

Nuno Miguel Simões da Silva

Relatório de Estágio

Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela
Dra. Lucília Silveira e pela Dra. Ana Donato, e apresentado à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro, 2012



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Estagiário

Nome: Nuno Miguel Simões da Silva

Curso: Mestrado em Análises Clínicas

Instituição: Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC)

Local do estágio: Laboratório de Análises Clínicas da FFUC

Orientadores: Dra. Lucília Silveira e Dra. Ana Donato

Início e fim do estágio: 3/11/2011 a 31/05/2012

Duração (horas): 600

Áreas: Bioquímica, Hematologia, Imunologia, Microbiologia

Índice

Abreviaturas	3
Resumo/Abstract	5
Introdução	6
Caracterização do laboratório de estágio	7
Actividades desenvolvidas	9
I. Bioquímica	9
Como se efectuem as análises de Bioquímica.....	10
1.1. Função hepática.....	11
1.2. Função renal.....	18
1.3. Dislipidemias.....	22
1.4. Diabetes mellitus.....	26
1.5. Ionograma.....	27
1.6. Função pancreática.....	32
1.7. Avaliação muscular.....	33
2. Hematologia	34
2.1. Sistema hematopoiético.....	35
2.2. Células sanguíneas maduras.....	36
2.3. Hemograma.....	38
2.4. Análise da morfologia do sangue - esfregaço.....	43
2.5. Anemias.....	45
2.6. Coagulação.....	46
2.7. Velocidade de sedimentação dos eritrócitos.....	49
Outras áreas	53
Conclusão	54
Bibliografia	55
Anexos	57

Abreviaturas

ALP	Fosfatase alcalina
ALT/GPT	Alanina aminotransferase/transaminase glutamo-oxaloacética
ASLO	Anti-estreptolisina O
AST/GOT	Aspartato aminotransferase/transaminase glutamo-pirúvica
Ca ²⁺	ião cálcio
CHCM	Concentração da hemoglobina corpuscular média
Cl ⁻	ião cloreto
CK	Creatina cinase
CQ	Controlo de qualidade
DCE	Depuração da creatinina endógena
Fe ²⁺	ião ferroso
Fe ³⁺	ião férrico
HbA _{1c}	Hemoglobina glicosilada, fracção A _{1c}
HBV	Vírus da hepatite B
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HCV	Vírus da hepatite C
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IDL	Lipoproteína de densidade intermédia
INR	<i>International Normalised Ratio</i> (coagulação)
ISI	Índice de Sensibilidade Internacional
K ⁺	ião potássio
LDH	Lactato desidrogenase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LPL	Lipoproteína lipase
Mg ²⁺	ião magnésio
Na ⁺	ião sódio
PCR	Proteína C reactiva
PO ³⁻	ião fosfato
PTGO	Prova de tolerância à glicose oral
PTH	Hormona paratiroide

RDW	<i>Red cell distribution width</i> (distribuição do volume dos eritrócitos)
RNA	Ácido ribonucleico
RF	Factor reumatóide
TFG	Taxa de filtração glomerular
TP	Tempo de protrombina
TPT	Tempo parcial de tromboplastina
UA	Unidade de Alcoologia
VGM	Volume globular médio
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VS	Velocidade de sedimentação (dos eritrócitos)
γ -GT	Gama-glutamil transferase

Resumo

As Análises Clínicas englobam aquilo que se conhece por meios complementares de diagnóstico, no entanto têm muito mais importância que o adjetivo “complementar” sugere, porque muitas vezes são mais determinantes para o diagnóstico de uma doença do que os exames médicos normais.

Um laboratório de Análises Clínicas deve, com os meios à sua disposição, executar as análises sempre com base nas regras da Qualidade, de modo a reduzir ao mínimo a probabilidade de erros e a dar os resultados com a maior confiança possível. É fundamental o controlo rigoroso de cada uma das fases de um processo analítico (pré-analítica, analítica e pós-analítica), desde que se recebe uma requisição médica até ao relatório final da análise. O laboratório deve trabalhar em sintonia com os médicos: ao laboratório cabe obter resultados com qualidade e ao médico cabe saber interpretá-los bem de modo a melhorar a qualidade de vida dos utentes.

Neste relatório irei falar um pouco sobre como funciona um laboratório de Análises Clínicas e enfocar-me nas duas áreas de trabalho às quais dediquei mais tempo durante o estágio.

Abstract

Clinical Analyses span what is known as complementary means of diagnosis, but these are far more important than the adjective “complementary” suggests, because they often determine the diagnosis of a disease more than normal medical examinations. A Clinical Analyses laboratory should execute its analyses always based on its rules of Quality, to minimize the chances of error and to obtain the most trustworthy results. Strict control of each of the stages of an analytical process (pre-analytic, analytic and post-analytic) is required, from the moment a prescription is received to the final report. The laboratory should work together with doctors: the lab’s aims are quality results and the doctors must interpret them as correctly as possible in order to improve the patients’ quality of life.

In this report I will write about how such a laboratory works and focus on the two areas of work to which I dedicated more time during my internship.

Introdução

A área das Análises Clínicas evoluiu muito ao longo dos séculos, desde os tempos em que os médicos provavam a urina dos doentes para avaliar o seu estado de saúde até aos nossos tempos, nos quais existe uma grande variedade de métodos analíticos e de aparelhos e instrumentos topo-de-gama que permitem realizar vários testes clínicos com cada vez mais especificidade e sensibilidade. Hoje em dia as Análises Clínicas englobam várias valências, dos quais as mais importantes e as abordadas no meu estágio são a Bioquímica, a Hematologia, a Imunologia e a Microbiologia.

Neste sentido, venho neste relatório descrever as actividades desenvolvidas ao longo de 7 meses de estágio. Este foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, sob a orientação da Dra. Lucília Silveira e da Dra. Ana Donato.

A realização do estágio foi muito importante para mim no sentido em que consegui adquirir prática no manuseamento dos aparelhos e na execução das técnicas de laboratório, aplicando os conhecimentos teóricos aprendidos ao longo do Mestrado, e também porque consegui perceber como decorre a rotina de um analista clínico ao longo do dia de trabalho.

A Hematologia é uma área que incide sobre as características do sangue e dos órgãos hematopoiéticos, isto é, aqueles que produzem as células sanguíneas e/ou onde estas sofrem maturação. O perfil das células sanguíneas do utente de um laboratório de Análises Clínicas (hemograma) é necessário para despistar patologias que podem ser graves, desde vários tipos de anemias até às leucemias.

Independentemente da área, nas Análises Clínicas é crucial que o trabalho seja feito com a qualidade necessária. A qualidade abrange um conjunto de normas e procedimentos que garantem o rigor dos resultados obtidos. O objectivo da qualidade é fornecer aos utentes as técnicas mais fiáveis e o maior grau de satisfação possível, com o custo mais baixo possível para o utente.

Todos os dias é necessário fazer o Controlo da Qualidade (CQ), isto é, a vistoria de todos os passos do trabalho, desde a fase pré-analítica (o registo das amostras no sistema informático, as suas condições de transporte, a colheita correcta das amostras), passando pela fase analítica (o efectuar da análise propriamente dita da amostra) e acabando na fase pós-analítica (a validade do resultado obtido). Nenhum método deve ser aplicado sem antes se efectuar o CQ respectivo, e todos os aparelhos devem funcionar dentro de limites pré-

estabelecidos. É importante avaliar com periodicidade o estado dos calibradores, reagentes, aparelhos, métodos e também os próprios operadores.

O controlo de qualidade consiste no doseamento de um produto específico (controlo) que contém o analito que se quer avaliar numa concentração conhecida. Deve ser realizado sempre antes de se testarem as amostras nas quais se quer determinar esse analito.

Neste relatório vou então falar dos vários processos e técnicas mais importantes nas áreas da Bioquímica e da Hematologia, e se for o caso referir casos especiais que foram surgindo durante o estágio, que acho que merecem destaque e que portanto se devem incluir no relatório.

Caracterização do Laboratório de Estágio

O Laboratório de Análises Clínicas da FFUC situa-se no novo Pólo III da Universidade de Coimbra, no rés-do-chão junto à recepção. A Directora Técnica do laboratório, que é a especialista responsável pelo trabalho de todos os funcionários e pelos resultados das análises, é a Dra. Lucília Silveira. O laboratório é composto pelas seguintes divisões:

- Recepção e sala de espera;
- Gabinetes para os funcionários do laboratório;
- Sala de colheitas;
- Armazém;
- Três casas de banho (homens, senhoras e funcionários);
- O laboratório em si, composto por duas divisões, uma onde se fazem os testes de Bioquímica, Hematologia e Imunologia e outra mais virada para a Microbiologia.

A recepção é a zona onde os utentes chegam primeiro quando entram no laboratório e onde entregam as requisições para a realização das análises, bem como as amostras para análise que podem ser colhidas pelo doente em frascos apropriados (urina, fezes e expectoração) e as amostras provenientes da UA (Unidade de Alcoologia) e/ou do posto de colheitas. É composta por um balcão, algumas mesas, computadores e algumas estantes. A sala de espera situa-se na zona atrás do balcão da recepção e, como o nome indica, é a área onde o utente espera pelo atendimento. Para ajudar a passar o tempo, o

utente à espera tem à sua disposição uma mesa com algumas revistas e um pequeno televisor.

Se for necessária uma colheita de sangue, o utente é encaminhado para a sala de colheitas, situada num corredor onde também se encontram ainda os gabinetes, o armazém e as casas de banho. Esta sala é composta por um lavatório, uma cadeira onde o utente se senta para a colheita e um aparelho agitador onde os tubos contendo o sangue são colocados para impedir a coagulação do sangue. O armazém é uma sala onde são guardados vários materiais novos, antes de ser preciso utilizá-los.

As amostras provenientes do doente, da UA ou do posto/sala de colheitas seguem depois para o laboratório em si, onde são processadas e analisadas. A primeira divisão com a qual se contacta é a divisão de Bioquímica, Hematologia e Imunologia, e em frente a esta situa-se a divisão de Microbiologia, separada da primeira por uma porta de vidro. As divisões do laboratório são compostas por diversos aparelhos analíticos automatizados, que vieram tornar mais simples e rápida a execução das análises. Dentro desses aparelhos destacam-se:

- O aparelho para as análises de Bioquímica (IZASA AU 400), como a glicemia, a colesterolemia, bilirrubinas e várias enzimas;
- O ionograma (Spotlyte Na/K/Cl Analyzer), onde são determinadas as concentrações no soro de vários electrólitos, nomeadamente o sódio, potássio e cloreto;
- O VIDAS, da Biomérieux, um aparelho com duas unidades onde são realizados os testes de Imunologia, nomeadamente a pesquisa de anticorpos contra uma variedade de microrganismos patogénicos, incluindo o HIV e vírus causadores de hepatites (ex. HCV);
- O aparelho para hemogramas (Coulter, da MaxM), onde é feita a contagem de células sanguíneas;
- O aparelho para proteinogramas (Helena SAS-I Plus e SAS-2), onde se faz a caracterização das proteínas séricas dos doentes através de uma electroforese e da leitura das bandas obtidas após esta;
- O aparelho para avaliação da coagulação (Option 4 Plus, da Biomérieux), onde se avalia o estado e a velocidade de coagulação do sangue dos utentes. O aparelho permite realizar testes para avaliar ambas as vias da coagulação (intrínseca e extrínseca).

No laboratório existem ainda outros aparelhos onde não se fazem testes analíticos mas que são fundamentais para a realização correcta das análises, nomeadamente uma

centrífuga, que possui vários programas de centrifugação para urina e sangue, estufas (na divisão de Microbiologia) onde se guardam meios de cultura inoculados a 37° C para permitir o crescimento óptimo dos microrganismos, e um frigorífico, onde são conservados no frio vários reagentes e produtos de controlo que têm de ser armazenados a baixas temperaturas para serem preservados.

O laboratório tem ainda uma pequena sala com vários frigoríficos e congeladores onde são preservados vários reagentes, controlos e calibradores que necessitam de ser guardados a baixa temperatura para se preservar a sua composição, como por exemplo os controlos utilizados nos hemogramas e os calibradores para vários parâmetros determinados no aparelho de Bioquímica.

Actividades desenvolvidas

Nesta parte do relatório irei debruçar-me sobre as duas áreas das Análises Clínicas às quais dediquei mais tempo durante o estágio: Bioquímica e Hematologia. Para além destas áreas, o meu estágio também abrangeu as valências de Imunologia e Microbiologia, embora o tempo dedicado a estas tenha sido menor.

I. Bioquímica

A Bioquímica é uma ciência cujo objecto de estudo principal são as vias metabólicas do organismo humano, e as alterações nelas que originam estados patológicos. A Bioquímica, assim, abrange o metabolismo dos lípidos, glúcidos e proteínas, e os parâmetros associados, como por exemplo a glicemia, o colesterol (total, HDL, LDL) e as proteínas totais, bem como várias enzimas. Os parâmetros estudados serão descritos nesta secção do relatório.

Como se efectuam as análises de Bioquímica

Os parâmetros bioquímicos são determinados num aparelho auto-analisador específico, existente no laboratório. É o autoanalisador AU 400 da IZASA, que utiliza como sistema de leitura a fotometria, usando filtros entre 340 e 800 nanómetros. O programa deste aparelho inclui as técnicas e programas de calibração e de controlo interno de qualidade. As técnicas de análise usadas pelo auto-analisador podem dividir-se em quatro tipos de acordo com o seu princípio teórico: técnicas colorimétricas (exemplo: proteínas totais), enzimáticas colorimétricas (colesterol), cinéticas (todas as enzimas) e turbidimétricas (microalbuminúria).

Este auto-analisador é composto por um carrossel onde se pode inserir um certo número de frascos de reagentes. De notar que o aparelho pode determinar um número de parâmetros superior à capacidade em frascos do carrossel, pelo que sempre que se quer determinar um parâmetro novo deve substituir-se um reagente do carrossel e colocar nele o(s) novo(s) frasco(s). Cada frasco de reagente serve para um certo número de análises, sendo que o aparelho (através do computador acoplado a ele) avisa sempre que a

quantidade de reagente disponível baixa a partir de um certo ponto, sendo preciso substituir o reagente quando se recebe o aviso.

O aparelho é ainda composto por uma série de pipetas que recolhem os reagentes a partir do carrossel e o transferem para as cuvetes existentes na zona das reacções. As amostras/controlos/calibradores são inseridos no aparelho não isolados mas em “racks” que contém dez espaços para o produto a analisar e que contém determinadas cores, consoante o produto que se coloca.

No início de todos os dias de trabalho, ao ligar-se o auto-analisador, a primeira coisa a fazer é a fotocalibração, isto é, a calibração dos feixes de luz laser existentes no aparelho de modo a permitir a leitura correcta dos produtos a analisar. Após a fotocalibração estar completa, pode iniciar-se o trabalho.

O trabalho começa por verificar se algum dos reagentes colocados no aparelho necessita de ser calibrado. Através do computador acoplado ao aparelho, entra-se no menu “Calibração” e vê-se se algum dos reagentes requer calibração; se sim, seleccionam-se os reagentes em causa para programar-se a calibração. De notar que a periodicidade da calibração depende da estabilidade dos reagentes; quanto mais instáveis, mais frequentemente têm de ser calibrados. Para calibrar um reagente utiliza-se um produto calibrador, guardado em “ependorf” no frio e que por isso tem de ser descongelado antes de se usar. Neste laboratório existe um calibrador geral, que serve para variados parâmetros bioquímicos, e outros calibradores específicos, nomeadamente o calibrador para o colesterol das HDL. O “ependorf” é colocado na “rack” respectiva e introduzido no aparelho. Por fim, carrega-se no botão “Iniciar” para iniciar o processo. O aparelho efectua várias medições do produto (normalmente quatro) para aumentar a eficácia do processo (não só a calibração, como também o controlo e as análises em si).

