'-tetrametilbenzidina*). Na presença de peróxido de hidrogênio, a HRP catalisa a oxidação do TMB, resultando em uma cor azul que pode ser transformada em amarelo pela adição de ácido sulfúrico.
- **Detecção de Cor:** A intensidade da cor gerada é proporcional à quantidade de antígeno presente na amostra e pode ser medida por um espectrofotômetro ou visualmente, dependendo do teste.

B. Reação Colorimétrica Direta

Existem reações colorimétricas diretas onde a ligação entre um anticorpo e um antígeno resulta em uma mudança de cor. Esses métodos geralmente utilizam anticorpos conjugados a moléculas cromogênicas que mudam de cor ao se ligarem ao antígeno-alvo. Um exemplo clássico é o uso de anticorpos ligados a

partículas de ouro coloidal, que geram uma mudança de cor visível sem a necessidade de etapas adicionais com substratos ou enzimas. Essas metodologias são úteis em diagnósticos rápidos, especialmente em cenários de triagem e emergências médicas.

Exemplos de Reações Colorimétricas Diretas:

estes Rápidos Baseados em Partículas de Ouro Coloidal:

- Amplamente utilizados em testes diagnósticos rápidos, como testes de gravidez ou testes de COVID-19.
- O anticorpo é conjugado a nanopartículas de ouro que exibem coloração vermelha intensa. Quando o anticorpo encontra o antígeno correspondente, as partículas de ouro se acumulam, formando uma linha colorida visível.

Uso de Fluoróforos ou Cromóforos Acoplados a Anticorpos:

Alguns anticorpos podem ser diretamente conjugados a compostos cromogênicos que mudam de cor em resposta a alterações conformacionais durante a ligação ao antígeno.

Vantagens da Reação Direta:

Rápida: Elimina etapas intermediárias, como lavagem e adição de substratos.

- **Prática:** Ideal para dispositivos portáteis ou testes de campo.
- **Custo reduzido:** Menor complexidade técnica e operacional.

Limitações:

1. **Menor sensibilidade:** Comparada a métodos enzimáticos, como ELISA.
2. **Dependência de alta especificidade:** Para evitar falsos positivos ou negativos.



CAPÍTULO II

SIMULAÇÃO APLICADA

Seção Interdisciplinar (Patologia-Oncologia)

Tópico: Prevenção e Combate ao Câncer de Próstata

Versão: Monitores e Professores

Autores: Helena Carla Castro
Nayra Cordeiro da Conceição,
Thais Dias,
Nathalia da Rosa Coelho Martins.
Leonardo Miceli
Aldo Rodrigues

| Logo da sua Instituição | Nome de sua Instituição Projeto Ser Humano: Kit de Simulação Aplicada (KitSA-LABiEMol) Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular Universidade Federal Fluminense/Instituto de Biologia | |
|-------------------------|---|--|
|-------------------------|---|--|

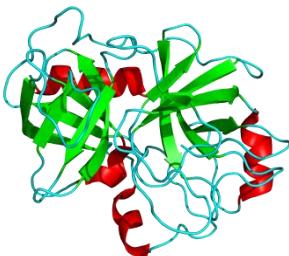
Seção Interdisciplinar (Patologia/Oncologia)

Versão: Monitores e Professores

TÓPICO: A PREVENÇÃO E O COMBATE AO CÂNCER DE PRÓSTATA

1. Introdução

O câncer de próstata é um dos tipos mais comuns de câncer entre os homens, especialmente aqueles com mais de 50 anos de idade. A detecção precoce é essencial para o tratamento bem-sucedido, e o Antígeno Prostático Específico (PSA) é uma ferramenta importante nesse processo. O PSA é uma proteína produzida principalmente pelas células da próstata e é encontrada em pequenas quantidades no sangue de homens saudáveis. No entanto, níveis elevados de PSA podem indicar alterações na próstata, incluindo infecções, hiperplasia benigna ou câncer.



Antígeno Prostático Específico (PSA)

Medir os níveis de PSA no sangue é um exame simples, mas altamente relevante. Geralmente, níveis abaixo de 4 ng/mL são considerados normais, embora essa referência varie de acordo com a idade, histórico familiar e outros fatores. Resultados entre 4 e 10 ng/mL podem indicar a necessidade de exames adicionais, como toque retal e biópsia. Valores acima de 10 ng/mL aumentam a probabilidade de malignidade.

É importante notar que o PSA não é exclusivo para detecção de câncer; outros fatores, como prostatite ou aumento benigno da próstata, também podem elevar seus níveis. Além disso, procedimentos recentes, como colocação de

cateter ou ejaculação, podem influenciar temporariamente os resultados, destacando a importância de uma avaliação clínica detalhada.

Apesar de suas limitações, o PSA desempenha um papel fundamental na triagem e monitoramento do câncer de próstata. Ele ajuda a identificar casos em estágios iniciais e a monitorar pacientes em tratamento, sendo útil na avaliação da resposta terapêutica e possíveis recorrências tumorais. A combinação do PSA com outros métodos diagnósticos melhora a precisão, permitindo intervenções mais eficazes e personalizadas

Monitoramento regular do PSA, juntamente com consultas periódicas a um especialista, é crucial para homens pertencentes a grupos de risco, como aqueles com histórico familiar de câncer de próstata ou descendência africana, devido à maior predisposição genética.

Os principais fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de próstata incluem: idade (aumento significativo na incidência e mortalidade em homens acima de 60 anos), histórico familiar, (especialmente em parentes de primeiro grau diagnosticados antes dos 60 anos), e aspectos relacionados ao estilo de vida (por exemplo, obesidade e dieta inadequada).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), algumas medidas podem reduzir o impacto desses fatores de risco. Entre elas estão a adoção de uma dieta equilibrada, a prática regular de exercícios físicos, a manutenção de um peso saudável, a redução do consumo de álcool e o combate ao tabagismo e ao comportamento sedentário.

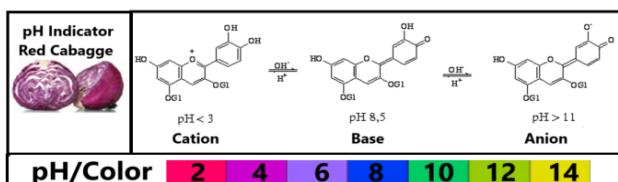
Nesta prática, cada grupo de estudantes avaliará diferentes hipóteses relacionadas ao diagnóstico dos pacientes analisados. Por meio da detecção da presença de PSA no soro, utilizando um reagente que contém anticorpos contra PSA, serão realizados dois testes de controle:

- um teste de controle negativo (Paciente 1 Normal), no qual o soro não provoca nenhuma alteração no reagente usado; e
- um teste de controle positivo (Paciente 2 com Câncer de Próstata), no qual a presença de uma alteração na cor é garantida.

Um aspecto único deste trabalho é a substituição de material biológico por simuladores aplicados. A substituição desses materiais biológicos será feita utilizando vinagre de maçã para preparar as “amostras dos voluntários”. O indicador de pH que simulará o reagente formado por anticorpos contra o PSA será a solução de repolho roxo, que é de fácil acesso, simples de preparar, de baixo custo e baixo risco.

O repolho roxo pode ser utilizado como um indicador ácido-base porque contém moléculas que mudam de cor ao entrar em contato com ácidos ou bases. Essas moléculas são as antocianinas, pigmentos pertencentes ao grupo dos flavonoides, que são responsáveis pela grande variedade de cores em frutas, folhas e flores.

A função da antocianina na planta é proteger contra a luz ultravioleta e prevenir a produção de radicais livres. Essa substância é altamente sensível e deve ser armazenada em um freezer ou refrigerador até o momento de uso.



2. Objetivos

Nosso objetivo é simular a análise de amostras de soro sanguíneo de pacientes em busca da

produção de PSA para o diagnóstico de câncer de próstata.

3. Reagents

-5 seringas de 5 ml ou pipetas Pasteur de plástico

-5 microplacas de cultura celular recicladas de 6 poços ou 14 tubos de vidro

-1 repolho roxo
-1 liquidificador
-1 peneira



-Água, vinagre de maçã

4. Preparação dos Reagentes

Indicador de pH:

Pese 500g de repolho roxo picado e cozinhe com 1L de água por 15 minutos. Em seguida, bata no liquidificador e coe usando uma peneira, armazenando no congelador. Use 1-2 ml do indicador em cada poço da microplaca de cultura celular reciclada ou tubo de vidro.

