

Um método colorimétrico utilizando um scanner de mesa e processamento de imagens para análises bioquímicas

Camilo de Leis Medeiros de Moraes^{1,*} (IC), Kássio Michell Gomes de Lima¹ (PQ).
*camilolelis07@hotmail.com

¹Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Instituto de Química, Grupo de Pesquisa em Química Biológica e Quimiometria, CEP 59072-970 Natal, RN, Brasil.

Palavras Chave: ensaios bioquímicos, scanner, método colorimétrico, imagens.

Introdução

Análise bioquímica e testes clínicos são essenciais em laboratórios de análises relacionados à saúde. A análise de parâmetros bioquímicos em sangue como colesterol total, creatinina, glicose, proteínas totais e triglicérides é feita através de métodos colorimétricos utilizando espectroscopia UV-Vis. Como resultado, existe uma relação linear entre a absorbância medida e sua respectiva concentração analítica. O uso de sistemas ópticos e processamento de imagens podem substituir o uso de espectrômetros em determinadas reações colorimétricas, como os demonstrados na literatura para a determinação de amônia¹ e brometo². Com o uso de imagens coloridas no sistema de cor RGB (*red-green-blue*), o cálculo da absorbância segue a lei de Beer-Lambert, no qual a transmitância é composta pela intensidade de cada canal dividida pelo valor máximo de intensidade (255) ou branco. Dessa forma, pode-se calcular uma relação linear entre cor e concentração.

Resultados e Discussão

Todos os kits de reagentes bioquímicos foram obtidos da empresa Bioclin Quibasa®, com os seguintes códigos de referência: k.083-2, k.016, k.082-2, k.031-2 e k.117-2 para o colesterol total, creatinina, glicose, proteínas totais e triglicérides, respectivamente. Todos os testes seguiram o método de referência da empresa contido em seus manuais técnicos. As amostras foram coladas numa microplaca ELISA 96-poços (Fisher Scientific) com um volume total de reagente de 250 µL por amostra; as imagens foram obtidas utilizando um scanner de mesa (HP Scanjet G2410); e o processamento e análise das imagens foram realizados por um software produzido em nosso laboratório. Os modelos de calibração (valores de absorbância versus concentração) foram calculados no ambiente MATLAB® R2011a para cada um dos parâmetros. Dentre os canais RGB investigados, aqueles que apresentaram uma relação linear com bom ajuste, para os parâmetros do colesterol total, creatinina, glicose, proteínas totais e triglicérides foram, respectivamente, B, G, B, R e G. Os coeficientes de correlação para as amostras de calibração, de origem sintética, da sequencia acima foram, respectivamente, 0,996, 0,967, 0,992, 0,998 e 0,984.

37^ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Para as amostras de previsão, foram utilizadas amostras reais de soro sanguíneo de 4 voluntários adultos do sexo masculino. Os resultados obtidos foram satisfatórios, com coeficientes de correlação na previsão acima de 0,717 e com erros relativos não superiores a 5,30% em todos os parâmetros investigados. Além disso, um teste t-pareado (em nível de 95% de confiança) demonstrou que não existe diferença significativa entre o método enzimático e o método proposto.

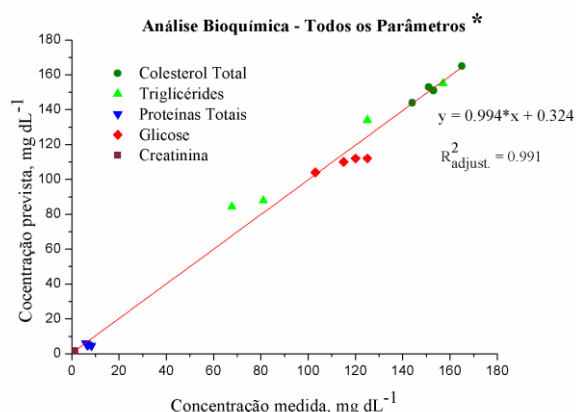


Figura 1. Valores de concentrações previstas para as amostras reais.*A concentração das proteínas totais foi dividida por 1×10^3 .

Conclusões

O uso de imagens utilizando um scanner de mesa para testes bioquímicos mostra-se adequado como um possível substituto ao uso de espectrofotômetros tradicionais, pois não houve diferenças estatísticas significativas em um nível de confiança de 95% ao se comparar com o método de referência. Este método pode ser utilizado em zonas remotas e/ou países subdesenvolvidos como uma alternativa de baixo custo para exames clínicos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Propesq – PIBIC – UFRN e CNPq pelo suporte financeiro.

¹Sims, G. K.; Ellsworth, T. R. e Mulvaney, R. L. Soil Sci. Soc. Am. J., 1995, 26, 303-316.

²Lepore, B. J. e Barak, P. Soil Sci. Soc. Am. J., 2009, 73, 1130-1136.