Após as medições, deve ir verificar-se no computador se a calibração foi efectuada correctamente. A maioria das técnicas bioquímicas obedece à lei de Beer, e devem ter uma curva de calibração com linearidade. No entanto, nem todas as técnicas obedecem a esta lei, como as técnicas cinéticas e turbidimétricas.

O próximo passo é fazer o CQ. No menu “Controlo de Qualidade” seleccionam-se os parâmetros a controlar e depois vão buscar-se os produtos de controlo, que tal como os calibradores são guardados a frio. Existem no laboratório cinco controlos diferentes: controlo geral N1 e N2; controlo HDL N1 e N2 e controlo ITA N2 (PCR, RF e ASLO). Os controlos a usar são inseridos no aparelho dentro da “rack” respectiva.

A verificação do CQ é feita no menu “Verificação Controlo Qualidade”, através da posição do resultado obtido no gráfico respectivo da média e desvio-padrão. Segundo as regras de Westgard, um resultado deve ser um aviso para o operador apenas se estiver fora da zona entre $+2S$ e $-2S$ (S : desvio-padrão), no entanto no laboratório fui aconselhado a repetir os controlos se o resultado estivesse fora da zona entre $+1S$ e $-1S$.

Se os resultados do CQ forem satisfatórios, passa-se à análise das amostras, sabendo que os resultados a obter têm por base valores de controlo e calibração correctos e que, por isso, as medições serão precisas e exactas. Antes da análise das amostras, elas têm de ser centrifugadas, pois o que se analisa é o soro e não o sangue total. As amostras de sangue são centrifugadas a 3000 rpm durante 20 minutos.

As amostras devem primeiro ser programadas no menu “Programação de Amostras”, introduzindo-se o número de código da amostra(o número da amostra do dia/o dia do mês (exemplo: a segunda amostra do dia 27 terá o código 2/27), acrescentando-se UA ou PC se a amostra veio da Unidade de Alcoologia da UC ou do posto de colheitas, respectivamente) e os parâmetros a analisar. Introduzem-se as amostras no aparelho e inicia-se o processo. Os resultados são impressos em folhas numa impressora anexada ao computador.

I.1. Função hepática

O fígado é dos órgãos do corpo humano que mais sangue recebe, nomeadamente sangue venoso que vem dos intestinos. Este facto, associado à enorme quantidade de enzimas que catalisam uma grande variedade de reacções cruciais à manutenção da vida, bem como a sua estrutura única, tornam o fígado um órgão fundamental para a regulação dos processos metabólicos do organismo. Nas células do fígado (hepatócitos) ocorre o metabolismo dos lípidos e glúcidos, a síntese da grande maioria das proteínas do organismo e também a destoxificação do organismo através da neutralização e conjugação de vários compostos potencialmente tóxicos, como fármacos.

A função hepática pode ser avaliada através da determinação de variados parâmetros: bilirrubinas (total, directa e indirecta), transaminases, gama-glutamil transferase, fosfatase alcalina, lactato desidrogenase, proteínas totais, albumina e tempo de protrombina.

A alteração significativa de um ou mais parâmetros hepáticos pode significar perda de função e/ou doença do fígado (hepatopatia). Por exemplo, a destruição do fígado reflecte-se na diminuição dos níveis de proteínas totais e de albumina e no aumento do tempo de protrombina, dado que o fígado tem um papel importante no controlo da coagulação. Por

sua vez, um aumento das bilirrubinas e/ou da fosfatase alcalina podem indicar obstrução do fluxo biliar (colestase).

I.I.I. Bilirrubinas

A bilirrubina é um pigmento amarelado que resulta do catabolismo do grupo heme da hemoglobina, no sistema reticuloendotelial do fígado, baço e medula óssea. O transporte da bilirrubina ao fígado é feito pela ligação desta à albumina, dado que a bilirrubina é insolúvel em água. No fígado, a bilirrubina é conjugada com ácido glucurónico, formando-se um composto mais solúvel chamado bilirrubina conjugada ou directa, para distinguir da bilirrubina não conjugada ou indirecta, que é transportada ao fígado para ser conjugada.

A bilirrubina conjugada é depois excretada na bÍlis, que passa da vesícula biliar para os intestinos. No íleo terminal e no cólon, a bilirrubina conjugada é transformada em estercobilinogénio, um pigmento que dá a cor às fezes e que é excretado nelas na sua maior parte, e em urobilinogénio, um composto que é reabsorvido dos intestinos de volta para a corrente sanguínea. O sangue transporta o urobilinogénio de volta ao fígado, onde este composto é re-excretado para a bÍlis ou para o sangue, para ser transportado para os rins. Aqui, o urobilinogénio é eliminado do organismo na urina.

Se a bilirrubina não é excretada, regressa ao fígado e acumula-se no sangue, havendo um aumento da sua concentração sérica. Este fenómeno leva a que a pele adquira uma tonalidade amarelada, condição patológica chamada de icterícia. A avaliação do estado e progresso da icterícia é feita pelo doseamento da bilirrubina, e a distinção entre as fracções conjugada e não conjugada da bilirrubina é uma ajuda para o diagnóstico diferencial dos vários tipos de icterícia. A icterícia pode dividir-se em três tipos:

Icterícia pré-hepática – causada pelo aumento da degradação da hemoglobina, aumentando a quantidade de bilirrubina para ser conjugada. Normalmente o fígado não é afectado e consegue conjugar e excretar na bÍlis o excesso de bilirrubina. Além do aumento da bilirrubina total, há também uma subida do urobilinogénio no sangue e na urina. Devido à causa deste tipo de icterícia, também se pode chamar de icterícia hemolítica;

Icterícia hepática – causada por danos ou doença nos hepatócitos, que não conseguem desempenhar eficazmente as funções de conjugação da bilirrubina. Esta acumula-se no sangue e há um aumento da quantidade de bilirrubina excretada nos rins e que, portanto, aparece na urina. Dado que a quantidade de bilirrubina directa excretada nos intestinos diminui, o mesmo acontece ao urobilinogénio;

Icterícia pós-hepática – causada por uma obstrução biliar (colestase), que faz com que a bilirrubina conjugada regresse ao fígado e se acumule no sangue, de onde é removida pelos rins e eliminada na urina. Dado que pouca ou nenhuma bilirrubina chega aos intestinos, a quantidade de urobilinogénio formado é baixa ou nula, e as fezes serão descoradas.⁽¹⁾

1.1.2. Transaminases

As transaminases são enzimas que se encontram dentro dos hepatócitos. Para a avaliação da função hepática as transaminases mais importantes são a aspartato aminotransferase ou transaminase glutamo-oxaloacética (AST/GOT) e a alanina aminotransferase ou transaminase glutamo-pirúvica (ALT/GPT).

As transaminases catalisam a transferência reversível de um grupo amina (NH_3) do aspartato/alanina para o α -cetoglutarato, formando-se glutamato e o cetoácido correspondente ao aminoácido inicial: oxaloacetato (AST) ou piruvato (ALT). A vitamina B12 é um cofactor requerido por ambas as enzimas.

A AST, além de se encontrar no fígado (principalmente no citoplasma e mitocôndrias), também se encontra em vários outros tecidos do organismo, incluindo o músculo esquelético, músculo cardíaco, tecido adiposo e o cérebro, entre outros, enquanto que a ALT encontra-se predominantemente no fígado (embora apenas no citoplasma) e é mais específica para a função hepática. Em geral, nas doenças do fígado a ALT aumenta mais que a AST, excepto no alcoolismo, em que a proporção AST:ALT é superior a 1. Nas doenças hepáticas de origem viral, a proporção AST:ALT é normalmente inferior a 1, o que indica que a ALT aumenta mais que a AST.⁽²⁾

O aumento das transaminases reflecte uma lesão celular, que pode ser hepática.

1.1.3. Gama-glutamil transferase

A gama-glutamil transferase (ou γ -GT) é uma enzima que regula o transporte de aminoácidos através das membranas celulares, catalisando a transferência de um grupo glutamyl do glutatião para receptores peptídicos.

Esta enzima encontra-se aumentada em várias patologias hepatobiliares, incluindo colestase, cirrose e doença infecciosa hepática. Encontra-se aumentada também em situações de alcoolismo, embora em 20-30% dos doentes alcoólicos esta enzima esteja em níveis normais. Se conjuntamente com o aumento da γ -GT existir um aumento das transaminases, nomeadamente da ALT, o problema adjacente será provavelmente de origem hepática. A γ -GT é um conhecido indicador sensível de dano hepatocelular.⁽³⁾

I.1.4. Fosfatase alcalina

A fosfatase alcalina (ALP) é uma enzima do tipo hidrolase, que catalisa a remoção de grupos fosfato de muitas moléculas, incluindo nucleótidos e proteínas, cujo pH ótimo é alcalino. Nos humanos, a ALP é mais predominante no fígado, canais biliares, rins, ossos e placenta, embora também se encontre noutros tecidos. A ALP possui várias isoformas, e as mais encontradas nos humanos são a ALPI (intestinal), a ALPL (fígado, ossos e rins) e a ALPP (placenta).

A principal função da ALP está relacionada com o transporte de lípidos no intestino e com a calcificação e crescimento ósseos. A ALP existe em abundância no tracto biliar e por isso é um bom marcador de patologias biliares, nomeadamente a colestase (aliás, a principal utilidade da determinação da ALP no soro é para a pesquisa de doença colestática, intra ou extra-hepática) e tumores que bloqueiam o fluxo da bília, como os da cabeça do pâncreas. No entanto, como já foi referido, a ALP possui várias isoenzimas e distribui-se por todo o organismo, pelo que não é específica da função hepática, servindo também, por exemplo, para o diagnóstico de patologias ósseas e gastrointestinais. Nestes casos, a ALP costuma estar elevada, mas também pode estar diminuída, como por exemplo na doença de Wilson fulminante ou na desnutrição.⁽⁴⁾

A ALP pode ainda estar aumentada em condições fisiológicas, como na gravidez, devido à subida da ALP placentária, e nas crianças, devido ao crescimento dos ossos.⁽⁵⁾

I.1.5. Lactato desidrogenase

A lactato desidrogenase (LDH) é uma enzima importante para o metabolismo dos glúcidos e que é encontrada na maioria dos principais tecidos do organismo. Foram isoladas cinco isoenzimas da LDH: LDH1, LDH2, LDH3, LDH4 e LDH5. A LDH1 é mais específica do músculo cardíaco, a LDH2 do sistema reticuloendotelial, a LDH3 predomina no tecido pulmonar, a LDH4 no pâncreas, placenta e rins, e a LDH5 no fígado e no músculo esquelético. A concentração de LDH nos tecidos e eritrócitos é cerca de cem vezes superior à do plasma, pelo que danos num tecido ou a hemólise podem levar a um grande aumento dos níveis de LDH no soro. Assim, a determinação da LDH total é importante na avaliação de lesões tecidulares. Os níveis de LDH, particularmente de LDH5, costumam estar aumentados especialmente em patologias hepáticas com origem viral.⁽⁶⁾

1.1.6. Proteínas totais

O teste das proteínas totais (proteinograma) mede os níveis das principais classes de proteínas no organismo: albumina e globulinas (α 1, α 2, β e γ -globulinas). O proteinograma consiste na separação electroforética das proteínas do soro, obtendo-se um certo número de bandas consoante o meio de suporte utilizado; os mais comuns são o acetato de celulose e o gel de agarose. Nestes meios surgem cinco bandas: uma correspondente à albumina e quatro às globulinas, onde migram várias proteínas: na banda α 1 migram a α 1-antitripsina e a α 1-glicoproteína ácida; na banda α 2 a haptoglobina e a α 2-macroglobulina; na banda β a transferrina e a β 2-microglobulina; na banda γ migram as imunoglobulinas.

Um resultado elevado indica hiperproteinemia e pode estar associado a infecções crónicas (por exemplo, pelo HIV, HBV e HCV) ou ao mieloma múltiplo, ou ainda a condições fisiológicas como a gravidez. Um valor baixo de proteínas totais (hipoproteinémia) pode estar associado a hemorragias, queimaduras, glomerulonefrite, doença hepática, malnutrição, má absorção e síndrome nefrótica. Normalmente um valor baixo de proteínas totais significa que a concentração de albumina está baixa. As concentrações de albumina e de proteínas totais são praticamente sobreponíveis, visto que a albumina é a principal proteína plasmática.⁽¹⁾

Procedimento do proteinograma

No laboratório de Análises Clínicas da FFUC, os proteinogramas fazem-se não no aparelho de Bioquímica mas sim num aparelho próprio para proteinogramas, da Helena Biosciences.

Os proteinogramas fazem-se através da electroforese de proteínas. Primeiro colocam-se 35 μL de soro da amostra no poço respectivo e depois coloca-se o gel de agarose, o meio de suporte da electroforese. No fim desta, passa-se o gel para a unidade de coloração, lavagem e secagem. Após a conclusão do processo, no gel devem ver-se várias bandas coradas: cada banda corresponde a uma fracção de proteínas (albumina, $\alpha 1$, $\alpha 2$, β e γ) e quanto mais corada estiver, maior a concentração de proteínas dessa fracção. Finalmente, coloca-se o gel num scanner acoplado a um computador e neste aparece a imagem digitalizada do gel e um gráfico com as percentagens de cada fracção de proteínas da amostra. Esse gráfico é impresso numa folha.

Em determinadas patologias, algumas bandas aparecem aumentadas ou diminuídas em relação aos valores normais. O tamanho das bandas e a percentagem de cada fracção proteica ajuda ao diagnóstico dessas patologias. Por exemplo, na cirrose hepática há um aumento das γ -globulinas e fusão da sua banda com a das β -globulinas; na deficiência imunitária há uma diminuição das γ -globulinas, visto que as imunoglobulinas (anticorpos) pertencem a esta banda.

Nos anexos pode ver-se um exemplo de uma folha de resultados de um proteinograma.

1.1.7. Albumina

A albumina é uma proteína sintetizada nos hepatócitos e é a proteína mais importante do sangue. A albumina é a principal reguladora da pressão oncótica e transporta muitas substâncias endógenas (bilirrubina, várias hormonas e iões) e exógenas, como fármacos.

Valores baixos de albumina (hipoalbuminémia) estão associados a má nutrição e a doenças que causam destruição do tecido hepático, como a cirrose. No entanto, a hipoalbuminémia também pode estar associada à síndrome nefrótica ou outras doenças renais que causem a eliminação de proteínas na urina (proteinúria). A diminuição dos níveis da albumina, visto ser a principal proteína do sangue, leva quase sempre a uma diminuição das proteínas totais. A hipoalbuminemia resulta na saída de fluido dos vasos sanguíneos e na sua acumulação no espaço intersticial, a que se dá o nome de edema.⁽⁷⁾

I.2. Função renal

Os rins desempenham um papel muito importante na regulação do equilíbrio hidro-electrolítico e ácido-base, bem como na neutralização e eliminação de compostos tóxicos para o organismo. A maneira mais significativa pela qual o rim desempenha as suas funções é através da formação de urina e da regulação da sua densidade e concentração. Para além destas funções, os rins são ainda o local de síntese de várias hormonas, entre as quais a eritropoietina (EPO), importante para a formação dos eritrócitos.