Amostras de Pacientes: *O volume depende do material (tubos ou placas) utilizado no teste.*

Paciente 1 (Normal): Controle Negativo

Normal: água (0,5 ml)

Paciente 2 (Câncer de Próstata): Controle

Positivo Alterado: vinagre de maçã (0,5 ml)

Paciente 3 (Idoso → >60 anos): Desconhecido
(+) Alterado: vinagre de maçã (0,5 ml)

Paciente 4 (Adulto → 19-59 anos): Desconhecido (-)

Normal: água (0,5 ml)

Paciente 5 (*Jovem → A-J: 15-17 anos, J-J: 18-24 anos, J-Ad: 25-29 anos): Desconhecido
(-) Normal: água (0,5 ml)

*A = Adolescente, J = Jovem, Ad = Adulto

5. Procedimentos

- Coloque 0,5 ml de cada amostra de paciente em cada poço da placa, respectivamente.
- Transfira 1 ml do indicador/reagente.
- Misture e observe a mudança de cor do líquido.

| RESULTADOS | |
|-----------------------|----------|
| Cor inalterada (roxa) | Negativo |
| Cor rosa ou vermelha | Positivo |

No primeiro paciente: _____

No segundo paciente: _____

No terceiro paciente: _____

No quarto paciente: _____

No quinto paciente: _____

6. Perguntas de Discussão

6.1. Comente (brevemente) os resultados em relação aos pacientes analisados.

6.2. Defina e compare os dados encontrados analisando a idade dos pacientes.

6.3. Que tipo de teste foi realizado: direto ou indireto? Justifique.

Reação Colorimétrica

INTRODUÇÃO

As reações colorimétricas oferecem alta sensibilidade e especificidade, tornando-se ferramentas valiosas para diagnósticos rápidos e confiáveis em vários contextos de saúde. Este princípio é amplamente utilizado para diagnósticos clínicos, como:

- HIV:** Detecção de anticorpos contra o vírus.
- COVID-19:** Identificação de anticorpos ou antígenos do SARS-CoV-2.
- Doenças autoimunes:** Avaliação de autoanticorpos.

Uma reação colorimétrica em um teste diagnóstico envolvendo antígeno e anticorpo pode ocorrer de forma indireta ou direta:

A. Reação Colorimétrica Indireta

Imunoensaios como *ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)* identificam a interação específica entre um antígeno (uma molécula de um patógeno ou marcador de doença) e um anticorpo ligado a uma enzima. Eles geram uma mudança de cor que indica a presença do antígeno no anticorpo na amostra, seguindo estas etapas:

- **Preparação da Placa:** Um antígeno ou anticorpo específico é fixado na superfície de uma microplaca. A amostra biológica (como sangue ou soro) é adicionada, permitindo que o antígeno se ligue ao anticorpo correspondente, caso ambos estejam presentes.
- **Adição do Conjugado de Enzima:** Um anticorpo secundário ligado a uma enzima, como *peroxidase de rábano (HRP)* ou *fosfatase alcalina*, é adicionado. Este anticorpo se liga ao complexo formado entre o antígeno e o anticorpo primário.
- **Substrato Cromogênico:** Após a lavagem para remover componentes não ligados, um substrato específico para a enzima é adicionado. Quando a enzima interage com o substrato, ocorre uma reação química, resultando na formação de um produto colorido.
- **Exemplo de Substrato Cromogênico:** Para a *HRP*, o substrato cromogênico mais usado é o *TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina)*. Na presença de peróxido de hidrogênio, a *HRP* catalisa a oxidação do *TMB*, resultando em uma cor azul que pode ser transformada em amarelo pela adição de ácido sulfúrico.
- **Detecção de Cor:** A intensidade da cor gerada é proporcional à quantidade de antígeno presente na amostra e pode ser medida por um espectrofotômetro ou visualmente, dependendo do teste.

B. Reação Colorimétrica Direta

Existem reações colorimétricas diretas onde a ligação entre um anticorpo e um antígeno resulta em uma mudança de cor. Esses métodos geralmente utilizam anticorpos conjugados a moléculas cromogênicas que mudam de cor ao se ligarem ao antígeno-alvo. Um exemplo clássico é o uso de anticorpos ligados a

partículas de ouro coloidal, que geram uma mudança de cor visível sem a necessidade de etapas adicionais com substratos ou enzimas. Essas metodologias são úteis em diagnósticos rápidos, especialmente em cenários de triagem e emergências médicas.

Exemplos de Reações Colorimétricas Diretas:

estes Rápidos Baseados em Partículas de Ouro Coloidal:

- Amplamente utilizados em testes diagnósticos rápidos, como testes de gravidez ou testes de COVID-19.
- O anticorpo é conjugado a nanopartículas de ouro que exibem coloração vermelha intensa. Quando o anticorpo encontra o antígeno correspondente, as partículas de ouro se acumulam, formando uma linha colorida visível.

Uso de Fluoróforos ou Cromóforos Acoplados a Anticorpos:

Alguns anticorpos podem ser diretamente conjugados a compostos cromogênicos que mudam de cor em resposta a alterações conformacionais durante a ligação ao antígeno.

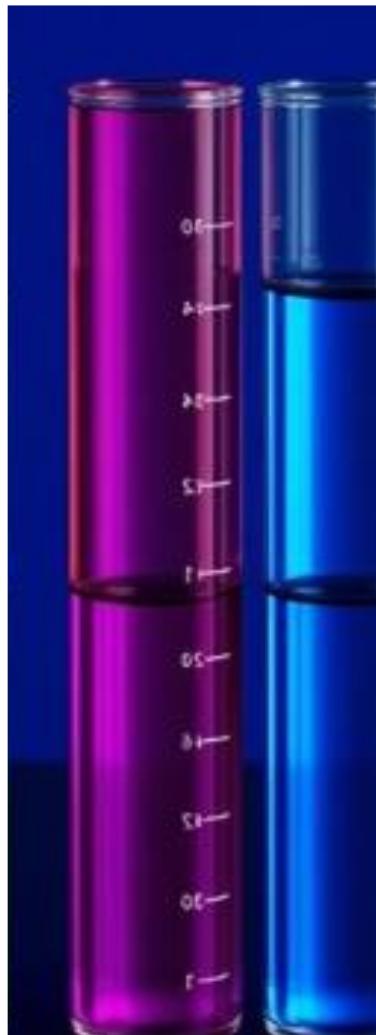
Vantagens da Reação Direta:

Rápida: Elimina etapas intermediárias, como lavagem e adição de substratos.

- **Prática:** Ideal para dispositivos portáteis ou testes de campo.
- **Custo reduzido:** Menor complexidade técnica e operacional.

Limitações:

1. **Menor sensibilidade:** Comparada a métodos enzimáticos, como *ELISA*.
2. **Dependência de alta especificidade:** Para evitar falsos positivos ou negativos.



CAPÍTULO II

SIMULAÇÃO APLICADA

Seção Interdisciplinar (Patologia-Oncologia)

Tópico: *Prevenção e Combate ao Câncer de Próstata*

Versão: *Estudantes/Participantes*

Autores: *Helena Carla Castro
Nayra Cordeiro da Conceição,
Thaís Dias,
Nathalia da Rosa Coelho Martins.
Leonardo Miceli
Aldo Rodrigues*

| | | |
|--------------------------------|--|--|
| Logo da sua Instituição | Nome de sua Instituição Projeto Ser Humano: Kit de Simulação Aplicada (KitSA-LABiEMol) Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular Universidade Federal Fluminense/Instituto de Biologia | |
|--------------------------------|--|--|

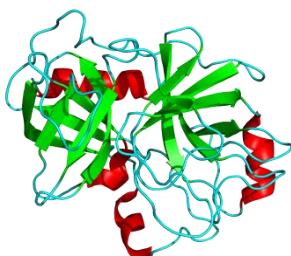
Seção Interdisciplinar (Patologia/Oncologia)

Versão: Monitores e Professores

TÓPICO: A PREVENÇÃO E O COMBATE AO CÂNCER DE PRÓSTATA

1. Introdução

O câncer de próstata é um dos tipos mais comuns de câncer entre os homens, especialmente aqueles com mais de 50 anos de idade. A detecção precoce é essencial para o tratamento bem-sucedido, e o Antígeno Prostático Específico (PSA) é uma ferramenta importante nesse processo. O PSA é uma proteína produzida principalmente pelas células da próstata e é encontrada em pequenas quantidades no sangue de homens saudáveis. No entanto, níveis elevados de PSA podem indicar alterações na próstata, incluindo infecções, hiperplasia benigna ou câncer.



Antígeno Prostático Específico (PSA)

Medir os níveis de PSA no sangue é um exame simples, mas altamente relevante. Geralmente, níveis abaixo de 4 ng/mL são considerados normais, embora essa referência varie de acordo com a idade, histórico familiar e outros fatores. Resultados entre 4 e 10 ng/mL podem indicar a necessidade de exames adicionais, como toque retal e biópsia. Valores acima de 10 ng/mL aumentam a probabilidade de malignidade.

É importante notar que o PSA não é exclusivo para detecção de câncer; outros fatores, como prostatite ou aumento benigno da próstata, também podem elevar seus níveis. Além disso, procedimentos recentes, como

colocação de cateter ou ejaculação, podem influenciar temporariamente os resultados, destacando a importância de uma avaliação clínica detalhada.

Apesar de suas limitações, o PSA desempenha um papel fundamental na triagem e monitoramento do câncer de próstata. Ele ajuda a identificar casos em estágios iniciais e a monitorar pacientes em tratamento, sendo útil na avaliação da resposta terapêutica e possíveis recorrências tumorais. A combinação do PSA com outros métodos diagnósticos melhora a precisão, permitindo intervenções mais eficazes e personalizadas

Monitoramento regular do PSA, juntamente com consultas periódicas a um especialista, é crucial para homens pertencentes a grupos de risco, como aqueles com histórico familiar de câncer de próstata ou descendência africana, devido à maior predisposição genética.