Parâmetros analíticos renais

O doseamento da ureia e creatinina séricas é um método fiável para a pesquisa de lesões glomerulares e/ou tubulares: o aumento destes valores sugere que o rim tem mais dificuldade na filtração do sangue. A capacidade de filtração dos rins pode ser avaliada através das provas de depuração da creatinina. A proteinúria e a microalbuminúria são outros parâmetros que acompanham as lesões glomerulares graves. Em condições normais, apenas as proteínas de baixo peso molecular (inferior a 10.000 Da) são filtradas, mas estas são depois reabsorvidas no túbulo contornado proximal; assim, normalmente não são eliminadas proteínas na urina. Além disso, as proteínas têm carga predominantemente negativa, tal como os glomérulos, havendo uma repulsão que, para além do tamanho, impede a filtração das proteínas. Mas se os glomérulos estiverem danificados, as proteínas de maior peso molecular, nomeadamente a albumina (cerca de 60.000 Da) podem passar para o filtrado e serem eliminadas na urina.

I.2.1. Análise sumária de urina (Urina tipo II)

A avaliação da função renal deve começar com a análise sumária da urina, também conhecida por urina tipo II. É uma análise de rotina que pode auxiliar nesta avaliação.

A urina tipo II ou sumária de urina é um tipo da análise da urina que visa avaliar aspectos físicos da urina, como a cor, turbidez e cheiro, e aspectos químicos e bioquímicos como a presença de certas substâncias ou células na urina. As informações fornecidas por esta análise são também muito úteis para o eventual estabelecimento de uma patologia renal ou do tracto urinário, bem como de outras eventuais patologias como a diabetes ou doenças hepáticas.

Os parâmetros mais importantes que são avaliados numa urina tipo II são:

Aspectos físicos – aspecto geral, cor, turbidez, cheiro, densidade.

Aspectos bioquímicos – pH, presença de proteínas, glicose, urobilinogénio, corpos cetónicos, eritrócitos, hemoglobina, leucócitos, outras células, cilindros, cristais.

Na urina tipo II inclui-se ainda a observação do sedimento urinário, que é obtido após a centrifugação da urina. No laboratório onde estagiei, a centrifugação da urina é feita a 2500 rpm/10 minutos. De seguida, rejeita-se o sobrenadante, deixando ficar no tubo apenas cerca de 1 mL de urina, que corresponde ao sedimento. No sedimento são pesquisados eventuais leucócitos/eritrócitos e cristais, cuja presença sugere a existência de uma patologia renal e de cálculos renais, respectivamente.

De notar que para ser válida, a urina tipo II tem de ser efectuada numa amostra obtida recentemente. ⁽⁸⁾

1.2.2. Ureia

O sangue transporta as proteínas para as células dos vários tecidos do organismo. No fígado as proteínas são metabolizadas e os produtos finais do metabolismo são devolvidos ao sangue. A ureia é o principal metabolito das proteínas e aminoácidos, e é filtrada pelos rins e eliminada na urina em indivíduos saudáveis. Se a função renal está comprometida, a ureia permanece no sangue e o seu valor sérico aumenta, uma condição à qual se dá o nome de urémia ou hiperurémia. A concentração sanguínea de ureia varia, para além da função renal, de acordo com a idade e a quantidade de proteínas ingeridas na alimentação.

A urémia pode ser classificada como pré-renal, renal ou pós-renal. A urémia pré-renal é um distúrbio resultante da diminuição da perfusão dos rins, que tem por consequência a diminuição da taxa de filtração glomerular, e pode estar subjacente a diversas causas, como a insuficiência cardíaca congestiva, diminuição do fluxo sanguíneo renal, reabsorção das proteínas sanguíneas após uma hemorragia gastrointestinal ou ainda problemas hepáticos. ⁽⁸⁾

A urémia renal deve-se à diminuição da filtração glomerular como consequência de uma insuficiência renal aguda ou crónica resultante de lesões nos vasos sanguíneos renais, glomérulos, túbulos e/ou no interstício. Essas lesões podem ser tóxicas, imunológicas,

iatrogénicas ou idiopáticas (por exemplo, glomerulonefrites, necrose tubular ou nefrite intersticial aguda).

A urémia pós-renal resulta da obstrução do tracto urinário (ureteres ou bexiga), que leva à reabsorção da ureia para a circulação sanguínea.

Perturbações no valor da ureia sérica também podem ocorrer por diminuição deste valor (hipourémia). A hipourémia costuma verificar-se nas situações de hepatopatia grave, em que o ciclo da ureia fica comprometido, ou ainda em casos de má nutrição ou aumento da ingestão de líquidos.

1.2.3. Creatinina

A creatinina é um metabolito resultante da desidratação da creatina muscular. A creatinina passa por difusão dos músculos para o plasma, de onde é quase completamente filtrada (a uma velocidade relativamente constante) a nível dos glomérulos. Se a creatininémia (quantidade de creatinina no plasma) for elevada, parte da creatinina pode ser excretada também nos túbulos renais. A quantidade de creatinina excretada diariamente é proporcional à massa muscular do indivíduo, não sendo afectada pela dieta, idade, sexo ou exercício físico.

Como a creatinina é excretada a uma velocidade quase constante e a sua produção não depende do metabolismo das proteínas, ao contrário da ureia, a creatinina é um excelente parâmetro, melhor que a ureia, para avaliar a função renal.

Valores elevados de creatinina no plasma (hipercreatininémia) indicam uma diminuição da velocidade de filtração glomerular ou uma diminuição do volume de urina produzida e excretada, independentemente de ser uma causa pré-renal, renal ou pós-renal. A concentração plasmática de creatinina é inversamente proporcional à taxa de filtração glomerular (TFG). A hipercreatininémia, assim, é causada por uma deterioração da função renal. De notar que os valores da creatinina sérica mantêm-se dentro dos valores de referência até que uma grande parte da função renal esteja comprometida, pelo que um valor de creatinina normal não indica por si só que os rins estão a funcionar correctamente e que a TFG esteja dentro dos valores de referência.⁽⁸⁾

1.2.4. Depuração da creatinina endógena (DCE)

Dado que a creatinina sérica só aumenta para além dos valores de referência quando a função renal já está seriamente afectada, é um indicador pouco preciso desta. Assim,

pode avaliar-se a função renal através da determinação da velocidade de remoção da creatinina do sangue durante a sua passagem pelos rins. A depuração da creatinina endógena (DCE) define-se como o volume de plasma sanguíneo (em mL) que contém a quantidade total de creatinina endógena excretada na urina por minuto. Para determinar a DCE, é necessário calcular as concentrações sérica e urinária da creatinina num espaço de 24 horas, logo tem de se utilizar urina das 24 horas para se calcular este parâmetro. Existem várias fórmulas para o cálculo, mas a mais conhecida é a fórmula empírica de Cockcroft e Gault, que se apresenta a seguir:

$$\text{DCE} = 1,224 [(140 - \text{idade (anos)}) \times \text{peso (kg)}] / \text{Conc. Creat.}_{\text{plasma}} (\text{mL/min})$$

Esta fórmula aplica-se aos homens; para mulheres a concentração de creatinina é em média 15% inferior, pelo que deve alterar-se o valor 1,224 para 1,04.⁽⁸⁾

1.2.5. Microalbuminúria e proteinúria

A presença na urina de proteínas de peso molecular médio ou alto, incluindo a albumina, é um bom indicador de nefropatia (doença renal). Os termos microalbuminúria e proteinúria são geralmente usados como sinónimos, porque a proteína mais abundante na urina em doentes renais costuma ser a albumina.

A pesquisa destes parâmetros é feita em urinas de 24 horas, para se obterem resultados mais correctos sobre o estado renal, visto que é fundamental saber a quantidade de urina que os rins produzem num período de 24 horas.

A monitorização destes parâmetros é de grande importância no seguimento de doentes com diabetes mellitus, pois a nefropatia diabética é uma das consequências graves desta doença e da falta de monitorização desta.⁽⁹⁾

1.2.6. Ácido úrico

O ácido úrico é o produto final do metabolismo das purinas (adenina e guanina, constituintes dos ácidos nucleicos). O ácido úrico é filtrado nos glomérulos e parcialmente reabsorvido nos túbulos; o restante é excretado na urina.

O excesso de ácido úrico (hiperuricemia) pode dever-se a distúrbios metabólicos, ingestão em excesso de purinas ou alcoolismo e consequentes danos renais. Como consequência da hiperuricemia pode surgir gota, doença na qual se depositam cristais de uratos nas articulações, surgindo dores associadas.

Pode ocorrer hipouricemia na doença de Wilson, em hepatopatias com síntese reduzida de purinas ou em pessoas com deficiências na reabsorção renal.⁽¹⁰⁾

I.3. Dislipidemias

As dislipidemias são distúrbios do metabolismo dos lípidos que levam à alteração para fora dos valores de referência dos níveis de lípidos na corrente sanguínea. Dentro destas temos as hiperlipidemias (aumento) e as hipolipidemias (diminuição). Para determinar se um indivíduo tem uma dislipidemia devem determinar-se os seus níveis de colesterol (total, LDL e HDL), os triglicéridos e ainda as lipoproteínas. Numa dislipidemia pode estar aumentado apenas um destes parâmetros ou vários, e de acordo com eles podem classificar-se as dislipidemias em vários tipos, por exemplo a hipercolesterolemia LDL e a hipertrigliceridemia.

I.3.1. Colesterol

O colesterol é um composto orgânico (esterol) que é muitas vezes considerado “perigoso” para o corpo humano, mas que na realidade é necessário porque é crucial para a síntese das hormonas esteróides pelas gónadas e pelo córtex adrenal, e também para a síntese da vitamina D. É ainda um dos constituintes da bílis e fornece estabilidade às membranas celulares dos animais. O colesterol do organismo vem de duas vias: da dieta alimentar e da síntese no fígado a partir da acetil-coenzima A.

O colesterol é perigoso quando se encontra em excesso no sangue (hipercolesterolemia). A hipercolesterolemia está associada a um maior risco de doenças cardiovasculares como a aterosclerose, enfarte agudo do miocárdio e acidentes vasculares cerebrais. É importante, assim, ter cuidado na alimentação e evitar ingerir alimentos com excesso de colesterol e gorduras saturadas. No entanto, a hipercolesterolemia também se

pode dever a factores genéticos. Neste caso, é mais perigosa porque a terapia com medicamentos antilipidémicos é menos eficaz. A falta de um gene ou uma mutação podem causar a diminuição dos receptores do metabolismo do colesterol e das lipoproteínas, fazendo aumentar a sua concentração sanguínea para valores elevadíssimos, sendo muitas vezes necessário um transplante de fígado para corrigir o problema.

I.3.2. Lipoproteínas

Para o organismo utilizar os lípidos provenientes dos alimentos, é necessário que estes sejam absorvidos no intestino. No entanto, os lípidos são insolúveis no meio aquoso do intestino e do sangue, pelo que têm de ser absorvidos na forma solubilizada, através dos sais biliares, sintetizados no fígado a partir do colesterol e armazenados na vesícula biliar. Quando entram na corrente sanguínea, os triglicéridos e o colesterol da dieta, bem como o sintetizado no fígado, são solubilizados em complexos esféricos denominados lipoproteínas. As lipoproteínas contêm triglicéridos e colesterol esterificado no seu interior, rodeados de fosfolípidos polares e apolipoproteínas na superfície. Existem vários tipos de lipoproteínas, de acordo com a proporção de colesterol e triglicéridos e os tipos de apolipoproteínas, que conferem aos complexos densidades diferentes. As lipoproteínas são, assim, classificadas de acordo com a sua densidade.

As lipoproteínas menos densas e de maior tamanho são os **quilomícrons**, compostos na sua quase totalidade por triglicéridos e obtidos no intestino após absorção dos lípidos. Os quilomícrons depois são transportados ao fígado onde são metabolizados em **VLDL** (em português, lipoproteínas de muito baixa densidade). As VLDL possuem menos triglicéridos e ligeiramente mais colesterol que os quilomícrons, e têm um diâmetro menor. As VLDL circulam pelo sangue e são hidrolisadas pela lipoproteína lipase (LPL), uma enzima das células endoteliais, transferindo glicerol e ácidos gordos para os tecidos. O que resta das lipoproteínas são as **IDL** (lipoproteínas de densidade intermédia). As IDL podem circular no sangue ou serem absorvidas para o fígado e hidrolisadas pela lipase hepática, formando-se **LDL** (lipoproteínas de baixa densidade). As LDL contêm uma grande quantidade de colesterol e transportam-no pelo sangue para os tecidos. As LDL são muito susceptíveis à oxidação e são as principais responsáveis pela aterosclerose, pelo que se costumam chamar de “mau colesterol”. Por fim, existem ainda as **HDL** (lipoproteínas de alta densidade), as mais densas devido à proporção proteínas/colesterol, sintetizadas no fígado a partir do colesterol livre. As HDL transportam colesterol dos tecidos periféricos

para o fígado para ser metabolizado, e além disso têm propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, pelo que as HDL costumam ser chamadas de “bom colesterol”. A seguinte tabela mostra as características das lipoproteínas referidas acima:

Densidade (g/mL)	Tipo	Diâmetro (nm)	% proteínas	% colesterol	% fosfolípidos	% triglicéridos & colesterol esterificado
>1.063	HDL	5–15	33	30	29	4
1.019–1.063	LDL	18–28	25	50	21	8
1.006–1.019	IDL	25–50	18	29	22	31
0.95–1.006	VLDL	30–80	10	22	18	50
<0.95	Quilomícrons	100-1000	<2	8	7	84

Tabela I. ⁽¹¹⁾

Para avaliar o risco cardiovascular de um indivíduo, um dos parâmetros que se costuma determinar a nível laboratorial é o índice aterogénico. Este parâmetro é obtido dividindo o valor do colesterol total pelo valor das HDL. O risco aterogénico é baixo se a relação acima for inferior a 5.

O aparelho auto-analisador do laboratório faz a determinação do colesterol total e do colesterol das HDL. Para determinar o colesterol das LDL, pode aplicar-se a seguinte fórmula (Fórmula de Friedwald, 1972):

$$\text{LDL} = \text{Colesterol total} - \text{HDL} - \text{TG}/5 \text{ (mg/dL)} \text{ }^{(12)}$$

1.3.3. Triglicéridos

Os triglicéridos são ésteres de glicerol ligado a três moléculas de ácidos gordos. A maioria dos lípidos ingeridos na dieta estão na forma de triglicéridos e estes são a principal reserva energética do organismo. No fígado, os triglicéridos são sintetizados a partir de glicerol livre (no intestino), ou de fosfato de di-hidroxiacetona (produto da via glicolítica, no tecido adiposo). As reservas de triglicéridos são mobilizadas quando há condições de falta de energia no organismo, por exemplo nos casos de má nutrição ou diabetes.⁽¹³⁾

A sua concentração sérica (trigliceridemia) está directamente relacionada com a concentração sérica de quilomícrons e de VLDL (as lipoproteínas mais ricas em

triglicéridos). Um nível elevado de triglicéridos é factor de risco para doenças cardiovasculares e outras doenças, nomeadamente a pancreatite aguda.