Os principais fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de próstata incluem: idade (aumento significativo na incidência e mortalidade em homens acima de 60 anos), histórico familiar, (especialmente em parentes de primeiro grau diagnosticados antes dos 60 anos), e aspectos relacionados ao estilo de vida (por exemplo, obesidade e dieta inadequada).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), algumas medidas podem reduzir o impacto desses fatores de risco. Entre elas estão a adoção de uma dieta equilibrada, a prática regular de exercícios físicos, a manutenção de um peso saudável, a redução do consumo de álcool e o combate ao tabagismo e ao comportamento sedentário.

Nesta prática, cada grupo de estudantes avaliará diferentes hipóteses relacionadas ao diagnóstico dos pacientes analisados. Por meio da detecção da presença de PSA no soro, utilizando um reagente que contém anticorpos contra PSA, serão realizados dois testes de controle:

- um teste de controle negativo (Paciente 1 Normal), no qual o soro não provoca nenhuma alteração no reagente usado; e
- um teste de controle positivo (Paciente 2 com Câncer de Próstata), no qual a presença de uma alteração na cor é garantida.

Um aspecto único deste trabalho é a substituição de material biológico por simuladores aplicados. A substituição desses materiais biológicos será feita utilizando vinagre de maçã para preparar as “amostras dos voluntários”. O indicador de pH que simulará o reagente formado por anticorpos contra o PSA será a solução de repolho roxo, que é de fácil acesso, simples de preparar, de baixo custo e baixo risco.

2. Objetivos

Nosso objetivo é analisar as amostras de soro sanguíneo de pacientes em busca da produção de PSA para o diagnóstico de câncer de próstata.

3. Reagents

- 5 seringas/pipetas de 5 ml ou pipetas de plástico tipo Pasteur.
- 5 microplacas recicladas de cultura celular de 6 poços ou 14 tubos de vidro.
- Reagente com anticorpos marcados com molécula cromogênica.

-Soros de pacientes.

4. Preparação dos Reagentes

• Amostras dos Pacientes

- Rotule os tubos/placas correspondendo aos soros dos pacientes.

Paciente 1 (Normal): Controle Negativo

Paciente 2 (Câncer de Próstata): Controle Positivo

Paciente 3 (Idoso → > 60 anos): Desconhecido

Paciente 4 (Adulto → 29-59 anos): Desconhecido

Paciente 5 (*Jovem → A-J: 15-17 anos, J-J: 18-24 anos, J-Ad: 25-29 anos): Desconhecido

*A = Adolescente, J = Jovem, Ad = Adulto

5. Procedimentos

- Coloque 0,5 ml de cada amostra de paciente em cada poço da placa, respectivamente.
- Transfira 1 ml do indicador/reagente.
- Misture e observe a mudança de cor do líquido.

| RESULTADOS | |
|-----------------------|----------|
| Cor inalterada (roxa) | Negativo |
| Cor rosa ou vermelha | Positivo |

No primeiro paciente: _____

No segundo paciente: _____

No terceiro paciente: _____

No quarto paciente: _____

No quinto paciente: _____

6. Perguntas de Discussão

6.1. Comente (brevemente) os resultados em relação aos pacientes analisados.

6.2. Defina e compare os dados encontrados analisando a idade dos pacientes.

6.3. Que tipo de teste foi realizado: direto ou indireto? Justifique.

Reação Colorimétrica

INTRODUÇÃO

As reações colorimétricas oferecem alta sensibilidade e especificidade, tornando-se ferramentas valiosas para diagnósticos rápidos e confiáveis em vários contextos de saúde. Este princípio é amplamente utilizado para diagnósticos clínicos, como:

- HIV:** Detecção de anticorpos contra o vírus.
- COVID-19:** Identificação de anticorpos ou抗ígenos do SARS-CoV-2.
- Doenças autoimunes:** Avaliação de autoanticorpos.

Uma reação colorimétrica em um teste diagnóstico envolvendo antígeno e anticorpo pode ocorrer de forma indireta ou direta:

A. Reação Colorimétrica Indireta

Imunoensaios como *ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)* identificam a interação específica entre um antígeno (uma molécula de um patógeno ou marcador de doença) e um anticorpo ligado a uma enzima. Eles geram uma mudança de cor que indica a presença do antígeno no anticorpo na amostra, seguindo estas etapas:

- **Preparação da Placa:** Um antígeno ou anticorpo específico é fixado na superfície de uma microplaca. A amostra biológica (como sangue ou soro) é adicionada, permitindo que o antígeno se ligue ao anticorpo correspondente, caso ambos estejam presentes.
- **Adição do Conjugado de Enzima:** Um anticorpo secundário ligado a uma enzima, como *peroxidase de râbano (HRP)* ou *fosfatase alcalina*, é adicionado. Este anticorpo se liga ao complexo formado entre o antígeno e o anticorpo primário.
- **Substrato Cromogênico:** Após a lavagem para remover componentes não ligados, um substrato específico para a enzima é adicionado. Quando a enzima interage com o substrato, ocorre uma reação química, resultando na formação de um produto colorido.
- **Exemplo de Substrato Cromogênico:** Para a *HRP*, o substrato cromogênico mais usado é o *TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina)*. Na presença de peróxido de hidrogênio, a *HRP* catalisa a oxidação do *TMB*, resultando em uma cor azul que pode ser transformada em amarelo pela adição de ácido sulfúrico.
- **Detecção de Cor:** A intensidade da cor gerada é proporcional à quantidade de antígeno presente na amostra e pode ser medida por um espectrofotômetro ou visualmente, dependendo do teste.

B. Reação Colorimétrica Direta

Existem reações colorimétricas diretas onde a ligação entre um anticorpo e um antígeno resulta em uma mudança de cor. Esses métodos geralmente utilizam anticorpos conjugados a moléculas cromogênicas que mudam de cor ao se ligarem ao antígeno-alvo. Um

exemplo clássico é o uso de anticorpos ligados a partículas de ouro coloidal, que geram uma mudança de cor visível sem a necessidade de etapas adicionais com substratos ou enzimas. Essas metodologias são úteis em diagnósticos rápidos, especialmente em cenários de triagem e emergências médicas.

Exemplos de Reações Colorimétricas Diretas:

estes Rápidos Baseados em Partículas de Ouro Coloidal:

- Amplamente utilizados em testes diagnósticos rápidos, como testes de gravidez ou testes de COVID-19.
- O anticorpo é conjugado a nanopartículas de ouro que exibem coloração vermelha intensa. Quando o anticorpo encontra o antígeno correspondente, as partículas de ouro se acumulam, formando uma linha colorida visível.

Uso de Fluoróforos ou Cromóforos Acoplados a Anticorpos:

Alguns anticorpos podem ser diretamente conjugados a compostos cromogênicos que mudam de cor em resposta a alterações conformacionais durante a ligação ao antígeno.

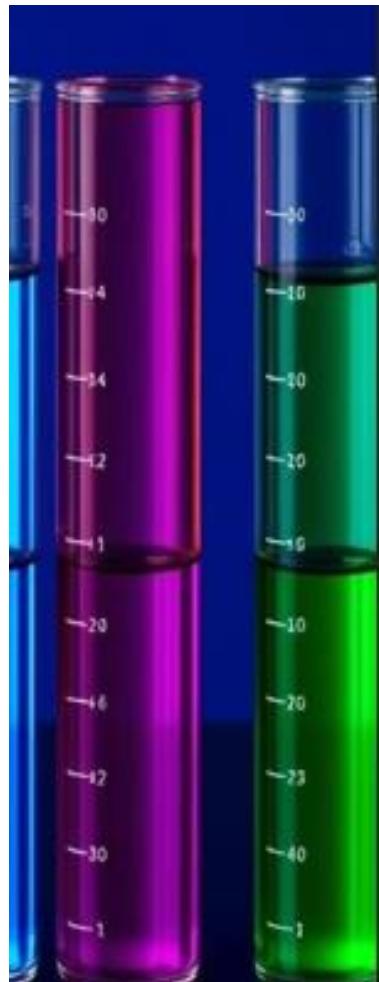
Vantagens da Reação Direta:

Rápida: Elimina etapas intermediárias, como lavagem e adição de substratos.

- **Prática:** Ideal para dispositivos portáteis ou testes de campo.
- **Custo reduzido:** Menor complexidade técnica e operacional.

Limitações:

1. **Menor sensibilidade:** Comparada a métodos enzimáticos, como *ELISA*.
2. **Dependência de alta especificidade:** Para evitar falsos positivos ou negativos.



CAPÍTULO III

SIMULAÇÃO APLICADA

Seção Interdisciplinar (Patologia/Imunologia)

Tópico: Identificando Alergias para Melhor Qualidade de Vida

Versão: Monitores e Professores

Autores: Helena Carla Castro,
Marcelo Rodrigues,
Amanda Santos Antunes,
Leonardo Miceli
Aldo Rodrigues.

| | | |
|--------------------------------|--|--|
| Logo da sua Instituição | Nome de sua Instituição <hr/> Projeto Ser Humano: Kit de Simulação Aplicada (KitSA-LABiEMol) Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular Universidade Federal Fluminense/Instituto de Biologia | |
|--------------------------------|--|--|

Seção Interdisciplinar (Patologia/Imunologia)

Versão: Monitores e Professores

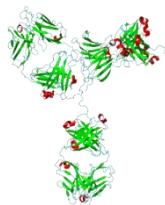
TÓPICO: IDENTIFICANDO ALERGIAS PARA MELHOR QUALIDADE DE VIDA

1. Introdução

A alergia é uma resposta imune exagerada a moléculas chamadas alérgenos. Diagnosticar alergias é crucial para o tratamento e controle de reações alérgicas e frequentemente envolve testes laboratoriais que avaliam a presença de anticorpos específicos.

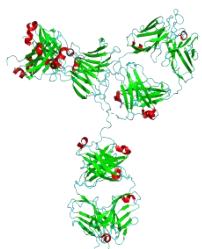
Os anticorpos mais relevantes no processo alérgico incluem:

IgE: associado a reações alérgicas imediatas, como aquelas desencadeadas por pólen, ácaros ou alimentos.



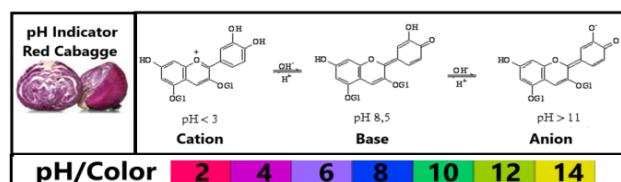
Imunoglobulina E (IgE)

IgG: envolvidos e utilizados em estudos para reações retardadas ou avaliação de sensibilização prolongada.



Imunoglobulina G (IgG)

Este Kit de Simulação para Diagnóstico de Alergia (KitSA) simula a dinâmica das respostas imunológicas utilizando reagentes substitutos que reproduzem alterações em um ambiente controlado. Essa abordagem é não apenas econômica, mas também sustentável e educacional, empregando indicadores de pH naturais, como o extrato de repolho roxo.



As antocianinas presentes no repolho roxo são pigmentos naturais que mudam de cor conforme o pH, tornando-os úteis para simular alterações químicas relacionadas ao diagnóstico de alergias. Essas moléculas também possuem propriedades antioxidantes, o que reforça seu papel na proteção das plantas contra os estresses ambientais.

2. Objetivo

Nosso objetivo é simular o diagnóstico de alergias analisando amostras simuladas, reproduzindo reações químicas que imitam respostas alérgicas, como a liberação de mediadores inflamatórios.

3. Reagentes e Materiais

- 10 seringas de 5 mL ou pipetas Pasteur descartáveis.
- 6 placas de poços recicladas ou 10 tubos de vidro.
- 1 repolho roxo.
- 1 liquidificador e peneira.
- Água, vinagre, refrigerante de limão, leite de magnésia e bicarbonato de sódio.
- Etiquetas para identificação dos materiais.

4. Preparo dos Reagentes

Indicador de pH

1. Pique 500 g de repolho roxo e adicione 1 L de água.
2. Cozinhe por 15 minutos.
3. Bata a mistura no liquidificador e coe utilizando uma peneira fina.
4. Armazene em um frasco limpo, mantendo sob refrigeração.
5. Utilize 2 mL da solução em cada poço ou tubo para os testes.

Amostras dos Pacientes

Cada paciente simulado representará uma condição específica de resposta alérgica:

| Paciente | Normal (Controle) | Alterado (Resposta Alérgica) |
|------------|---------------------------------------|---|
| Paciente 1 | Água (5 mL) | Vinagre (5 mL) |
| Paciente 2 | Água (5 mL), Bicarbonato (5 mL) | Refrigerante (5 mL), Leite de Magnésia (5 mL) |
| Paciente 3 | Água (5 mL), Leite de Magnésia (5 mL) | Leite de Magnésia (5 mL), Refrigerante (5 mL) |
| Paciente 4 | Refrigerante (5 mL) | Vinagre (5 mL) |

5. Procedimento Experimental

1. Identifique os poços ou tubos com as condições correspondentes a cada paciente.
2. Adicione 5 mL da amostra preparada em cada recipiente.
3. Acrescente 2 mL do indicador de pH em cada poço ou tubo.
4. Misture suavemente.

5. Observe e registre as mudanças de coloração, utilizando a tabela a seguir:

| Cor Observada | Condição de pH | Interpretação |
|------------------|----------------|-------------------------------|
| Roxo | Neutro | Resposta normal |
| Verde-azulado | Básico | Possível reação alérgica leve |
| Rosa ou vermelho | Ácido | Reação alérgica intensa |

6. Resultados e Discussão

- Paciente 1: _____
- Paciente 2: _____
- Paciente 3: _____
- Paciente 4: _____

Questões para Reflexão

1. Compare os resultados obtidos para os diferentes pacientes.
2. Relacione as condições simuladas com a produção de anticorpos ou necessidade de reforço diagnóstico.
3. Analise a eficácia dos diferentes “tratamentos” representados pelos reagentes utilizados.

7. Conclusão

Este experimento permite compreender as bases do diagnóstico de alergias de maneira prática e interativa. O uso de reagentes naturais, como o extrato de repolho roxo, oferece uma alternativa acessível e eficaz para simulações educacionais de processos imunológicos.

Reação Colorimétrica

INTRODUÇÃO

As reações colorimétricas oferecem alta sensibilidade e especificidade, tornando-se ferramentas valiosas para diagnósticos rápidos e confiáveis em vários contextos de saúde. Este princípio é amplamente utilizado para diagnósticos clínicos, como:

- HIV:** Detecção de anticorpos contra o vírus.
- COVID-19:** Identificação de anticorpos ou抗ígenos do SARS-CoV-2.
- Doenças autoimunes:** Avaliação de autoanticorpos.

Uma reação colorimétrica em um teste diagnóstico envolvendo抗ígeno e anticorpo pode ocorrer de forma indireta ou direta:

A. Reação Colorimétrica Indireta

Imunoensaios como *ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)* identificam a interação específica entre um抗ígeno (uma molécula de um patógeno ou marcador de doença) e um anticorpo ligado a uma enzima. Eles geram uma mudança de cor que indica a presença do抗ígeno no anticorpo na amostra, seguindo estas etapas:

- **Preparação da Placa:** Um抗ígeno ou anticorpo específico é fixado na superfície de uma microplaca. A amostra biológica (como sangue ou soro) é adicionada, permitindo que o抗ígeno se ligue ao anticorpo correspondente, caso ambos estejam presentes.
- **Adição do Conjugado de Enzima:** Um anticorpo secundário ligado a uma enzima, como *peroxidase de râbano (HRP)* ou *fosfatase alcalina*, é adicionado. Este anticorpo se liga ao complexo formado entre o抗ígeno e o anticorpo primário.
- **Substrato Cromogênico:** Após a lavagem para remover componentes não ligados, um substrato específico para a enzima é adicionado. Quando a enzima interage com o substrato, ocorre uma reação química, resultando na formação de um produto colorido.
- **Exemplo de Substrato Cromogênico:** Para a HRP, o substrato cromogênico mais usado é o *TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina)*. Na presença de peróxido de hidrogênio, a HRP catalisa a oxidação do TMB, resultando em uma cor azul que pode ser transformada em amarelo pela adição de ácido sulfúrico.
- **Detecção de Cor:** A intensidade da cor gerada é proporcional à quantidade de抗ígeno presente na amostra e pode ser medida por um espectrofotômetro ou visualmente, dependendo do teste.

B. Reação Colorimétrica Direta

Existem reações colorimétricas diretas onde a ligação entre um anticorpo e um抗ígeno resulta em uma mudança de cor. Esses métodos geralmente utilizam anticorpos conjugados a moléculas cromogênicas que

mudam de cor ao se ligarem ao抗ígeno-alvo. Um exemplo clássico é o uso de anticorpos ligados a partículas de ouro coloidal, que geram uma mudança de cor visível sem a necessidade de etapas adicionais com substratos ou enzimas. Essas metodologias são úteis em diagnósticos rápidos, especialmente em cenários de triagem e emergências médicas.

Exemplos de Reações Colorimétricas Diretas:

estes Rápidos Baseados em Partículas de Ouro Coloidal:

- Amplamente utilizados em testes diagnósticos rápidos, como testes de gravidez ou testes de COVID-19.
- O anticorpo é conjugado a nanopartículas de ouro que exibem coloração vermelha intensa. Quando o anticorpo encontra o抗ígeno correspondente, as partículas de ouro se acumulam, formando uma linha colorida visível.

Uso de Fluoróforos ou Cromóforos Acoplados a Anticorpos:

Alguns anticorpos podem ser diretamente conjugados a compostos cromogênicos que mudam de cor em resposta a alterações conformacionais durante a ligação ao抗ígeno.