I.3.4. Proteína C reactiva

A proteína C reactiva (PCR) está incluída no grupo das proteínas de fase aguda. Todas as proteínas de fase aguda elevam a sua concentração sanguínea em resposta a estados inflamatórios agudos, causados por diversos fenómenos, incluindo infecções, reacções alérgicas, lesões tecidulares, neoplasias ou outros fenómenos que causem necrose tecidual. A PCR Participa no processo inflamatório, e liga-se à superfície dos agentes patogénicos, caso sejam eles os responsáveis pela inflamação. O seu papel tanto pode ser pró-inflamatório ou anti-inflamatório, consoante as condições do meio onde actua.⁽¹⁴⁾

Mais recentemente descobriu-se que a PCR é importante para decifrar o papel de um processo inflamatório em aterosclerose e outras doenças isquémicas. Como referido acima, as LDL são as lipoproteínas mais associadas à aterosclerose porque são fortemente susceptíveis à oxidação. As LDL oxidadas acumulam-se no endotélio e causam grandes danos neste, iniciando-se um processo inflamatório que leva à subida rápida dos níveis da PCR. Assim, existe uma associação entre a concentração sérica de LDL, os níveis da PCR e a extensão da doença aterosclerótica. Isso faz com que a proteína C reactiva seja um bom indicador de dislipidemia e/ou presença de placas ateroscleróticas associadas.⁽¹⁵⁾

I.4. Diabetes mellitus

A diabetes mellitus ou simplesmente diabetes é a disfunção metabólica mais comumente encontrada na Clínica. Pode definir-se como uma síndrome caracterizada pela hiperglicemia causada pela ausência ou insuficiente secreção de insulina pelas células beta dos ilhéus de Langerhans do pâncreas (Diabetes tipo I, insulino-dependente) ou pela resistência à acção da insulina causada pela diminuição e/ou esgotamento dos seus receptores celulares, o que compromete o transporte da glicose para as células (Diabetes tipo 2, não insulino-dependente).

Para o diagnóstico da diabetes é necessária pelo menos uma amostra de sangue colhida preferencialmente em jejum e determinar o valor da glicemia. É este valor que

define se um indivíduo é ou não diabético, embora para a monitorização da diabetes se devam utilizar outros parâmetros para além da concentração de glicose no sangue.⁽¹⁾

1.4.1. Glicose

Como foi referido acima, o diagnóstico da diabetes mellitus é feito com a determinação da glicemia numa amostra de sangue, que de preferência deve ser colhida em jejum, mas se as condições não o permitirem, pode utilizar-se uma amostra colhida aleatoriamente. Uma glicemia em jejum igual ou superior a 126 mg/dL (7,0 mmol/L) é suficiente para o diagnóstico de diabetes, independente de estarem presentes os sintomas da hiperglicemia: poliúria, polidipsia, polifagia e glicosúria. Se a glicemia se situa entre 110 e 126 mg/dL, considera-se que a pessoa tem intolerância à glicose, não se conseguindo definir com exactidão de a pessoa é diabética. Para isso recorre-se à prova de tolerância à glicose oral (PTGO).⁽¹⁾

1.4.2. Prova de tolerância à glicose oral (PTGO)

A PTGO utiliza-se quando a glicemia em jejum de um indivíduo se situa entre os 110 e os 126 mg/dL. Para a realização desta prova, deve começar-se por colher uma amostra de sangue em jejum e determinar a glicemia. Depois, o indivíduo deve ingerir uma grande quantidade de glicose dissolvida em água (75 g de glicose em cerca de 300 mL de água), e duas horas depois deve colher-se outra amostra de sangue. Em pessoas saudáveis, a glicemia às duas horas deve ser inferior a 140 mg/dL. Valores entre 140 e 200 mg/dL indicam diminuição da tolerância à glicose, e um valor superior a 200 mg/dL confirma o diagnóstico de diabetes.⁽¹⁾ Uma variante da PTGO é utilizada em mulheres grávidas para o diagnóstico da diabetes gestacional (mulheres saudáveis com hiperglicemia na gravidez), em que se ingerem 75 g de glicose em água. Mede-se a glicose em jejum, uma hora depois da toma e duas horas depois. Os valores de referência deste teste são: 105 mg/dL em jejum, 180 mg/dL após 1 h e 153 mg/dL após 2 h. A mulher é considerada diabética se a sua glicemia for superior ao valor de referência respectivo.⁽¹⁾

1.4.3. Hemoglobina glicada (HbA_{1c})

A hiperglicemia leva à ligação não enzimática de glicose a uma variedade de proteínas, incluindo a hemoglobina, formando-se HbA_{1c} . Este processo é denominado glicação ou glicosilação, e é irreversível em condições fisiológicas. Assim, a concentração de hemoglobina glicada reflecte a concentração de glicose no sangue, e devido ao tempo de semivida longo dos eritrócitos (cerca de 120 dias) permite avaliar as flutuações da glicemia durante um longo período de tempo, até cerca de dois meses antes da medição da HbA_{1c} . Este parâmetro é, assim, um óptimo complemento da glicemia no diagnóstico e na monitorização da diabetes mellitus. O valor de hemoglobina glicada é expresso em percentagem em relação ao total de hemoglobina no organismo; um valor de 6,5% ou inferior indica que o doente diabético está a controlar eficazmente a sua glicemia. No entanto, é preciso ter em conta eventuais patologias que alteram as características dos eritrócitos e da hemoglobina, como as anemias e talassémias, que levam a uma renovação mais rápida dos eritrócitos, diminuindo o valor de HbA_{1c} obtido.⁽¹⁾

No aparelho de Bioquímica do laboratório, as amostras para análise da HbA_{1c} consistem em 1 mL de um reagente hemolisante e 25 μ L de sangue (amostra) ou de controlo.

1.5. Ionograma

O ionograma é a avaliação da concentração dos principais electrólitos encontrados no organismo. Os electrólitos são iões que existem nos fluidos corporais e que desempenham um papel fundamental no equilíbrio da distribuição dos volumes de água e dos próprios electrólitos pelos tecidos do organismo (equilíbrio hidro-electrolítico). Os electrólitos mais importantes para a regulação deste equilíbrio são o ião sódio, o ião potássio e o ião cloreto, e são esses os iões avaliados no aparelho de ionogramas existente no laboratório de Análises Clínicas da FFUC.

Procedimento para se fazer um ionograma

O aparelho do ionograma do laboratório mede a concentração electrolítica na amostra através do mergulho desta nos eléctrodos selectivos dos iões respectivos, cuja voltagem dependerá da concentração de iões na amostra. A voltagem do eléctrodo selectivo é comparada com a do eléctrodo de referência do aparelho, um eléctrodo de prata/cloreto de prata ($Ag/AgCl$). O aparelho dos ionogramas possui dois padrões de

calibração internos. Antes de se analisarem as amostras, deve utilizar-se uma solução de controlo. No laboratório estão disponíveis dois controlos, um normal (para concentrações normais e um para valores altos. O procedimento de medição do controlo e das amostras é igual: activa-se a função “Analyze Blood” do aparelho e mergulha-se o controlo/amostra no eléctrodo selectivo; depois escolhe-se a função “Probe in Blood” e o tubo que conduz ao eléctrodo aspira uma parte da solução para o aparelho. Como já foi dito, a voltagem do eléctrodo selectivo muda consoante a concentração electrolítica, e o detector de sinal do aparelho transforma a voltagem num valor de concentração que aparece no leitor do aparelho no fim da análise. O resultado é ainda impresso numa pequena impressora embutida na parte de cima do aparelho; no final, anota-se o número da amostra no papel, para identificar os resultados.

1.5.1. Ião sódio

O ião sódio (Na^+) é o catião extracelular mais abundante e é a partícula osmoticamente mais activa, pois regula a passagem entre compartimentos da água por osmose. O ião sódio é assim a partícula mais importante na regulação da osmolaridade dos fluidos do organismo. O sódio é absorvido no tracto gastrointestinal, e aquele que é filtrado nos glomérulos é depois reabsorvido. O excesso de sódio é eliminado na urina.

Quando há saída de sódio, há também saída de água do organismo, havendo alteração do volume de água nos compartimentos extracelulares. A diminuição da concentração plasmática de sódio é denominada hiponatremia. A hiponatremia pode ter várias causas: perda primária de sódio (diarreias); ingestão e/ou retenção excessiva de água (insuficiência cardíaca ou renal), havendo diluição dos compartimentos do organismo (hiponatremia dilucional); diurese osmótica com maior perda de sódio que de água (uso de diuréticos ou diarreias); síndrome da secreção inapropriada da vasopressina ou hormona antidiurética (SIADH). Pode ainda ocorrer uma pseudo-hiponatremia, em doentes com hiperproteinemia ou hiperlipidemia; a quantidade excessiva de proteínas/lípidos ocupa um maior volume de plasma e portanto a fracção aquosa do plasma, onde se encontra o sódio, é menor, o que pode dar um valor falsamente baixo de concentração plasmática de sódio. Os sintomas da hiponatremia podem ser hipotensão ortostática, tonturas, fraqueza generalizada e convulsões. ⁽¹⁾

A hipernatremia, isto é, uma concentração elevada de sódio no plasma, costuma ocorrer na desidratação, que leva à concentração do sódio do organismo, na diurese osmótica com maior perda de água que de sódio, na ingestão excessiva de sódio, no

aumento da secreção de aldosterona (hiperaldosteronismo primário) e mesmo em situações fisiológicas como a gravidez, em que as hormonas esteróides causam retenção de sódio. Os sintomas mais comuns da hipernatremia são secura das mucosas, febre, sede e cansaço. ⁽⁷⁾

I.5.2. Ião potássio

O ião potássio (K^+) é muito mais abundante no espaço intracelular que no extracelular, mas a pesquisa de disfunções envolvendo este ião é feita principalmente pela medição do potássio extracelular. Os problemas do organismo que envolvem o potássio são classificados com base da concentração plasmática deste ião, e não com base no seu aumento ou perdas. As necessidades de potássio do organismo são supridas pela dieta e o excesso é excretado na urina.

A diminuição da concentração do potássio no plasma chama-se hipocaliemia. A hipocaliemia pode ser causada por redistribuição do potássio nos compartimentos do organismo (movimento do ião para o interior das células), por uma pouca ingestão ou por perdas excessivas, renais ou extra-renais, por exemplo, uso de diuréticos ou perdas urinárias por hiperaldosteronismo (renal) ou sudorese excessiva, vômitos ou diarreia (extra-renal). A hipocaliemia severa afecta muitos dos sistemas do organismo, e pode levar a desordens neuronais e a arritmias cardíacas, que podem ser fatais. ⁽⁸⁾

A hipercalemia é um valor elevado de concentração de potássio no plasma. Uma consequência da hipercalemia é a acidose, isto é, o aumento da concentração de iões H^+ nos fluidos corporais. Uma alteração dos níveis de ião potássio ou hidrogénio causa a redistribuição do outro; no caso da hipercalemia os iões potássio difundem para dentro das células e isso causa a saída para o espaço extracelular dos iões H^+ para manter a neutralidade eléctrica no organismo.

A hipercalemia pode ocorrer por ingestão de potássio em excesso, diminuição da sua excreção por uso de espironolactona (diurético poupador de potássio, que elimina água mas não K^+) ou na doença de Addison (baixa secreção de aldosterona, que faz com que o rim não consiga excretar o potássio adequadamente). Os sintomas principais são fraqueza e paralisia muscular, bem como arritmias cardíacas. ⁽¹⁶⁾

I.5.3. Ião cloreto

O ião cloreto (Cl^-) é o anião mais abundante no organismo, sendo principalmente extracelular. Tal como o ião sódio, o ião cloreto é importante na regulação da pressão osmótica dos fluidos extracelulares. O cloreto é ainda importante na regulação do Ph do sangue e na formação de ácido clorídrico no estômago. A maior parte do ião cloreto no organismo humano é proveniente da dieta, e o excesso é eliminado na urina.

Um valor baixo de concentração sérica de cloreto (hipocloremia) ocorre em situações como vômitos, doença de Addison e acidose respiratória com alcalose metabólica. A hipercloremia, uma concentração elevada de cloreto no soro, é comum em casos de desidratação, diarreia severa (com forte eliminação de bicarbonato, compensada com o aumento do cloreto), hiperactividade adrenocortical (os esteróides adrenais aumentam a reabsorção tubular de cloreto) e acidose tubular renal com acidose metabólica e alcalose respiratória.⁽¹⁷⁾

1.5.4. Outros iões

Nesta secção referem-se os iões cujas concentrações são determinadas ao auto-analisador de Bioquímica e não no ionograma.

O ião **cálcio** (Ca^{2+}) é fundamental para processos biológicos como a coagulação sanguínea, transmissão de impulsos nervosos, actividade de várias enzimas e a contractilidade dos músculos. No soro o ião pode circular na forma livre (activa), complexado com aniões (como o fosfato) ou ligado a proteínas (albumina). Cerca de 99% do cálcio do organismo está, no entanto, localizado nos ossos. A concentração de cálcio no soro (calcemia) é regulada por hormonas: paratiróide (PTH), calcitriol (resultante do metabolismo renal da vitamina D) e calcitonina. A calcitonina inibe os osteoclastos, diminuindo a reabsorção óssea e a libertação de cálcio para o sangue. A PTH estimula os osteoclastos, aumentando a calcemia e promovendo a absorção intestinal de cálcio através da vitamina D. A diminuição dos níveis séricos de cálcio (hipocalcemia) estimula a secreção de PTH na paratiróide e de calcitriol nos rins, aumentando a reabsorção óssea e renal, o que leva à normalização da calcemia. Um aumento do cálcio no soro (hipercalcemia) pode dever-se a uma excessiva reabsorção óssea (osteoporose, hipertiroidismo) e a hipocalcemia pode dever-se ao hipoparatiroidismo ou à falta de vitamina D.⁽⁷⁾

O ião **fosfato** (PO_3^-) é importante para o metabolismo dos hidratos de carbono e é um constituinte de substâncias necessárias à vida como os fosfolípidos, ácidos nucleicos e ATP. Grande parte do ião está na forma de fosfato de cálcio nos ossos, o que está no sangue circula na forma inorgânica ou orgânica (ácido fosfórico, H_3PO_4). O metabolismo

deste ião relaciona-se com o do cálcio. A PTH provoca a excreção de ião fosfato na urina e a vitamina D aumenta a sua concentração sérica (fosfatemia). O hipoparatiroidismo e a hipervitaminose D podem levar a hiperfosfatemia, enquanto que o contrário leva à hipofosfatemia. ⁽⁷⁾

O ião **magnésio** (Mg^{2+}) é um catião predominantemente intracelular que funciona como activador de várias enzimas e ajuda a preservar a estrutura dos ácidos nucleicos. A maioria do magnésio encontra-se nos ossos; o resto está ligado a proteínas, iões (fosfato e citrato) e complexos moleculares. A homeostase do magnésio é principalmente regulada pela reabsorção tubular renal. A hipomagnesemia pode dever-se à sua má absorção (intestinal), diarreia, alcoolismo, pancreatite aguda e patologias renais, enquanto que a hipermagnesemia se pode dever a insuficiência renal crónica, desidratação ou ingestão em excesso de antiácidos com magnésio. ⁽⁷⁾

O **ferro** na forma de ião pode estar no estado férrico (Fe^{3+}) ou ferroso (Fe^{2+}). O ferro é essencial à vida por participar em processos vitais como a fosforilação oxidativa e o transporte de oxigénio aos tecidos. É um constituinte da hemoglobina e de várias enzimas. A homeostase do ferro é regulada pela absorção a nível do duodeno e jejuno, após redução ao estado ferroso pela acção do ácido ascórbico (vitamina C). Nas células, o ferro combina-se com a proteína de armazenamento apoferritina para formar ferritina. No sangue, a maioria do ferro está ligado à proteína transferrina, e a determinação do ião e da transferrina é necessária para o diagnóstico e monitorização de anemias ferropénicas. Aumentos na concentração sérica de ferro (hipersideremia) devem-se a anemia hemolítica ou perniciososa, hemocromatose e necrose hepatocelular com libertação das reservas de ferro; a hiposideremia pode ocorrer com má nutrição ou hemorragias. ⁽⁷⁾

I.6. Função pancreática

O pâncreas é um órgão fortemente vascularizado, com funções endócrinas e exócrinas. Do lado endócrino do pâncreas destacam-se a produção de insulina e glucagina, hormonas que regulam a glicemia (a insulina é hipoglicemiante e a glucagina é hiperglicemiante). A parte exócrina desempenha funções importantes de digestão dos componentes dos alimentos (hidratos de carbono, lípidos e proteínas) através da secreção das enzimas amilase, lipase e tripsina. No laboratório de Bioquímica avalia-se mais

frequentemente a função exócrina do que a endócrina. Para essa avaliação as enzimas mais utilizadas são a amilase e a lipase pancreáticas.

Existem várias disfunções exócrinas que alteram a frequência e/ou o nível da secreção das enzimas e a sua concentração sérica, das quais se podem destacar a pancreatite (aguda e crónica) e os carcinomas do pâncreas.⁽¹⁸⁾

1.6.1. Amilase

A amilase pancreática é uma das enzimas mais estáveis do organismo, e catalisa o metabolismo dos hidratos de carbono provenientes da dieta, nomeadamente o amido e o glicogénio.

A concentração sérica da amilase é de elevada importância no diagnóstico e seguimento da pancreatite aguda. No primeiro dia da doença, a sua concentração aumenta rapidamente (hiperamilasemia) e depois desce também rapidamente devido à sua excreção a nível renal. O valor do pico pode atingir quatro vezes o valor normal da enzima. No entanto, a amilase pancreática aumentada no soro não é uma consequência específica da pancreatite aguda; também aumenta em queimaduras, cetoacidose, doenças cardíacas, perfuração do duodeno e/ou insuficiência renal. Um valor persistentemente alto de amilase sérica (por 10 dias ou mais) é sugestivo de um pseudoquisto pancreático.⁽¹⁸⁾

Como a amilase é excretada na urina, é também de interesse avaliar a amilasúria e a clearance da amilase durante a pesquisa ou o seguimento de uma pancreatite aguda.⁽⁸⁾ A amilasúria aumenta cerca de 24 horas após o pico da amilasemia e mantém-se elevada por vários dias, o que torna a amilasúria útil no diagnóstico de doença pancreática, desde que a função renal esteja normal.

1.6.2. Lipase

O comportamento da concentração sérica da lipase pancreática em caso de doença do pâncreas é semelhante ao da amilase, aumentando as duas praticamente ao mesmo ritmo. No entanto, a diminuição que se segue após o pico sérico é mais lenta no caso da lipase, que assim se mantém elevada por mais tempo após o início da pancreatite aguda. Além disso, a lipasemia (concentração plasmática da lipase) aumenta em casos de hiperamilasemia de origem pancreática, mas mantém-se normal se o aumento da amilase não se dever a patologia do pâncreas. É assim uma enzima mais específica deste órgão. O

ideal seria fazer a medição de ambas as enzimas no soro para melhorar a qualidade do diagnóstico de pancreatite aguda. ⁽⁸⁾

I.7. Avaliação muscular

Para a avaliação da integridade muscular existe uma enzima, a creatina cinase (CK), que existe em grande concentração no citoplasma das células musculares e é libertada para a corrente sanguínea se estas células sofrerem uma ruptura. No músculo existem ainda outras enzimas e proteínas, mas no laboratório de Bioquímica a CK é a enzima mais utilizada para esta análise.

I.7.1. Creatina cinase

A creatina cinase (CK) é o marcador mais sensível de lesão muscular. O músculo esquelético é o tecido humano que contém a maior concentração de CK, muito superior à dos outros tecidos, embora também seja abundante no músculo cardíaco e cérebro. O organismo humano possui três isoformas da CK, obtidas a partir da combinação das subunidades M (*muscle*) e B (*brain*). As três isoformas são a CK-MM, a CK-MB e a CK-BB. O músculo esquelético contém principalmente CK-MM e alguns vestígios de CK-MB. No cérebro encontra-se apenas CK-BB, e no músculo cardíaco contém cerca de 40% de CK-MB, e 60% de CK-MM.

Danos nas células musculares causam a libertação da CK para o sangue e o aumento da sua actividade, e se esse aumento ocorrer numa parte significativa na CK-MB, pode estar adjacente a problemas cardíacos, nomeadamente o enfarte agudo do miocárdio e, em menor grau, angina de peito e insuficiência cardíaca. No entanto, a CK-MB também pode estar aumentada em situações que não envolvam o coração, como no pós-cirurgia aos músculos, em doenças neuromusculares crónicas e em crianças.

A actividade da CK também aumenta em casos onde está presente necrose ou regeneração do tecido muscular, como em várias doenças do músculo (miopatias).

A creatina cinase também aumenta no plasma em condições fisiológicas, nomeadamente após o exercício físico. Neste caso, atinge o pico cerca de um a dois dias após a actividade física. Quanto mais intenso for o exercício, maior o aumento da CK e mais tarde se verifica o pico de actividade. ⁽⁸⁾

2. Hematologia

A Hematologia é o ramo das ciências que se dedica ao estudo do sangue, incluindo os órgãos de desenvolvimento das partículas do sangue (órgãos hematopoiéticos) e as doenças do sangue. Na Hematologia enquadrada nas Análises Clínicas incluem-se o estudo da hemoglobina, das células sanguíneas, das proteínas do sangue, dos mecanismos de coagulação e da velocidade de sedimentação. Os aparelhos e testes do âmbito da Hematologia serão descritos nesta parte do relatório.

2.1. Sistema hematopoiético

A **hematopoiese** é o nome dado ao processo de formação, desenvolvimento e maturação dos elementos do sangue: eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Todas as células sanguíneas provêm de uma única célula estaminal (*stem cell*) comum omnipotente, e, de acordo com a influência de factores locais e humorais, essa célula estaminal diferencia-se em células pluripotentes linfóides (que vão dar origem aos linfócitos) e mielóides (que dão origem aos outros leucócitos, eritrócitos e plaquetas). A partir das células pluripotentes existem ainda várias etapas antes de se chegar às células maduras. Na figura da página seguinte está esquematizada a hematopoiese e as suas etapas para cada linhagem celular.

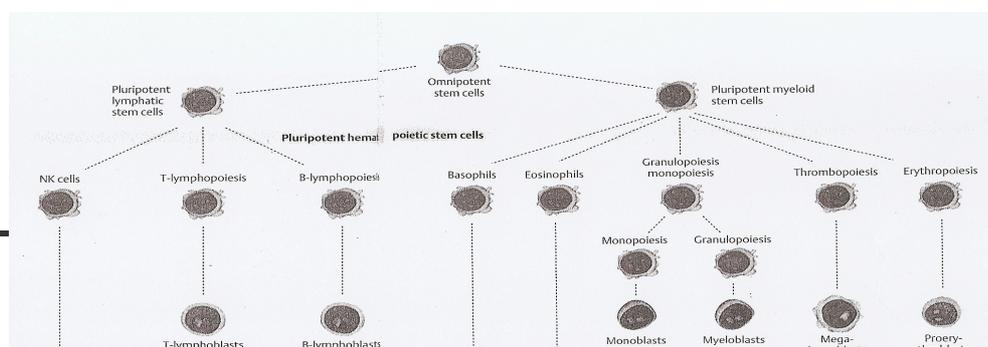


Figura 1. As várias linhagens das células sanguíneas. ⁽¹⁹⁾

Cada linhagem de células inclui precursores que se podem dividir (blastos) e formas maduras ou quase maduras que não se conseguem dividir. Os blastos encontram-se normalmente nos órgãos hematopoiéticos (medula óssea e nódulos linfáticos), mas podem encontrar-se em teoria também no sangue periférico porque não existe uma barreira bem definida entre a medula e o sangue, e os blastos só têm dificuldade em passar para o sangue devido á sua plasticidade limitada. ⁽¹⁹⁾

2.2. Células sanguíneas maduras

2.2.1. Neutrófilos

Os neutrófilos são glóbulos brancos (leucócitos) que, juntamente com os eosinófilos e os basófilos, pertencem ao grupo dos granulócitos. Possuem um núcleo muito segmentado e a sua função principal é a defesa do organismo contra bactérias. Fora do sistema vascular, nos tecidos inflamados, os neutrófilos fagocitam e lisam as bactérias. ⁽¹⁹⁾

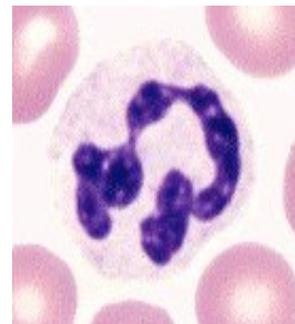
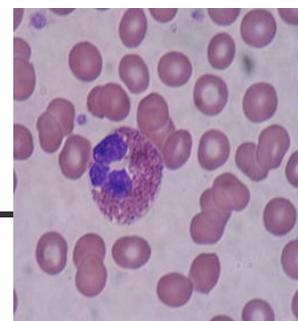


Figura 2.

2.2.2. Eosinófilos

Os eosinófilos são leucócitos granulócitos cujo nome se deve ao facto de serem acidófilos e corarem na presença do corante eosina, e cuja principal função é a defesa contra parasitas; eles têm uma acção



citotóxica contra os parasitas e os seus ovos e larvas. Os eosinófilos têm ainda um papel no controlo de reacções anafilácticas e auto-imunes, regulando a influência dos basófilos.

(19)

2.2.3. Basófilos

Os basófilos ou granulócitos basófilos têm este nome porque têm afinidade para corantes de pH básico. A principal função dos basófilos e dos seus equivalentes tecidulares (mastócitos) é regular a circulação através da libertação de substâncias como a histamina, a serotonina e a heparina. Estas substâncias aumentam a permeabilidade vascular em locais de forte actividade antigénica e por isso regulam a entrada nestes locais de outras células inflamatórias. (19)



Figura 4.

2.2.4. Monócitos

A função principal dos monócitos é a defesa do organismo contra bactérias, fungos, vírus e outros corpos estranhos. O método mais comum que os monócitos utilizam para desempenharem esta função é a fagocitose. Os monócitos também destroem as células do organismo que estão no seu fim de vida (como os eritrócitos). Fora da corrente sanguínea, os monócitos desenvolvem-se em histiócitos, e no endotélio desenvolvem-se em macrófagos. (19)

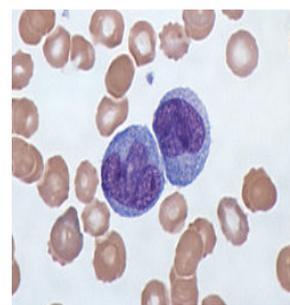


Figura 5.

2.2.5. Linfócitos

Os linfócitos dividem-se em três grupos principais de acordo com a sua função. Os linfócitos T (de timo, o órgão da sua maturação), cerca de 70% da população total de linfócitos, fazem a defesa local (imunidade celular) contra antígenos de corpos estranhos, e por sua vez dividem-se em linfócitos T *helper* e linfócitos T supressores. Os linfócitos B, de *bone marrow* (medula óssea, onde se dá a sua maturação), desenvolvem-se em plasmócitos, células secretoras de imunoglobulinas (anticorpos), e são responsáveis pela imunidade humoral contra vírus, bactérias e alérgenos. As células NK (*natural killer*) estão relacionadas com os linfócitos T e têm uma acção citotóxica directa. (19)



Figura 6.

2.2.6. Eritrócitos

Os eritrócitos ou glóbulos vermelhos são as células sanguíneas que transportam o oxigénio, ligado à hemoglobina, para os órgãos e tecidos do corpo, e a partir destes transportam o dióxido de carbono em direcção aos pulmões. São, assim, extremamente importantes para a realização das trocas gasosas. O facto de serem células anucleadas permite-lhes otimizar essa função visto que assim conseguem ligar um maior número de moléculas de oxigénio. A sua forma bicôncava fornece-lhes uma elevada plasticidade. ⁽¹⁹⁾

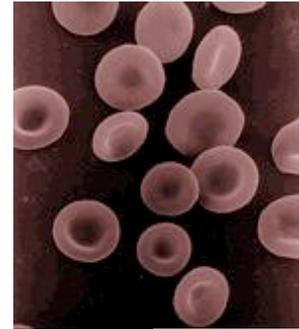


Figura 7.

2.2.7. Plaquetas

As plaquetas ou trombócitos formam agregados que, juntamente com os factores de coagulação humorais, tapam as lesões vasculares impedindo a saída de sangue em excesso. As plaquetas, durante a coagulação, ainda libertam factores que promovem esse mecanismo. As plaquetas desenvolvem-se a partir dos megacariócitos na medula óssea. São as porções nucleadas e citoplasmáticas destas células progenitoras. ⁽¹⁹⁾

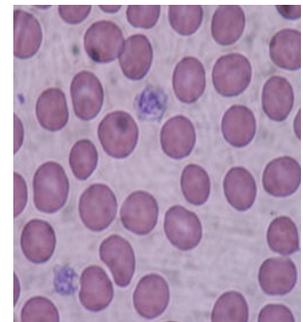


Figura 8.

2.3. Hemograma

Um hemograma é um teste que fornece informações quantitativas e qualitativas sobre as características das células sanguíneas de um indivíduo. Os parâmetros do sangue que são estudados num hemograma são:

- hemoglobina total;
- hematócrito;
- volume globular médio (VGM);
- hemoglobina corpuscular média (HCM);
- concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM);
- distribuição dos glóbulos vermelhos (RDW);
- contagem de eritrócitos;
- contagem de leucócitos;
- valor absoluto e percentagem de cada um dos tipos de leucócitos;

- contagem de plaquetas;
- presença de células estranhas ou precursores (como os reticulócitos) no sangue.

Um hemograma é assim extremamente útil para determinar se um indivíduo possui alguma patologia relacionada com o sangue, nomeadamente uma anemia ou leucemia, pois um ou mais parâmetros fora dos valores de referência pode indicar um problema relacionado com o desenvolvimento e maturação das células sanguíneas. No caso de o indivíduo ter uma doença sanguínea diagnosticada, torna-se importante a realização periódica de hemogramas para a monitorização e o controlo da doença. O hemograma é o teste mais importante e mais frequentemente pedido no âmbito da Hematologia em Análises Clínicas. ⁽¹⁹⁾

Procedimento para um hemograma

Obviamente, para se realizar um hemograma é necessária uma colheita de sangue, que pode ser feita no posto de colheitas ou no próprio laboratório, se for um pedido mais urgente. Como os resultados dos hemogramas são afectados pela circulação do sangue, as condições de colheita devem ser idealmente as mesmas em todas as colheitas, para se terem resultados comparáveis. Isso significa que o sangue deve ser colhido sempre à mesma hora e após um jejum de pelo menos oito horas, porque o estado nutricional também influencia os resultados.

Pode ser colhida uma pequena amostra de sangue a partir dos capilares. A primeira gota de sangue deve ser descartada por possível contaminação, e não se deve exercer demasiada pressão no tecido do qual se está a colher o sangue, porque isto também pode alterar a composição da amostra.

Após a colheita, o sangue é transferido para um tubo identificado com um tampa roxa e contendo uma pequena dose do anticoagulante EDTA (a cor da tampa identifica o anticoagulante presente) e o tubo é agitado com cuidado, para prevenir a coagulação accidental. A quantidade de EDTA no tubo não deve interferir com a análise da amostra.

Se o utente fez a colheita no posto, o tubo deve ser conservado no frio e transportado imediatamente para o laboratório para análise; se o sangue foi colhido no laboratório e se destina a ser analisado na hora, não é preciso conservá-lo.