Vantagens da Reação Direta:

Rápida: Elimina etapas intermediárias, como lavagem e adição de substratos.

- **Prática:** Ideal para dispositivos portáteis ou testes de campo.
- **Custo reduzido:** Menor complexidade técnica e operacional.

Limitações:

1. **Menor sensibilidade:** Comparada a métodos enzimáticos, como ELISA.
2. **Dependência de alta especificidade:** Para evitar falsos positivos ou negativos.



CAPÍTULO III

SIMULAÇÃO APLICADA

Seção Interdisciplinar (Patologia/Imunologia)

Tópico: Identificando Alergias para Melhor Qualidade de Vida

Versão: *Estudantes/Participantes*

Autores: *Helena Carla Castro,
Marcelo Rodrigues,
Amanda Santos Antunes,
Leonardo Miceli
Aldo Rodrigues.*

| Logo da sua Instituição | Nome de sua Instituição Projeto Ser Humano: Kit de Simulação Aplicada (KitSA-LABiEMol) Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular Universidade Federal Fluminense/Instituto de Biologia | |
|-------------------------|---|--|
|-------------------------|---|--|

Seção Interdisciplinar (Patologia/Imunologia)

Versão: Monitores e Professores

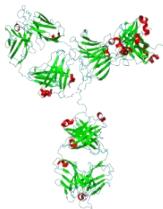
TÓPICO: IDENTIFICANDO ALERGIAS PARA MELHOR QUALIDADE DE VIDA

1. Introdução

A alergia é uma resposta imune exagerada a moléculas chamadas alérgenos. Diagnosticar alergias é crucial para o tratamento e controle de reações alérgicas e frequentemente envolve testes laboratoriais que avaliam a presença de anticorpos específicos.

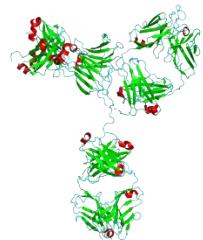
Os anticorpos mais relevantes no processo alérgico incluem:

- IgE: associado a reações alérgicas imediatas, como aquelas desencadeadas por pólen, ácaros ou alimentos.



Imunoglobulina E (IgE)

- IgG: envolvidos e utilizados em estudos para reações retardadas ou avaliação de sensibilização prolongada.



Imunoglobulina E (IgE)

2. Objetivo

Nosso propósito é auxiliar no diagnóstico de alergias, analisando amostras de pacientes e identificando respostas alérgicas, como a liberação de mediadores inflamatórios.

3 Reagentes e Materiais

- 10 seringas de 5 mL ou pipetas Pasteur descartáveis.
- 6 placas de poço recicladas ou 10 tubos de vidro.
- Reagente para alergia.
- Amostras de pacientes e controles (Negativo e positivo).

4. Preparação dos Reagentes

Indicador de pH

a) Pronto para uso, adicionar 2 mL da solução em cada poço ou tubo para os testes.

Amostras de Pacientes

Cada paciente possui uma condição específica de resposta alérgica:

Controle Negativo (Normal): 0,5 mL

Controle Positivo para possível reação alérgica leve: 5 mL

Controle Positivo para reação alérgica intensa 1: 0,5 mL

Paciente 1: Desconhecido: 0,5 mL

Paciente 2: Desconhecido: 0,5 mL

Paciente 3: Desconhecido: 0,5 mL

Paciente 4: Desconhecido: 0,5 mL

5. Procedimento Experimental

- a) Identifique os poços ou tubos com as condições correspondentes a cada paciente.
- b) Adicione 0,5 mL da amostra preparada do paciente em cada recipiente.
- c) Adicione 2 mL do indicador de pH a cada poço ou tubo.
- d) Misture suavemente.
- e) Observe e registre as mudanças de cor usando a tabela a seguir.

| Cor observada | Condição de pH | Interpretação |
|-----------------|----------------|-------------------------------|
| Roxo | Neutro | Resposta normal |
| Azul-esverdeado | Básico | Possível reação alérgica leve |
| Pink or red | Ácido | Reação alérgica intensa |

6. Resultados e Discussão

- Paciente 1: _____
- Paciente 2: _____
- Paciente 3: _____
- Paciente 4: _____

Questões para Reflexão

5. Compare os resultados obtidos para os diferentes pacientes.
6. Relacione as condições simuladas com a produção de anticorpos ou necessidade de reforço diagnóstico. Analise a eficácia dos diferentes “tratamentos” representados pelos reagentes utilizados.

Reação Colorimétrica

INTRODUÇÃO

As reações colorimétricas oferecem alta sensibilidade e especificidade, tornando-se ferramentas valiosas para diagnósticos rápidos e confiáveis em vários contextos de saúde. Este princípio é amplamente utilizado para diagnósticos clínicos, como:

- HIV:** Detecção de anticorpos contra o vírus.
- COVID-19:** Identificação de anticorpos ou antígenos do SARS-CoV-2.
- Doenças autoimunes:** Avaliação de autoanticorpos.

Uma reação colorimétrica em um teste diagnóstico envolvendo antígeno e anticorpo pode ocorrer de forma indireta ou direta:

A. Reação Colorimétrica Indireta

Imunoensaios como *ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)* identificam a interação específica entre um antígeno (uma molécula de um patógeno ou marcador de doença) e um anticorpo ligado a uma enzima. Eles geram uma mudança de cor que indica a presença do antígeno no anticorpo na amostra, seguindo estas etapas:

- **Preparação da Placa:** Um antígeno ou anticorpo específico é fixado na superfície de uma microplaca. A amostra biológica (como sangue ou soro) é adicionada, permitindo que o antígeno se ligue ao anticorpo correspondente, caso ambos estejam presentes.
- **Adição do Conjugado de Enzima:** Um anticorpo secundário ligado a uma enzima, como *peroxidase de rábano (HRP)* ou *fosfatase alcalina*, é adicionado. Este anticorpo se liga ao complexo formado entre o antígeno e o anticorpo primário.
- **Substrato Cromogênico:** Após a lavagem para remover componentes não ligados, um substrato específico para a enzima é adicionado. Quando a enzima interage com o substrato, ocorre uma reação química, resultando na formação de um produto colorido.
- **Exemplo de Substrato Cromogênico:** Para a HRP, o substrato cromogênico mais usado é o *TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina)*. Na presença de peróxido de hidrogênio, a HRP catalisa a oxidação do TMB, resultando em uma cor azul que pode ser transformada em amarelo pela adição de ácido sulfúrico.
- **Detecção de Cor:** A intensidade da cor gerada é proporcional à quantidade de antígeno presente na amostra e pode ser medida por um espectrofotômetro ou visualmente, dependendo do teste.

B. Reação Colorimétrica Direta

Existem reações colorimétricas diretas onde a ligação entre um anticorpo e um antígeno resulta em uma mudança de cor. Esses métodos geralmente utilizam anticorpos conjugados a moléculas cromogênicas que mudam de cor ao se ligarem ao antígeno-alvo. Um exemplo clássico é o uso de anticorpos ligados a

partículas de ouro coloidal, que geram uma mudança de cor visível sem a necessidade de etapas adicionais com substratos ou enzimas. Essas metodologias são úteis em diagnósticos rápidos, especialmente em cenários de triagem e emergências médicas.

Exemplos de Reações Colorimétricas Diretas:

estes Rápidos Baseados em Partículas de Ouro Coloidal:

- Amplamente utilizados em testes diagnósticos rápidos, como testes de gravidez ou testes de COVID-19.
- O anticorpo é conjugado a nanopartículas de ouro que exibem coloração vermelha intensa. Quando o anticorpo encontra o antígeno correspondente, as partículas de ouro se acumulam, formando uma linha colorida visível.

Uso de Fluoróforos ou Cromóforos Acoplados a Anticorpos:

Alguns anticorpos podem ser diretamente conjugados a compostos cromogênicos que mudam de cor em resposta a alterações conformacionais durante a ligação ao antígeno.

Vantagens da Reação Direta:

Rápida: Elimina etapas intermediárias, como lavagem e adição de substratos.

- **Prática:** Ideal para dispositivos portáteis ou testes de campo.
- **Custo reduzido:** Menor complexidade técnica e operacional.

Limitações:

1. **Menor sensibilidade:** Comparada a métodos enzimáticos, como ELISA.
2. **Dependência de alta especificidade:** Para evitar falsos positivos ou negativos.



CAPÍTULO IV

SIMULAÇÃO APLICADA

Seção Interdisciplinar (Patologia/Bioquímica)

Tema: pH e sua Importância Médica

Versão: *Monitores e Professores*

Autores: *Mansur Dewu Muhammad,
Isabela Marinho Américo,
Luis Eduardo Cople Maia de Faria,
Helena Carla Castro.*

| | |
|---------------------------------|---|
| Logo of your Institution | Name of Institution <hr/> Human Project: Applied Simulation Laboratory of Antibiotics, Biochemistry, Teaching, and Molecular Modeling Fluminense Federal University, Institute of Biology, Brazil |
|---------------------------------|---|

Seção Interdisciplinar (Patologia/Bioquímica)

Versão: Monitores e Professores

TEMA: pH E SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA

1. Introdução

The knowledge about pH is of great importance for the human body. Since the maintenance of the homeostasis due to its role is fundamental for the human and animal metabolism. Changes in pH can cause different problems including immune system depression, making the individual more susceptible to viral, bacterial, and fungal infections.

Muitas alterações fisiopatológicas podem ocorrer como consequência de alterações no pH, as quais podem ser utilizadas para auxiliar no diagnóstico de diferentes doenças.

- a. Em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 não tratado, haverá um acúmulo de corpos cetônicos (cetoacidose), que consequentemente gerará acidose metabólica. Isso pode ser observado no pH sanguíneo, considerando o valor normal de 7,4.
- b. Outra doença em que a acidose metabólica é observada é a insuficiência renal. Ela é causada pela redução da excreção de ácidos e pela diminuição da reabsorção de HCO_3^- . Nestes pacientes, pode-se observar acidose metabólica (pH de 7,1) no sangue, enquanto a urina é básica devido à grande eliminação de HCO_3^- .
- c. Um paciente com hiperaldosteronismo primário, incluindo hiperplasia adrenal congênita, experimentará perda renal de ácido. A superprodução de aldosterona

favorecerá a reabsorção de sódio e a eliminação de potássio na urina, comprometendo a bomba de sódio-potássio ATPase. Isso inibe a reabsorção de bicarbonato no túbulo contorcido proximal. O bicarbonato no lúmen tubular receberá um próton e será eliminado na forma de ácido carbônico. A eliminação significativa de ácido resultará em alcalose metabólica.

d. A flora vaginal normal em mulheres em idade reprodutiva geralmente consiste em *Lactobacillus* sp. Essa colonização mantém o pH vaginal dentro de faixas normais, prevenindo, assim, o crescimento excessivo de bactérias e fungos patogênicos. Alguns fatores que podem favorecer o estabelecimento de um processo patogênico, como infecção vaginal causada por *Candida*, incluem o uso de antibióticos, pH vaginal alcalino, higiene inadequada e diabetes mellitus. Essa infecção provoca uma diminuição do pH para valores abaixo de 4,5.

e. Em um paciente com pancreatite aguda causada por uma obstrução devido a um cálculo biliar, não haverá liberação de suco pancreático. Consequentemente, não haverá aumento no pH, enquanto um pH ácido pode ser detectado no duodeno. O pâncreas exócrino, estimulado pela colecistocinina (CCK), produzirá e secretará enzimas digestivas e bicarbonato.

Devido à grande quantidade de bicarbonato, o pH da secreção pancreática é em torno de 8, permitindo a neutralização do ácido estomacal (HCl). Esta secreção é eliminada através do ducto pancreático, que é aberto devido à estimulação pela secretina.

- f. As células cancerígenas possuem um metabolismo diferente das células saudáveis. Devido ao seu crescimento acelerado, elas apresentam uma alta taxa de glicólise seguida por fermentação láctica no citosol. Em células saudáveis, a glicólise seria seguida pela oxidação do piruvato nas mitocôndrias. Este efeito em células malignas é chamado de Efeito Warburg.

É importante observar que a célula escolhe a via de fermentação mesmo na presença de oxigênio. Essa via é extremamente importante para a necessidade de crescimento acelerado. Na fermentação, é possível produzir NAD+, que será restaurado e utilizado novamente na glicólise. O produto final da fermentação é o ácido láctico, assim, na área do tumor, pode-se observar uma diminuição no pH.

Nesta prática, cada grupo de estudantes avaliará diferentes hipóteses que levarão ao diagnóstico de diferentes pacientes por meio das diferenças de pH encontradas. Portanto, é importante realizar um teste de controle (Normal) que não altere o indicador de pH para observar a mudança de cor, bem como controles positivos (pacientes afetados) para identificar quais cores são características deste ensaio.

2. Objetivo

Nosso objetivo é analisar amostras de pacientes (urina e células) para variação de pH.

3. Reagentes

- 5 seringas de 5 ml ou pipetas Pasteur plásticas.
- 5 Microplacas de cultura de célula de 6 poços reciclada ou 14 tubos de vidro.
- 1 Repolho roxo.
- 1 Liquidificador.
- 1 Peneira.
- Água, vinagre, refrigerante de limão, leite de magnésia e bicarbonato de sódio.



4. Preparo dos Reagentes

♦ Identificador de pH:

Pesar 500g de repolho roxo picado e com 1L de água, cozinhar por 15 minutos. Posteriormente bater no liquidificador e coar na peneira, guardando no congelador. Usar 2 ml do indicador em cada poço da microplaca de cultura de célula reciclada ou tubo de vidro.

♦ Amostras dos Pacientes

Paciente 1: Câncer

Controle negativo: Água (5 ml)
Controle positivo: Vinagre de maçã (5 ml)
Paciente desconhecido: Vinagre de maçã (5 ml)

Paciente 2: Insuficiência Renal

Controle Negativo: Água (5 ml)
Controle Positivo: Solução de bicarbonato (5 ml)
Paciente Desconhecido: Refrigerante de limão (5 ml)

Paciente 3: Hiperaldosteronismo Primário

Controle Negativo: Água (5 ml)
Controle Positivo: Leite de Magnésia (5 ml)
Paciente Desconhecido: Refrigerante de limão (5 ml)

Paciente 4: Infecção vaginal

Controle negativo: Refrigerante de Limão (5ml)
 Controle positivo: Vinagre de Maçã (5ml)
 Amostra desconhecida: Refrigerante de Limão

Paciente 5: Pancreatite aguda

Controle negativo: Bicarbonato (5ml)
 Controle positivo: Vinagre de Maçã (5ml)
 Amostra desconhecida: Vinagre de Maçã (5ml)

6.2. Defina e diferencie (metabolicamente) as doenças abordadas.

5. Procedimentos

- ♦ Colocar 5 ml de cada paciente em cada poço da placa respectivamente
- ♦ Transferir 1 mL de identificador;
- ♦ Misturar e observar a coloração do líquido.

No primeiro paciente: acidose metabólica =>
 pH sanguíneo ácido e pH urinário básico.

No segundo paciente: alcalose metabólica =>
 pH sanguíneo básico e pH urinário ácido.

No terceiro paciente: infecção vaginal por
 Candida => pH ácido na secreção vaginal.

No quarto paciente: pancreatite aguda => pH
 ácido na secreção intestinal.

No quinto paciente: tumor maligno => pH
 ácido em solução tecidual.

| RESULTADOS | |
|---------------------------|--------|
| Cor inalterada (roxo) | Neutro |
| Verde-azulado ou verde | Básico |
| Rosa ou Vermelho | Ácido |

6. Questões para Discussão

6.1. Comente (brevemente) sobre o resultado
 relacionando-o às doenças abordadas.

Reação Colorimétrica

INTRODUÇÃO

As reações colorimétricas oferecem alta sensibilidade e especificidade, tornando-se ferramentas valiosas para diagnósticos rápidos e confiáveis em vários contextos de saúde. Este princípio é amplamente utilizado para diagnósticos clínicos, como:

- HIV:** Detecção de anticorpos contra o vírus.
- COVID-19:** Identificação de anticorpos ou antígenos do SARS-CoV-2.
- Doenças autoimunes:** Avaliação de autoanticorpos.

Uma reação colorimétrica em um teste diagnóstico envolvendo antígeno e anticorpo pode ocorrer de forma indireta ou direta:

A. Reação Colorimétrica Indireta

Imunoensaios como **ELISA** (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) identificam a interação específica entre um antígeno (uma molécula de um patógeno ou marcador de doença) e um anticorpo ligado a uma enzima. Eles geram uma mudança de cor que indica a presença do antígeno no anticorpo na amostra, seguindo estas etapas:

- **Preparação da Placa:** Um antígeno ou anticorpo específico é fixado na superfície de uma microplaca. A amostra biológica (como sangue ou soro) é adicionada, permitindo que o antígeno se ligue ao anticorpo correspondente, caso ambos estejam presentes.
- **Adição do Conjugado de Enzima:** Um anticorpo secundário ligado a uma enzima, como *peroxidase de râbano* (HRP) ou *fosfatase alcalina*, é adicionado. Este anticorpo se liga ao complexo formado entre o antígeno e o anticorpo primário.
- **Substrato Cromogênico:** Após a lavagem para remover componentes não ligados, um substrato específico para a enzima é adicionado. Quando a enzima interage com o substrato, ocorre uma reação química, resultando na formação de um produto colorido.
- **Exemplo de Substrato Cromogênico:** Para a HRP, o substrato cromogênico mais usado é o *TMB* (*3,3',5,5'-tetrametilbenzidina*). Na presença de peróxido de hidrogênio, a HRP catalisa a oxidação do TMB, resultando em uma cor azul que pode ser transformada em amarelo pela adição de ácido sulfúrico.
- **Detecção de Cor:** A intensidade da cor gerada é proporcional à quantidade de antígeno presente na amostra e pode ser medida por um espectrofotômetro ou visualmente, dependendo do teste.