No laboratório de Análises Clínicas da FFUC, o aparelho destinado para os hemogramas é um contador de células Coulter MaxM acoplado a um computador, que pode fazer a análise de modo automático (preferencialmente) ou manual.

O Coulter MaxM realiza a identificação e as contagens de células através de um método de impedância e da tecnologia VCS (Volume, condutividade e *scatter*):

- O aparelho utiliza o princípio da impedância para medir com precisão o volume físico que as células ocupam num diluente isotónico (volume);

- Utiliza uma corrente alternada com energia suficiente para penetrar as células e fornecer informação sobre o seu conteúdo (condutividade);

- Utiliza um raio laser que ao atingir as células sofre uma dispersão (*scatter*), e através de detectores obtém sinais sobre o ângulo de *scatter* para obter informação sobre a granularidade, a lobularidade dos núcleos e a estrutura da superfície celular.

No fim da análise, o computador manda imprimir os resultados. Na folha de resultados são referidos: gráficos com a distribuição de cada tipo de células, a presença de eventuais células precursoras e os parâmetros da lista acima (pág. 36), com as eventuais indicações de valores fora da referência ou de amostra sem condições ideais para análise (por exemplo, por estar coagulada). Às vezes existem erros na contagem automática e por isso tem de se recorrer ao método manual, fazendo-se a aspiração do sangue através de um tubo metálico presente no aparelho.

2.3.1. Parâmetros do hemograma

Nesta secção estão referidas características dos parâmetros nomeados na lista da página 35.

a) Hemoglobina

A hemoglobina ou Hb é a proteína dos eritrócitos que liga o oxigénio e também o dióxido de carbono e os transporta ao longo do organismo. É composta por quatro subunidades de globina e um grupo central que contém um ião Fe^{2+} ou Fe^{3+} ao qual se dá o nome de heme. Na análise pelo aparelho automático, a hemoglobina é oxidada a cianometá-hemoglobina pela adição de cianeto, e é este último composto que é determinado por espectrofotometria. Um valor baixo de hemoglobina pode indicar que a amostra provém de um doente com anemia. ⁽¹⁹⁾

b) Hematócrito

O hematócrito é a proporção do volume total de eritrócitos em relação do volume total do sangue. No aparelho do hemograma, o hematócrito é calculado da seguinte forma: o aparelho determina o volume globular médio (VGM) dos eritrócitos e o número total

destes; depois multiplica o valor do VGM pelo número de eritrócitos para obter o hematócrito. No aparelho o hematócrito é expresso num valor entre 0 e 1, mas também pode ser expresso em percentagem. Um hematócrito baixo pode significar a presença de uma hemorragia ou uma eritropoiese comprometida por falta de ferro. Um valor alto pode dever-se a eritrocitose, desidratação, hipoxia ou doença cardíaca. ⁽¹⁹⁾

c) Volume globular médio

O volume globular médio (VGM) é uma medida do tamanho médio dos eritrócitos e a sua determinação pode dar ao clínico informações sobre o estado da eritropoiese num determinado indivíduo. O VGM é determinado directamente pelo aparelho automático, ou pode ser calculado dividindo o hematócrito pelo número total de eritrócitos. ⁽¹⁹⁾

d) Hemoglobina corpuscular média

A hemoglobina corpuscular (ou globular) média (HCM) é uma medida que define, tal como o VGM, a qualidade dos eritrócitos. É utilizada para pesquisar certos tipos de anemias. Também é determinada automaticamente ou pode ser calculada dividindo o valor da hemoglobina pelo número de eritrócitos. ⁽¹⁹⁾

e) Concentração da hemoglobina corpuscular média

A CHCM é uma medida da concentração de hemoglobina num dado volume de eritrócitos. Um valor baixo significa que o sangue provém de um doente com anemia microcítica (eritrócitos pequenos), enquanto que nas anemias macrocíticas (eritrócitos grandes), embora o valor total de Hb esteja alto, a sua concentração média mantém-se normal. Uma CHCM alta está associada a anemia falciforme. A CHCM é determinada automaticamente ou calculada dividindo a concentração de hemoglobina pelo hematócrito. ⁽¹⁹⁾

f) Distribuição do volume dos glóbulos vermelhos

A distribuição do volume dos eritrócitos (*Red cell distribution width*, RDW) é um coeficiente de variação dos eritrócitos com base no seu volume. Calcula-se através da divisão do desvio-padrão pela média do volume dos eritrócitos e multiplica-se o resultado por 100, ou então é calculado automaticamente pelo aparelho. Um valor de RDW alto indica que os glóbulos vermelhos têm volumes muito variáveis entre si (anisocitose), enquanto que um valor baixo ou normal dá pouca informação clinicamente importante sobre o volume dos eritrócitos. ⁽¹⁹⁾

g) Contagem de eritrócitos

Seguindo o princípio da impedância e o princípio VCS, o aparelho Coulter faz a contagem de células sanguíneas de um modo totalmente automático, a não ser que surjam erros nesse método; nesse caso a contagem é manual. A contagem de eritrócitos diz respeito ao número total de eritrócitos existente numa amostra de sangue. O valor é normalmente referido em número de células/litro.

As mulheres têm normalmente um número de eritrócitos inferior aos homens, especialmente após a puberdade, devido ao sangue perdido nas menstruações e à maior concentração de androgénios (estimulantes da eritropoiese) em homens.

Por definição, um número de eritrócitos abaixo do intervalo de referência significa que o indivíduo sofre de uma anemia. Esta diminuição leva à queda também da hemoglobina e do hematócrito.

O Coulter também consegue, além de contar, analisar a forma e o tamanho dos eritrócitos. Por definição, uma variabilidade acima da média no tamanho dos eritrócitos chama-se anisocitose, e uma variabilidade acima da média na forma destes (que normalmente têm a forma de disco bicôncavo) chama-se poiquilocitose. Estes dois casos são mais frequentes em anemias com deficiência de ferro, em períodos de eritropoiese estimulada ou quando os eritrócitos sofrem danos graves. ⁽²⁰⁾

h) Contagem de leucócitos

Na câmara de contagem de leucócitos existem reagentes hemolisantes que destroem os eritrócitos, que iriam de outra forma interferir com a contagem dos glóbulos brancos. As células que passem pela câmara e que tenham um diâmetro superior a um certo valor (variável de acordo com o fabricante do aparelho) são contadas como leucócitos. Eventuais plaquetas gigantes, células precursoras ou eritrócitos resistentes à lise são contados como leucócitos, o que origina uma sobreestimação do número destes.

Os feixes laser da câmara conseguem ainda distinguir, dentro dos leucócitos, quais são neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos (contagem diferencial de leucócitos). O auto-analisador do laboratório determina o valor absoluto, percentagem e distribuição do volume e tamanho dos leucócitos; esses parâmetros são expressos na folha de resultados. No gráfico da distribuição, os eixos indicam o número e o tamanho das células e o analista clínico consegue identificar o tipo de leucócitos com base na posição do gráfico em que se encontram.

Para classificar um número baixo de células (no geral ou de um certo tipo), usa-se o sufixo –penia. Por exemplo, neutropenia define um número baixo de neutrófilos. Para um valor alto, usa-se o sufixo –citose: leucocitose refere-se a um número elevado de leucócitos. ^(19,21)

i) Contagem de plaquetas

Num contador automático de células sanguíneas, estas são separadas por tamanhos antes de serem contadas. As células mais pequenas (os tamanhos de referência variam com o fabricante) são geralmente consideradas plaquetas. Um valor baixo de plaquetas (trombocitopenia) sugere um risco elevado de hemorragia e é muito comum em indivíduos alcoólicos (Hoffbrand, Victor A. et al., *Colour Atlas of Clinical Hematology*, 4ª edição, Elsevier, 2010). No entanto, pode estar-se na presença de uma pseudotrombocitopenia, causada pela agregação de plaquetas ou pela presença de plaquetas gigantes; se o valor das plaquetas for demasiado baixo e inesperado, deve-se tirar as dúvidas pela visualização microscópica da morfologia das células sanguíneas através da realização de um esfregaço. ⁽¹⁹⁾

2.4. Análise da morfologia do sangue – esfregaço

Se o resultado do hemograma indicar a presença de células precursoras, nomeadamente reticulócitos (precursores dos eritrócitos que mantêm algumas bandas de RNA no centro), ou se um ou mais parâmetros estão sistematicamente alterados e/ou dúbios, deve fazer-se um esfregaço sanguíneo (às vezes, a própria folha de resultados sugere a realização de um). Um esfregaço consiste na colocação entre lâmina e lamela de uma gota de sangue, no espalhar do sangue pela lâmina com a lamela e na observação do sangue ao microscópio.

O esfregaço começa com a colocação de uma gota de sangue numa margem da lâmina utilizando um tubo capilar. De seguida coloca-se uma lamela em cima da lâmina e puxa-se para trás até contactar com a gota, fazendo um ângulo de cerca de 30° com a lâmina. Deixa-se que toda a parte inferior da lamela fique coberta de sangue e por fim movimenta-se a lamela ao longo da lâmina sem exercer pressão nela (ver figura), de modo a que o sangue cubra toda a zona central da lâmina, com uma densidade cada vez menor à medida que nos afastamos do local onde a gota foi colocada. Quanto maior for o ângulo e quanto mais rapidamente se movimentar a lamela, mais fino é o esfregaço. ⁽¹⁹⁾

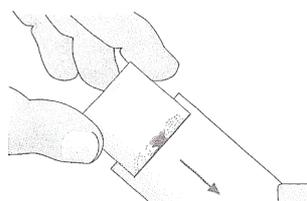


Figura 9. Preparação de um esfregaço sanguíneo. ⁽¹⁹⁾

De seguida, passa-se à fixação e coloração do esfregaço, para que este possa ser observado ao microscópio. A fixação, que melhora a qualidade do esfregaço, é feita com uma solução de metanol que se deixa actuar na preparação durante 3 minutos. De seguida procede-se à coloração, que é feita com uma mistura de corantes básicos e ácidos para permitir a visualização de substâncias como ácidos nucleicos (presentes nas células precursoras como os reticulócitos) ou granulações. Primeiro utiliza-se a solução de May-Grünwald (mistura de azul de metileno com eosina), que se deixa actuar por 2 minutos; depois usa-se o corante de Giemsa (*azure* e eosina) que deve actuar durante 15 minutos. Após esse tempo, lava-se a lâmina com uma solução tampão e deixa-se secar a preparação. Depois de seca, pode então observar-se ao microscópio.

O esfregaço deve começar por visualizar-se com uma objectiva de pouca ampliação (10x) para ajudar o técnico a avaliar a densidade de células e a encontrar a melhor área para a contagem de células. Quando se encontra algo de suspeito, deve passar-se para uma objectiva de maior ampliação (40x); a análise cuidada dos leucócitos é feita com óleo de imersão e a objectiva de 100x. A contagem de células deve ser feita numa área onde o esfregaço tenha uma densidade celular média, pois caso contrário pode haver uma sub- ou sobreestimação do número de células, o que pode levar a um diagnóstico errado por parte do médico. Segundo as regras do laboratório, devem observar-se pelo menos dez campos da preparação e contar as células em cada um. Para isso, o laboratório dispõe de contadores próprios, com botões para cada tipo de células, nos quais o observador deve carregar quando observa uma célula de cada tipo (por exemplo, se ver um linfócito, deve carregar no botão próprio dos linfócitos, e o número de linfócitos observado é registado no mostrador).

As fotografias a cores nas páginas 34, 35 e 36 mostram imagens de cada um dos tipos de células que são mais comumente encontradas em esfregaços.

O esfregaço sanguíneo é mais um método usado em Hematologia como meio complementar de diagnóstico de eventuais doenças do sangue e das suas células. ⁽¹⁹⁾

2.5. Anemias

Por definição, chama-se anemia a uma situação na qual o número de eritrócitos no sangue está abaixo do valor de referência. Este facto arrasta consigo também a hemoglobina e o hematócrito para valores baixos.

Existem vários tipos de anemias, e estas são classificadas com base no valor de HCM: se for baixo, diz-se que a anemia é hipocrómica; se normal, normocrómica, e se alto, hipercrómica. A maioria das anemias são hipocrómicas e causa mais comum destas é a falta de ingestão de ferro na dieta. Nestas anemias, os eritrócitos costumam aparecer pálidos, apenas com uma zona fina de hemoglobina na superfície, dando-lhes um aspecto de anel. Nas anemias hipocrómicas os eritrócitos costumam aparecer pequenos (VGM baixo), e quando isso acontece a anemia é classificada como microcítica. A anemia microcítica é normalmente resultado de uma deficiente síntese de hemoglobina, que se pode dever à falta de ferro. A causa mais comum de falta de ferro é a perda gastrointestinal através de uma hemorragia. Ao princípio a anemia assim causada é normocrómica mas com o tempo, se não for resolvida, passa a hipocrómica.

Em doenças como tumores ou doenças inflamatórias ou auto-imunes grande parte do ferro é desviado da síntese de heme e por isso ocorre uma anemia secundária.

Uma forma especial de anemia hipocrómica pode ocorrer em indivíduos com contagem de eritrócitos normal e sem falta de ferro, na qual há a síntese de uma hemoglobina alterada (HbA₂) que não transporta o oxigénio. Esse tipo de anemia chama-se talassémia.

Dentro das anemias normocrómicas, a maioria costuma ocorrer por uma lise excessiva dos eritrócitos com redução do seu tempo de vida, sem compensação por maior produção destas células: anemias hemolíticas. Nestas anemias, devido à tentativa de compensação pela medula, o número de reticulócitos aumenta bastante.

Em doentes com sinais notáveis de anemia (palidez nas mucosas, perda de sensações) a anemia é normalmente macrocítica e hipercrómica e deve-se à falta de vitamina B12 e/ou folatos, muitas vezes por diminuição da sua absorção (a vitamina B12 requer um factor, o factor intrínseco, para ser absorvida; sem ele isso não ocorre). A forma mais comum de anemia macrocítica é a anemia megaloblástica, que resulta também da diminuição da síntese de ácidos nucleicos (devido à falta de vitamina B12 e folatos) que leva ao crescimento das células em divisão, resultando num aumento das células precursoras e do seu tamanho. Nos indivíduos alcoólicos é comum existir uma anemia macrocítica. ^(19, 21)

2.6. Coagulação

Quando ocorrem danos nos vasos sanguíneos, tem de se prevenir a perda de grandes quantidades de sangue para impedir a falência dos órgãos do corpo humano. A coagulação tem um papel extremamente importante nesse processo (hemostase). O processo da coagulação desenvolve-se por várias fases (a **cascata da coagulação**) e o produto final é um coágulo estável constituído pela proteína fibrina. A cascata da coagulação envolve vários **factores de coagulação**, muitos dos quais são enzimas sintetizadas pelo fígado e que normalmente circulam no sangue num estado inactivo. A maioria dos factores de coagulação são designados por numeração romana, seguindo a ordem a qual eles foram descobertos. Os iões cálcio (Ca^{2+}) têm também um papel importante na coagulação, e o uso de quelantes de cálcio como o EDTA serve para inibir o processo. ⁽²²⁾

Vias da cascata de coagulação

O processo de coagulação divide-se em duas vias principais: **intrínseca** e **extrínseca**. Cada uma das vias leva à formação de um coágulo de fibrina, mas em circunstâncias diferentes, e as últimas fases da cascata de coagulação são comuns às duas vias.