B. Reação Colorimétrica Direta

Existem reações colorimétricas diretas onde a ligação entre um anticorpo e um antígeno resulta em uma mudança de cor. Esses métodos geralmente utilizam anticorpos conjugados a moléculas cromogênicas que mudam de cor ao se ligarem ao antígeno-alvo. Um

exemplo clássico é o uso de anticorpos ligados a partículas de ouro coloidal, que geram uma mudança de cor visível sem a necessidade de etapas adicionais com substratos ou enzimas. Essas metodologias são úteis em diagnósticos rápidos, especialmente em cenários de triagem e emergências médicas.

Exemplos de Reações Colorimétricas Diretas:

estes Rápidos Baseados em Partículas de Ouro Coloidal:

- Amplamente utilizados em testes diagnósticos rápidos, como testes de gravidez ou testes de COVID-19.
- O anticorpo é conjugado a nanopartículas de ouro que exibem coloração vermelha intensa. Quando o anticorpo encontra o antígeno correspondente, as partículas de ouro se acumulam, formando uma linha colorida visível.

Uso de Fluoróforos ou Cromóforos Acoplados a Anticorpos:

Alguns anticorpos podem ser diretamente conjugados a compostos cromogênicos que mudam de cor em resposta a alterações conformacionais durante a ligação ao antígeno.

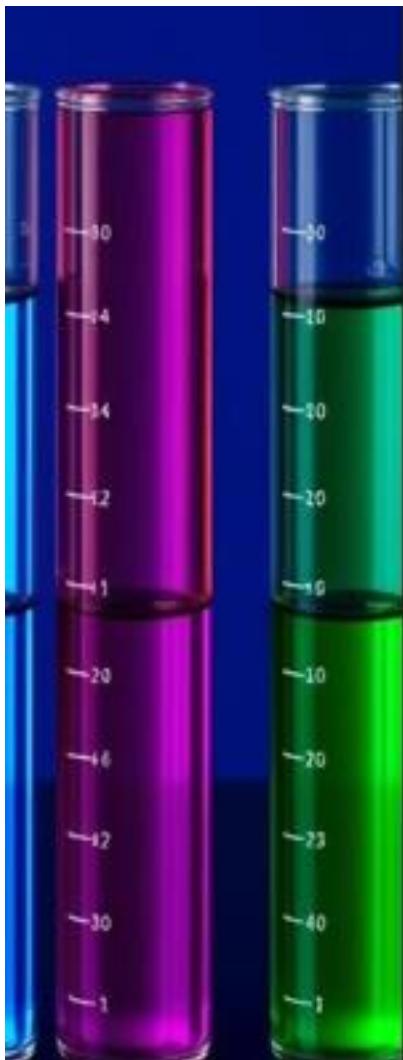
Vantagens da Reação Direta:

Rápida: Elimina etapas intermediárias, como lavagem e adição de substratos.

- **Prática:** Ideal para dispositivos portáteis ou testes de campo.
- **Custo reduzido:** Menor complexidade técnica e operacional.

Limitações:

1. **Menor sensibilidade:** Comparada a métodos enzimáticos, como ELISA.
2. **Dependência de alta especificidade:** Para evitar falsos positivos ou negativos.



CAPÍTULO IV

SIMULAÇÃO APLICADA

Seção Interdisciplinar (Patologia/Bioquímica)

Tema: pH e sua Importância Médica

Versão: *Estudantes/Participantes*

Autores: *Mansur Dewu Muhammad,
Isabela Marinho Américo,
Luis Eduardo Cople Maia de Faria,
Helena Carla Castro.*

| Logo da sua Instituição | Nome de sua Instituição | |
|-------------------------|--|--|
| | Projeto Ser Humano: Kit de Simulação Aplicada (KitSA-LABiEMol) Laboratório de Antibióticos, Bioquímica, Ensino e Modelagem Molecular Universidade Federal Fluminense/Instituto de Biologia | |

Seção Interdisciplinar (Patologia/Bioquímica)

Versão: Estudantes/Participantes

TEMA: pH E SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA

1. Introdução

The knowledge about pH is of great importance for the human body. Since the maintenance of the homeostasis due to its role is standards is fundamental for the human and animal metabolism. Changes in pH can cause different problems including immune system depression, making the individual more susceptible to viral, bacterial, and fungal infections.

Muitas alterações fisiopatológicas podem ocorrer como consequência de alterações no pH, as quais podem ser utilizadas para auxiliar no diagnóstico de diferentes doenças.

- a. Em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 não tratado, haverá um acúmulo de corpos cetônicos (cetoacidose), que consequentemente gerará acidose metabólica. Isso pode ser observado no pH sanguíneo, considerando o valor normal de 7,4.
- b. Outra doença em que a acidose metabólica é observada é a insuficiência renal. Ela é causada pela redução da excreção de ácidos e pela diminuição da reabsorção de HCO_3^- . Nestes pacientes, pode-se observar acidose metabólica (pH de 7,1) no sangue, enquanto a urina é básica devido à grande eliminação de HCO_3^- .
- c. Um paciente com hiperaldosteronismo primário, incluindo hiperplasia adrenal congênita, experimentará perda renal de ácido. A superprodução de aldosterona favorecerá a reabsorção de sódio e a eliminação de potássio na urina, comprometendo a bomba de sódio-potássio

ATPase. Isso inibe a reabsorção de bicarbonato no túbulo contorcido proximal. O bicarbonato no lúmen tubular receberá um próton e será eliminado na forma de ácido carbônico. A eliminação significativa de ácido resultará em alcalose metabólica.

- d. A flora vaginal normal em mulheres em idade reprodutiva geralmente consiste em *Lactobacillus* sp. Essa colonização mantém o pH vaginal dentro de faixas normais, prevenindo, assim, o crescimento excessivo de bactérias e fungos patogênicos. Alguns fatores que podem favorecer o estabelecimento de um processo patogênico, como infecção vaginal causada por *Candida*, incluem o uso de antibióticos, pH vaginal alcalino, higiene inadequada e diabetes mellitus. Essa infecção provoca uma diminuição do pH para valores abaixo de 4,5.
- e. Em um paciente com pancreatite aguda causada por uma obstrução devido a um cálculo biliar, não haverá liberação de suco pancreático. Consequentemente, não haverá aumento no pH, enquanto um pH ácido pode ser detectado no duodeno. O pâncreas exócrino, estimulado pela colecistocinina (CCK), produzirá e secretará enzimas digestivas e bicarbonato. Devido à grande quantidade de bicarbonato, o pH da secreção pancreática é em torno de 8, permitindo a neutralização do ácido estomacal (HCl). Esta secreção é eliminada através do ducto pancreático, que é aberto devido à estimulação pela secretina.

- f. As células cancerígenas possuem um metabolismo diferente das células saudáveis. Devido ao seu crescimento acelerado, elas apresentam uma alta taxa de glicólise seguida por fermentação láctica no citosol.

Em células saudáveis, a glicólise seria seguida pela oxidação do piruvato nas mitocôndrias. Este efeito em células malignas é chamado de Efeito Warburg.

É importante observar que a célula escolhe a via de fermentação mesmo na presença de oxigênio. Essa via é extremamente importante para a necessidade de crescimento acelerado. Na fermentação, é possível produzir NAD+, que será restaurado e utilizado novamente na glicólise. O produto final da fermentação é o ácido láctico, assim, na área do tumor, pode-se observar uma diminuição no pH.

Nesta prática, cada grupo de estudantes avaliará diferentes hipóteses que levarão ao diagnóstico de diferentes pacientes por meio das diferenças de pH encontradas. Portanto, é importante realizar um teste de controle (Normal) que não altere o indicador de pH para observar a mudança de cor, bem como controles positivos (pacientes afetados) para identificar quais cores são características deste ensaio.

2. Objetivo

Nosso objetivo é analisar amostras de pacientes (urina e células) para variação de pH.

3. Reagentes

- 5 seringas de 5 ml ou pipetas Pasteur de plástico
- 5 microplacas de cultura celular recicladas de 6 poços ou 14 tubos de vidro
- Indicador de pH
- Soro e urina de pacientes

4. Preparo dos Reagentes

- ♦ **Identificador de pH:** pronto para uso.