A via intrínseca inicia-se quando o sangue entra em contacto com superfícies com carga negativa e pela activação do factor XII de coagulação com uma superfície exposta, como o colagénio da matriz subendotelial. Por esta razão, a via intrínseca também é conhecida por via de activação por contacto. A activação do factor XII requer vários cofactores.

A via extrínseca requer a presença do factor tromboplastina tecidual (factor III ou factor tecidual), um componente que é libertado das lesões dos tecidos mas que não existe no sangue (daí a via se chamar extrínseca).

Para a activação de ambas as vias de coagulação são ainda necessários fosfolípidos.

Estas duas vias têm muitos pontos de interacção entre elas e para o processo de hemostase ficar concluído não pode ser activada apenas uma das vias. No entanto, apesar da forte ligação entre elas, as duas vias são estudadas em separado porque os testes analíticos sobre coagulação realizados em laboratório avaliam as duas vias separadamente: há o teste do **tempo parcial de tromboplastina** (TPP) para a via intrínseca e o **tempo de protrombina** (TP) para a via extrínseca.

Na fase final do processo de coagulação, as duas vias juntam-se formando uma via comum, que começa a seguir à conversão do factor X (protrombinase), inactivo, à sua forma activa Xa. O factor X é activado de forma diferente na via intrínseca e na via extrínseca. A activação do factor X leva à conversão da protrombina em trombina, uma enzima que catalisa a transformação do fibrinogénio em fibrina. A trombina aumenta a actividade dos factores V e VIII, acelerando as vias de coagulação, e é um forte estímulo para as plaquetas e células endoteliais, ajudando-as a formar coágulos temporários que antecedem na hemostase a formação do coágulo de fibrina definitivo.

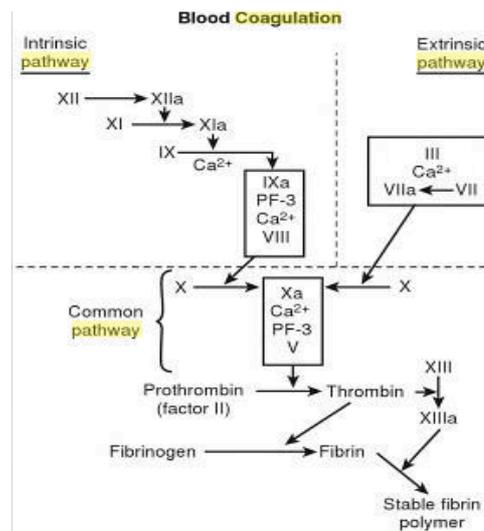


Figura 10. As várias fases da coagulação do sangue. ⁽²²⁾

A interação dos factores de coagulação ocorre principalmente à superfície das células endoteliais e plaquetas, e embora o sangue possa coagular sem haver contacto com estas superfícies, as interações entre os factores aumentam bastante a extensão das reacções de coagulação. ⁽²²⁾

2.6.1. Testes analíticos de coagulação

a) Tempo de protrombina

A determinação do tempo de protrombina (TP) avalia a via extrínseca da coagulação. O TP é medido em segundos e representa o tempo que uma amostra de plasma demora a coagular na presença de tromboplastina (factor III) e de cloreto de cálcio. No laboratório de Análises Clínicas da FFUC, o teste é efectuado num aparelho Option 4 Plus da Biomérieux e requer a adição ao tubo de plasma de uma pequena esfera metálica para proporcionar o contacto com o plasma, seguida de 100 µL da amostra, que é incubada por

dois minutos. Após esse tempo, adicionam-se 200 µL da mistura de tromboplastina e cloreto de cálcio, e o tempo começa a contar com a adição desta mistura.

Um TP superior a 11-13 segundos indica falta de protrombina ou outros factores que a afectem. Para resolver o problema do uso de tromboplastinas diferentes pelos vários laboratórios, os resultados dos doentes são normalizados com base num valor de referência, o ISI (Índice de Sensibilidade Internacional) e referem-se na forma de uma razão normalizada internacionalmente (**INR**, *International Normalised Ratio*), calculada a partir do ISI. Quanto mais alto for o valor do INR, mais afectada está a coagulação do doente e maior o risco de hemorragias. O resultado do teste também é referido, para além do tempo e do INR, em percentagem de actividade da protrombina, que em pessoas saudáveis deve rondar os 100%.

O teste do TP é uma prova de avaliação da coagulação e ao mesmo tempo uma prova que avalia a função hepática.

Um doente com TP/INR elevado, que toma anticoagulantes e que vai ter uma cirurgia em breve deve ver o seu TP/INR normalizado antes da cirurgia, o que é normalmente feito com injeções de vitamina K (pró-coagulante).⁽²²⁾

b) Tempo parcial de tromboplastina

Este teste, também chamado de tempo parcial de tromboplastina activada (TPTa), é utilizado para analisar a eficácia da via intrínseca. O TPT mede o tempo de coagulação do plasma a partir da activação do factor XII por um reagente comercial (TriniClot PTT®) através da formação de um coágulo de fibrina. O teste realiza-se no mesmo aparelho do TP, e requer uma esfera metálica para proporcionar uma superfície de contacto, depois adicionam-se ao tubo 100 µL da amostra, incuba-se durante 5 minutos com 100 µL do reagente (que contém sílica micronizada e fosfolípidos) e depois desse tempo adicionam-se 100 µL de cloreto de cálcio. O tempo começa a contar aquando desta adição.

O intervalo de referência situa-se entre os 25 e os 38 segundos e se o resultado do doente estiver fora do intervalo, devem ser feitos outros testes para identificar a origem do problema da coagulação.

O TPT é utilizado para monitorizar doentes medicados com heparina, um anticoagulante injectável que é muito utilizado em doentes com risco de doença cardíaca. A dose de heparina deve ser aquela que mantém o TPT entre 1,5 e 2,5 vezes superior aos valores médios normais do doente.⁽²²⁾

2.7. Velocidade de sedimentação dos eritrócitos

O teste da velocidade de sedimentação dos eritrócitos (abreviado como VS) é um teste hematológico feito quase diariamente em laboratório. A VS não é específica de uma doença específica mas é utilizada como um indicador de um processo inflamatório ou de uma lesão tecidual. A VS é ainda usada para monitorizar as doenças inflamatórias e o seu tratamento.

O teste baseia-se no princípio da sedimentação, o processo no qual partículas sólidas se acumulam no fundo de um recipiente contendo um líquido. Num tubo contendo uma amostra de sangue total colhido com citrato trissódico na proporção de 1:4, mantida estável durante uma hora, os eritrócitos separam-se gradualmente do plasma e agregam-se. A velocidade de sedimentação é a velocidade à qual os eritrócitos se separam do plasma e se agregam, em condições laboratoriais controladas.

Para fazer o teste, coloca-se uma amostra de sangue total numa pipeta calibrada e graduada em milímetros, contendo o anticoagulante citrato trissódico (o tubo contém uma tampa preta, que identifica o anticoagulante) e insere-se nesse tubo um outro, com uma escala calibrada, e que contém um êmbolo que, ao puxar, arrasta consigo o sangue do tubo. Deve puxar-se o êmbolo até o sangue estar na posição zero do tubo calibrado, e depois deixa-se o sangue incubado na posição vertical durante exactamente uma hora. Após esse tempo, mede-se a distância (em milímetros) na qual os eritrócitos caíram e se separaram do plasma, e essa distância é a velocidade de sedimentação. ⁽²³⁾

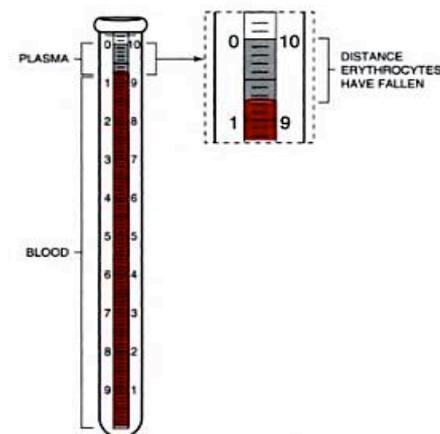


Figura 11. Como medir a velocidade de sedimentação dos eritrócitos. ⁽²³⁾

Factores que afectam a VS

a) Doenças

Em pessoas saudáveis, os eritrócitos sedimentam lentamente, portanto a VS é baixa. Num indivíduo com doença inflamatória, a VS é elevada, em muitos casos proporcionalmente à gravidade da doença. Isto porque o aumento da concentração de proteínas no plasma decorrente da inflamação leva a alterações nas cargas à superfície dos eritrócitos (que normalmente são negativas e impedem que as células se agreguem com as proteínas, também de carga negativa) que fazem com que aumente a atracção entre as células, que assim sedimentam mais depressa. (ver alínea b)

Exemplos de doenças inflamatórias nas quais a VS é alta são: febre reumática, artrite reumatóide e lúpus eritematoso. No entanto, é de notar que este não é um teste específico e não serve para o diagnóstico de doença; é mais usado para monitorizar a doença ou o tratamento e para detectar inflamação na presença de uma leucocitose. Outras situações nas quais a VS pode estar elevada são a tuberculose, infecções agudas ou crónicas, linfoma de Hodgkin, cancro e mieloma múltiplo. A anemia também pode aumentar a VS sem que haja inflamação, e esta pode estar elevada em situações fisiológicas como a gravidez, devido à menor contagem de eritrócitos ou maior quantidade de fibrinogénio no plasma.

b) Propriedades do plasma

A VS é afectada pelas proteínas do plasma, porque estas influenciam a formação de agregados de eritrócitos chamados **rouleaux**, nos quais as células se juntam, obtendo-se formas semelhantes às de pilhas de moedas. Os *rouleaux* levam a um aumento da massa efectiva dos eritrócitos e, portanto, da sua velocidade de sedimentação. Quanto maior for a concentração de proteínas no plasma (por exemplo, fibrinogénio, proteínas de fase aguda ou outras globulinas), maior a tendência para se formarem *rouleaux* e maior é a VS. ⁽²³⁾

c) Propriedades dos eritrócitos

O tamanho, forma e número dos eritrócitos também influencia o valor da VS. Células macrocíticas (maiores) sedimentam mais depressa que as normais ou microcíticas, devido à sua maior massa.

Na anemia falciforme, na qual os eritrócitos ficam distorcidos, estes não conseguem agregar e portanto não sedimentam ou fazem-no muito lentamente: a VS é próxima de zero. Células esferocíticas (em forma de esfera) também sedimentam devagar.

Em anemias, como existem menos eritrócitos no sangue, a sua VS é maior. Pelo contrário, na policitemia a quantidade de eritrócitos é maior e isso faz com que a VS diminua. Assim, em pessoas com VS elevada é importante avaliar o hematócrito e/ou a quantidade de eritrócitos para ver se a VS alta se deve a anemia ou a outras causas. ⁽²³⁾

d) Factores técnicos

Factores como a posição do tubo, a temperatura, o tempo de sedimentação e eventuais vibrações, bem como outros, podem ser uma fonte de erros:

- O tubo deve estar numa posição estritamente vertical; inclinações, mesmo que mínimas, podem aumentar o valor obtido;
- As vibrações no local do teste devem ser reduzidas ao mínimo porque estas também levam ao aumento da VS;
- A temperatura da sala deve manter-se constante entre os 20 e 25°C; temperaturas baixas levam as células a sedimentar mais lentamente;
- O tempo de duração do teste deve ser exactamente uma hora; a VS aumenta se se prolongar o teste;
- Devem usar-se tubos estandardizados, pois o diâmetro e comprimento do tubo afectam a VS. ⁽²³⁾

Outras áreas

No estágio também tive a oportunidade de trabalhar em outras duas valências das Análises Clínicas: Imunologia e Microbiologia. Nesta secção vou descrever sucintamente o que se faz nestas áreas.

A nível da Imunologia existe uma enorme variedade de parâmetros que são analisados, desde a pesquisa de anticorpos e antígenos virais, parasitários e outros (por exemplo, anticorpos antitiroideos) ao doseamento de hormonas, passando pela determinação de marcadores tumorais. O laboratório possui inúmeros aparelhos e técnicas do âmbito da Imunologia, dos quais o maior é o VIDAS® da Biomérieux, onde se fazem testes imunoenzimáticos com base em reacções de fluorescência, desde a pesquisa de material viral e parasitário (vírus das hepatites, HIV, anticorpos da toxoplasmose, citomegalovírus) até ao doseamento de hormonas, principalmente as sexuais (progesterona, testosterona, estradiol entre outras) mas também outras, nomeadamente as hormonas da tiróide. Existem ainda outros testes não feitos no VIDAS®, mas que

servem também para o diagnóstico laboratorial de várias doenças; a maioria desses testes é baseada na aglutinação antigénio-anticorpo.

A nível da Microbiologia, o trabalho mais importante feito no laboratório foi a inoculação de variados meios de cultura e crescimento de bactérias. A principal parte do trabalho feito por mim nesta área incidiu sobre a identificação bacteriana, que possui várias fases que incluem a realização de uma coloração de Gram para avaliar a morfologia e a reacção tintorial das bactérias, o teste da urina tipo II para a pesquisa de bactérias ou de produtos do seu metabolismo na urina, e a já referida inoculação de meios de cultura. No laboratório só se trabalhou com meios sólidos (sendo o mais importante o meio CPS3), embora nas aulas do Mestrado também se tenham usado meios líquidos (caldos). Outras tarefas da área de Microbiologia incluem a pesquisa de sangue oculto nas fezes e a pesquisa, usando testes próprios, de parasitas nas fezes, através de reacções enzimáticas realizadas em tiras próprias. Infelizmente, o laboratório onde estagiei não é muito apetrechado em aparelhos da área da Microbiologia e por isso esta foi a área à qual dediquei menos tempo no estágio.

Conclusão

A frequência do Mestrado em Análises Clínicas e a realização de um estágio num laboratório da especialidade foram sem dúvida fundamentais para a minha realização pessoal, visto que eu espero no futuro obter um emprego nesta área. O Mestrado permitiu-me adquirir vários conhecimentos que depois foram aplicados no trabalho de laboratório durante o estágio e que me vão ser muito úteis durante a vida profissional, se conseguir, como desejo, arranjar emprego nesta área. O estágio ajudou-me imenso a aplicar as bases teóricas das Unidades Curriculares do Mestrado e a correlacionar esses conhecimentos entre si, ajudando-me ainda a saber interpretar e a ter espírito crítico na altura em que se obtém um resultado laboratorial.

O estágio também fez com que eu ficasse consciente da enorme responsabilidade que cai sobre os funcionários de um laboratório de Análises Clínicas, sobretudo no que toca ao cumprimento das regras da Qualidade internas e externas durante as fases de um processo analítico.

Em suma, através do Mestrado e do estágio consegui atingir o principal objectivo que tinha quando me inscrevi: adaptar-me com sucesso ao ambiente de um laboratório de Análises Clínicas, quer em termos de conhecimentos teóricos adquiridos quer em termos do trabalho prático de laboratório.