- ♦ **Amostras dos Pacientes**

- Rotular os Tubos/Placa referentes aos soros

Paciente 0 (Normal): Controle Negativo

Paciente 1 (Câncer de Próstata): Controle Positivo

Paciente 2 (Insuficiência Renal): Controle Positivo

Paciente 3 (Hiperaldosteronismo): Controle Positivo

Paciente 4 (Infecção Vaginal): Controle Positivo

Paciente 5 (Pancreatite Aguda): Controle Positivo

Paciente 6: Desconhecido

Paciente 7: Desconhecido

Paciente 8: Desconhecido

Paciente 9: Desconhecido

Paciente 10: Desconhecido

5. Procedimentos

- ♦ Transferir 2 mL de identificador;
- ♦ Colocar 0,5 ml de cada paciente em cada poço da placa respectivamente
- ♦ Misturar e observar a coloração do líquido.

| RESULTADOS | |
|------------------------|--------|
| Cor inalterada (roxo) | Neutro |
| Verde-azulado ou verde | Básico |
| Rosa ou Vermelho | Ácido |

Resultado do 6º paciente: _____

Resultado do 7º paciente: _____

Resultado do 8º paciente: _____

Resultado do 9º paciente: _____

Resultado do 10º paciente: _____

6. Questões para Discussão

6.1. Comente (brevemente) sobre os resultados relacionando-os às doenças abordadas.

6.2. Defina e diferencie (metabolicamente) as doenças abordadas.

Reação Colorimétrica

INTRODUÇÃO

As reações colorimétricas oferecem alta sensibilidade e especificidade, tornando-se ferramentas valiosas para diagnósticos rápidos e confiáveis em vários contextos de saúde. Este princípio é amplamente utilizado para diagnósticos clínicos, como:

- HIV:** Detecção de anticorpos contra o vírus.
- COVID-19:** Identificação de anticorpos ou antígenos do SARS-CoV-2.
- Doenças autoimunes:** Avaliação de autoanticorpos.

Uma reação colorimétrica em um teste diagnóstico envolvendo antígeno e anticorpo pode ocorrer de forma indireta ou direta:

A. Reação Colorimétrica Indireta

Imunoensaios como **ELISA** (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) identificam a interação específica entre um antígeno (uma molécula de um patógeno ou marcador de doença) e um anticorpo ligado a uma enzima. Eles geram uma mudança de cor que indica a presença do antígeno no anticorpo na amostra, seguindo estas etapas:

- **Preparação da Placa:** Um antígeno ou anticorpo específico é fixado na superfície de uma microplaca. A amostra biológica (como sangue ou soro) é adicionada, permitindo que o antígeno se ligue ao anticorpo correspondente, caso ambos estejam presentes.
- **Adição do Conjugado de Enzima:** Um anticorpo secundário ligado a uma enzima, como *peroxidase de râbano* (HRP) ou *fosfatase alcalina*, é adicionado. Este anticorpo se liga ao complexo formado entre o antígeno e o anticorpo primário.
- **Substrato Cromogênico:** Após a lavagem para remover componentes não ligados, um substrato específico para a enzima é adicionado. Quando a enzima interage com o substrato, ocorre uma reação química, resultando na formação de um produto colorido.
- **Exemplo de Substrato Cromogênico:** Para a HRP, o substrato cromogênico mais usado é o *TMB* (*3,3',5,5'-tetrametilbenzidina*). Na presença de peróxido de hidrogênio, a HRP catalisa a oxidação do TMB, resultando em uma cor azul que pode ser transformada em amarelo pela adição de ácido sulfúrico.
- **Detecção de Cor:** A intensidade da cor gerada é proporcional à quantidade de antígeno presente na amostra e pode ser medida por um espectrofotômetro ou visualmente, dependendo do teste.

B. Reação Colorimétrica Direta

Existem reações colorimétricas diretas onde a ligação entre um anticorpo e um antígeno resulta em uma mudança de cor. Esses métodos geralmente utilizam anticorpos conjugados a moléculas cromogênicas que mudam de cor ao se ligarem ao antígeno-alvo. Um

exemplo clássico é o uso de anticorpos ligados a partículas de ouro coloidal, que geram uma mudança de cor visível sem a necessidade de etapas adicionais com substratos ou enzimas. Essas metodologias são úteis em diagnósticos rápidos, especialmente em cenários de triagem e emergências médicas.

Exemplos de Reações Colorimétricas Diretas:

estes Rápidos Baseados em Partículas de Ouro Coloidal:

- Amplamente utilizados em testes diagnósticos rápidos, como testes de gravidez ou testes de COVID-19.
- O anticorpo é conjugado a nanopartículas de ouro que exibem coloração vermelha intensa. Quando o anticorpo encontra o antígeno correspondente, as partículas de ouro se acumulam, formando uma linha colorida visível.

Uso de Fluoróforos ou Cromóforos Acoplados a Anticorpos:

Alguns anticorpos podem ser diretamente conjugados a compostos cromogênicos que mudam de cor em resposta a alterações conformacionais durante a ligação ao antígeno.

Vantagens da Reação Direta:

Rápida: Elimina etapas intermediárias, como lavagem e adição de substratos.

- **Prática:** Ideal para dispositivos portáteis ou testes de campo.
- **Custo reduzido:** Menor complexidade técnica e operacional.

Limitações:

1. **Menor sensibilidade:** Comparada a métodos enzimáticos, como ELISA.
2. **Dependência de alta especificidade:** Para evitar falsos positivos ou negativos.

REFERÊNCIAS

- Biasio LR, Zanobini P, Lorini C, Monaci P, Fanfani A, Gallinoro V, Cerini G, Albora G, Del Riccio M, Pecorelli S, Bonaccorsi G. COVID-19 vaccine literacy: A scoping review. *Hum Vaccin Immunother.* 2023 Dec 31;19(1):2176083. doi: 10.1080/21645515.2023.2176083. Epub 2023
- Boyd H, Santos AF. Novel Diagnostics in Food Allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2024 Dec 20:S0091-6749(24)02403-5. doi: 10.1016/j.jaci.2024.12.1071.
- Cant, Rp, Cooper, Sj. Simulation-Based Learning In Nurse Education: Systematic Review. *J Adv Nurs,* 2010 - Wiley Online Library.
- Elendu C, Amaechi DC, Okatta AU, Amaechi EC, Elendu TC, Ezeh CP, Elendu ID. The impact of simulation-based training in medical education: A review. *Medicine (Baltimore).* 2024 Jul 5;103(27):e38813. doi: 10.1097/MD.0000000000038813.
- Guimarães, W, Alves, MI R Antoniosi Filho, N R. Anthocyanins in natural extracts: application in acid-base titration and identification by liquid chromatography/mass spectrometry. *Quím. Nova* 35 (8) • 2012 • <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000800030>
- Hoffman, Dr, Sicherer, Sh. Diagnostic Tests For Immediate Hypersensitivity In Allergy. *The Journal Of Allergy And Clinical Immunology,* 2012, 129(2), 330-341.
- Medley, Cf, Msn, Rn; Claydell, H. Using Simulation Technology For Undergraduate Nursing Education. *J. Nurs Ed;* Thorofare.44.1, 2005, 31-34.
- National Cancer Institute (Nci). (2023). Prostate Cancer Treatment (Pdq®): Patient Version. Bethesda, Md: National Institutes Of Health. In: <Https://Www.Cancer.Gov/Types/Prostate/Patient/Prostate-Treatment-Pdq>
- Nelson, D. L.; Cox, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 8^a. ed. P Artmed, 2020.
- Saragih ID, Suarilah I, Hsiao CT, Fann WC, Lee BO. Interdisciplinary simulation-based teaching and learning for healthcare professionals: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nurse Educ Pract.* 2024 Mar;76:103920. doi: 10.1016/j.nepr.2024.103920.
- Souza Ma, Monteiro Cn, Barros Crs. Qual A Relação De Hábitos De Vida e Fatores Socioeconômicos Com O Diagnóstico De Câncer De Próstata No Brasil? *Rev. Bras. Cancerol.* 4º De Junho De 2024 [Citado 4º De Dezembro De 2024]; 70(2):E-084633. Disponível Em: <Https://Rbc.Inca.Gov.Br/Index.Php/Revista/Article/View/4633>
- Wieërs MLAJ, Beynon-Cobb B, Visser WJ, Attaye I. Dietary acid load in health and disease. *Pflugers Arch.* 2024 Apr;476(4):427-443. doi: 10.1007/s00424-024-02910-7. Wilson TK, Zishiri OT. Prostate Cancer: A Review of Genetics, Current Biomarkers and Personalised Treatments. *Cancer Rep (Hoboken).* 2024 Oct;7(10):e70016. doi: 10.1002/cnr2.70016.
- Terci, Dbl. Rossi, Av. Natural Ph Indicators: Using Paper Or Solution? *Quim Nova,* Vol. 25 , 2002, 684-688.

SOBRE OS EDITORES



Helena Carla Castro

Universidade Federal Fluminense
<http://lattes.cnpq.br/5765020884056943>



Gilson Pôrto Jr.

Universidade Federal de Tocantins
<http://lattes.cnpq.br/8025807807825011>

Este livro é o resultado de um esforço colaborativo entre a Dra. Helena Carla Castro, do Departamento de Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal Fluminense (UFF) em Niterói, Brasil, e o Dr. Gilson Pôrto Jr. professor da Universidade Federal do Tocantins. Eles organizaram este livro juntos, durante a participação de Dra Helena no Programa de Ciências, Tecnologias e Inclusão da UFF em 2024 como membro permanente.

Este livro faz parte do trabalho da Dra Helena no Projeto de Extensão chamado "O Projeto Humano," coordenado por ela na UFF. Já se passaram 20 anos desde a criação deste projeto na UFF e seu objetivo é divulgar o conhecimento científico em diversos ambientes, promovendo o aprendizado e a interação com a ciência em comunidades acadêmicas e não acadêmicas por meio de estratégias seguras e de baixo custo.