Bibliografia

1. Gaw, Allan, *Clinical Biochemistry: An Illustrated Colour Text*, Elsevier Health Sciences, 2008
2. Siegenthaler, Walter, *Differential Diagnosis in Internal Medicine: From Symptom to Diagnosis*, Thieme, 2007
3. Kuntz, Erwin et al., *Hepatology: Textbook and Atlas*, Springer, 2008
4. Schiff, Eugene R. et al., *Schiff's Diseases of the Liver*, John Wiley & Sons, 2011
5. Lehman, Thomas J.A., *A Clinician's Guide to Rheumatic Diseases in Children*, Oxford University Press, 2009
6. Chatterjea, *Clinical Chemistry*, Jaypee Brothers Publishers, 2004
7. Vasudevan, D. M., *Textbook of Biochemistry for Medical Students*, JP Medical Ltd., 2010
8. Marshall, William J. et al., *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*, 2008
9. Venkat, K.K., *Proteinuria and Microalbuminuria in Adults: Significance, Evaluation and Treatment*, Southern Medical Journal, Vol. 97, nº 10, Outubro 2004, págs. 969-979 (artigo)
10. Maheshwari, Nanda, *Clinical Biochemistry*, Jaypee Brothers Publishers, 2008
11. Garrett e Grisham, *Biochemistry*, 2ª edição, 1995
12. Chawla, *Practical Clinical Biochemistry: Methods and Interpretations*, Jaypee Brothers Publishers, 2003
13. Rao, N., *Medical Biochemistry*, New Age International, 2007
14. Litwack, Gerald, *Human Biochemistry and Disease*, Academic Press, 2008
15. Schoenhagen, Misra, *Current Developments in Atherosclerosis Research*, Nova Publishers, 2006
16. Raju, S.M. et al., *Illustrated Medical Biochemistry*, Jaypee Brothers Publishers, 2005
17. Puri, D., *Textbook of Medical Biochemistry*, Elsevier India, 2005
18. Mohanty et al., *Fundamentals of Practical Clinical Biochemistry*, BI Publications Pvt Ltd., 2006
19. Thelml, H. et al., *Color Atlas of Hematology – Practical Microscopic and Clinical Diagnosis*, 2ª edição, Clinical Sciences, 2004
20. Lee, Mary, *Basic Skills in Interpreting Laboratory Data*, ASHP, 2009
21. Greer, John P. et al., *Wintrobe's Clinical Hematology, Volume 1*, Lippincott Williams & Wilkins, 2008

22. Rhoades, Rodney A. et al., *Medical Physiology: Principles for Clinical Medicine*, Lippincott Williams & Wilkins, 2012

23. Estridge, Barbara H. et al., *Basic Medical Laboratory Techniques*, Cengage Learning, 2000

Anexos

Anexo I – Valores de referência de alguns parâmetros bioquímicos e hematológicos

Parâmetro	Valor (es) de referência
Bioquímica (onde é determinado)	
Ácido úrico (soro)	Homens: 3,5-7,2 mg/dL Mulheres: 2,6-6,0 mg/dL
ALT/GPT (soro)	Homens: < 45 UI/L Mulheres: < 34 UI/L
AST/GOT (soro)	Homens: < 35 UI/L Mulheres: < 31 UI/L
Bilirrubina total (soro)	0,3 – 1,2 mg/dL
Bilirrubina directa (soro)	< 0,2 mg/dL
Cálcio (soro)	8,8-10,6 mg/dL
Cloreto (soro)	98-106 mEq/L
Colesterol total (soro)	Desejável: < 200 mg/dL Limite elevado: 200-239 mg/dL Elevado: > 240 mg/dL
Colesterol HDL (soro)	Factor de risco elevado: < 40 mg/dL Factor de risco negativo: > ou = 60 mg/dL Ótimo: < 100 mg/dL Quase ótimo: 100-129 mg/dL
Colesterol LDL (soro)	Limite superior: 130-159 mg/dL Elevado: 160-189 mg/dL Muito elevado: > ou = 190 mg/dL
Creatinina (soro)	Homens < 50 anos: 0,84-1,25 mg/dL Homens > 50 anos: 0,81-1,44 mg/dL Mulheres: 0,66-1,09 mg/dL
Fosfatase alcalina (soro)	Adultos: 30–120 UI/L
Fosfato (soro)	2,5-4,5 mg/dL
Gama GT (soro)	Homens: < 55 UI/L

	Mulheres: < 38 UI/L
Glicose (soro)	74-106 mg/dL
HbA _{1c} (sangue total)	4-6,2%
Magnésio (soro)	Homens: 1,8-2,6 mg/dL Mulheres: 1,9-2,5 mg/dL
Microalbuminúria (urina das 24 horas)	< 30 mg/dia
Potássio (soro)	3,5-5,1 mEq/L
PCR (soro)	Crianças: < 1 mg/L Adultos: < 5 mg/L
Sódio (soro)	135-145 mEq/L Desejável: < 150 mg/dL
Triglicéridos (soro)	Limite elevado: 150-199 mg/dL Elevado: 200-499 mg/dL Muito elevado: > ou = 500 mg/dL
Ureia (soro)	15-43 mg/dL
Hematologia	
Eritrócitos (sangue total)	Homens: 4,5-5,9x10 ¹² /L Mulheres: 4,1-5,1x10 ¹² /L
Hemoglobina (sangue total)	Homens: 14-17,5 g/dL Mulheres: 12-15,3 g/dL
Hematócrito (sangue total)	Homens: 0,42-0,50 L/L Mulheres: 0,35-0,45 L/L
VGM (sangue total)	Adultos: 80-96 fL
HCM (sangue total)	Adultos: 27-33 pg
CHCM (sangue total)	Adultos: 30-35 g/dL
Leucócitos (sangue total)	Adultos: 4,0-11,0x10 ⁹ /L
Neutrófilos	Adultos: 40-75% (2,0-7,0x10 ⁹ /L)
Linfócitos	Adultos: 20-45% (1,0-3,0x10 ⁹ /L)
Monócitos	Adultos: 2-10% (0,2-1,0x10 ⁹ /L)
Eosinófilos	Adultos: 1-6% (0,02-0,5x10 ⁹ /L)
Basófilos	Adultos: < 1% (0,02-0,1x10 ⁹ /L)
Plaquetas (sangue total)	Adultos: 150-400x10 ⁹ /L
Tempo de protrombina (plasma)	Amostra: 11-14 segundos

% de actividade: 70-120% INR: 0,9 a 1,2	
Tempo parcial de tromboplastina (plasma)	22,6-35 segundos

Anexo II – Requisição médica para Análises Clínicas

MINISTÉRIO DA SAÚDE ACTOS TERAPÉUTICOS E CONSULTAS Uso exclusivo do SNS		Requisição N.º *1040011206671639604*					
Nome: _____ Idade 19 Sexo M <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>		ÁREA DE CONFERÊNCIA (não preencher)					
Nº Utente: *180373956*		NATUREZA DAS PRESTAÇÕES					
Entidade Resp.: SNS Nº Benef.: _____		A <input checked="" type="checkbox"/> ANÁLISES CLÍNICAS H OTORRINOLARINGOLOGIA B ANATOMIA PATOLÓGICA I PNEUMO E IMUNOLALERG. C CARDIOLOGIA J UROLOGIA D MEDICINA NUCLEAR L NEUROFISIOLOGIA E ELECTROENCEFALOGRAFIA M RADIOLOGIA F ENDOSCOPIA GASTROENT. N CONSULTAS G MEDICINA FISICA E REABILIT. O PSICOLOGIA					
País: _____ N.º Doc.: _____ Contacto do médico / Especialidade / MEDICINA GERAL E FAMILIAR		TAXA MODERADORA <input type="checkbox"/> ISENTO <input checked="" type="checkbox"/> NÃO ISENTO Verificado por computador					
DOMICÍLIO _____ URGENTE <input type="checkbox"/>		ENTIDADE PRESTADORA Carimbo Ass. _____ Data: ____/____/____					
Justificação obrigatória do Domicílio e/ou Urgência: ____/____/____ O Médico _____ NOME BEM LEGÍVEL		INFO. COMPLEMENTAR DADOS CLÍNICOS EM ANEXO Terapêutica actual <input type="checkbox"/>					
VINHETAS *M41232* *U132271*		SESSÕES DE FISIOTERAPIA REALIZADAS Início: ____/____/____ Fim: ____/____/____					
CÓDIGO	NOMENCLATURA	QUANTIDADE PRESCRITA	PRODUTOS A EXAMINAR	CÓDIGO	QUANTIDADE PRESTADA	PREÇO TOTAL PREÇO	TX. MOD.
1029.9	COLESTEROL TOTAL, S/L	1 Um	Sangue				
1053.1	TSH (HORMONA TIROSTIMULANTE (TSH), S)	1 Um	Sangue				
412.0	COLESTEROL HDL (COLESTEROL DA FRACÇÃO HDL, S)	1 Um	Sangue				
620.3	TRIGLICÉRIDOS, S/U/L	1 Um	Sangue				
721.8	TIROXINA LIVRE (FT4), S	1 Um	Sangue				
PROCEDIMENTOS EFECTUADOS E NÃO PRESCRITOS							
NOMENCLATURA				CÓDIGO	QUANTIDADE PRESTADA	PREÇO TOTAL PREÇO	TX. MOD.
Ass. Médico Executante: _____ Ass. Médico Prescritor: _____ Data: 03/10/2011 assinatura _____ Validade: 6 meses				TOTAL	PRESTAÇÕES	€	_____
DECLARAÇÃO DO UTENTE Declaro que me foram efectuados os Exames / Tratamentos prescritos 4/10/11 x Assinatura do utente _____ Contacto _____				TOTAL	TAXAS MODERADORAS	€	_____
Domicílio: _____ Localidade: _____ Km _____							
Processado por computador - Sistema de Apoio ao Médico - ACSS							
MINISTÉRIO DA SAÚDE Nome: _____ VALOR DOS SERVIÇOS PRESTADOS _____ VALOR POR EXTENSO _____		MEIOS COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO E TERAPÉUTICA (INCLUINDO CONSULTAS) Nº 1040011206671639604		Carimbo Assinatura			

Anexo III – Folha de resultados de Bioquímica

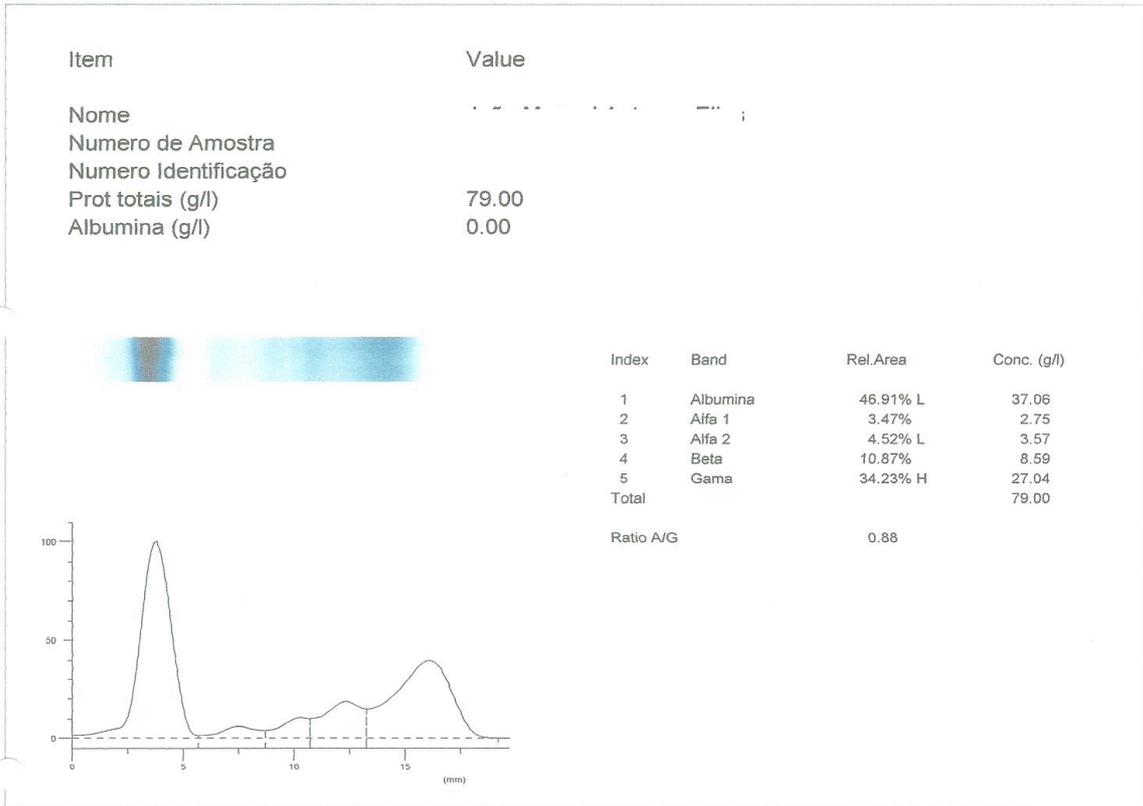
Exmo^(a) Sr.^(a)

Colheita: 2012-09-07 Emissão: 2012-9-7 Entidade: NBen: Nº Cliente: Nº Dia:

Análises	Resultado/Unidades	Valores referência	Valores anteriores
BIOQUÍMICA			
GLICOSE	86	74 - 106 mg/dl	
UREIA	26	15 - 43 mg/dl	
ÁCIDO ÚRICO	4,2	Homens:3,5 - 7,2 mg/dl Mulheres:2,6 - 6,0 mg/dl	
CREATININA	1,01	Homens<50 anos:0,84-1,25 mg/dl Homens>50 anos:0,81-1,44 mg/dl Mulheres: 0,66 - 1,09 mg/dl	
AST/GOT	31	M < 31 U/L H < 35 U/L	
ALT/GPT	27	M <34 U/L H <45 U/L	
FOSFATASE ALCALINA	59	Adultos 30 - 120 U/l	
Gama GT	13	M < 38 U/L H < 55 U/L	
BILIRRUBINA TOTAL	0,5	0,3 - 1,2mg/dl	
BILIRRUBINA DIRECTA	0,1	<0,2 mg/dl	
COLESTEROL Total	133	Desejável< 200 mg/dl Limite elevado:200-239 mg/dl Elevado> 240 mg/dl	
TRIGLICÉRIDOS	85	Desejável < 150 mg/dl Limite elevado: 150-199 mg/dl Elevado:200-499 mg/dl Muito elevado > ou= 500 mg/dl	
COLESTEROL HDL	49	< 40 mg/dl Factor de risco elevado >ou = 60 mg/dl Factor de risco negativo	

Anexo IV – Folha de resultados de um proteinograma

LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS
 Faculdade de Farmácia - Universidade de Coimbra
 Director Técnico Dr^a Lucília Silveira
 Azinhaga de Santa Comba
 3000 - 548 Coimbra
 Telef. 239488470; Fax 239488503
 Email: anclin@ff.u.c.pt



Comments

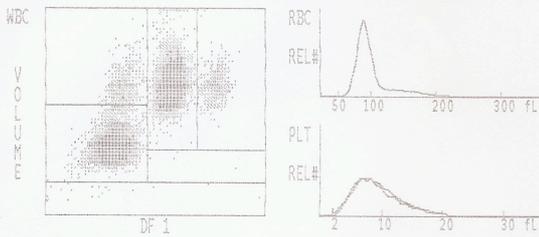
Supervisor _____ Date 13-01-2012

Anexo V – Folha de resultados de um hemograma

07/09/12 13:56:57
 AB19209 OPR

Dra. Lucilia Silveira
 (039) 824180

Laboratório Análises
 Faculdade
 Farmácia



ID# 1	WBC	7.4	-	RBC	4.26
ID# 2 8/7pc		%	#	HGB	125
Sequence # 038720	NE	55.4	4.1	HCT	0.393
DATE: 07/09/12	LY	35.2	2.6	MCV	92.2
TIME: 12:56:11	MO	4.8	0.4	MCH	29.3
Cass/Pos 001404	EO	4.5	0.3	MCHC	318 L
	BA	0.1	0.0	RDW	12.0
Normal WBC Pop				PLT	246
Normal RBC Pop				MPV	9.1
Normal PLT Pop				PCT	0.225
				PDW	15.4