

Daniel da Silva Gonçalves

# Relatório de Estágio

## Mestrado de Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito de Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Dr<sup>a</sup> Ana Maria Sarmiento Donato e pela Dr<sup>a</sup> Ana Miguel Duarte Matos Silva e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

"A essência do conhecimento consiste em aplicá-lo,  
uma vez possuído."

*Confúcio*



# ÍNDICE

<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>VII</b>
<b>Índice de Ilustrações</b> .....	<b>IX</b>
<b>Índice de tabelas</b> .....	<b>X</b>
<b>Agradecimentos</b> .....	<b>XI</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>I</b>
Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia de Coimbra .....	2
Dados de Identificação do Laboratório .....	2
Identificação da Equipa Técnica .....	2
Recursos Humanos .....	3
Fluxo de amostras .....	3
Acordos .....	3
Equipamentos .....	4
Estrutura física do LAC .....	5
Sistema de Controlo da Qualidade .....	6
Avaliação Externa de Qualidade .....	6
Resíduos .....	7
Processo analítico.....	7
<b>Hematologia</b> .....	<b>II</b>
Hemograma .....	13
<i>Esfregaço de Sangue Periférico</i> .....	13
<i>Observação de ESP</i> .....	14
Eritrócitos .....	16
Plaquetas .....	20
Leucócitos .....	20
Anemias.....	21
Reticulócitos.....	23
Casos Clínicos .....	25
Caso clínico 1 .....	25
Caso clínico 2.....	27
Caso Clínico 3 .....	31
Caso Clínico 4 .....	33
Caso Clínico 5 .....	36

Caso Clínico 6 .....	39
Outros casos clínicos .....	42
<b>Hemostase .....</b>	<b>43</b>
<i>Tempo de Protrombina .....</i>	<i>45</i>
<i>Tempo de Tromboplastina Parcial activada .....</i>	<i>47</i>
<b>Velocidade de Sedimentação .....</b>	<b>49</b>
<b>Novas perspectivas em hematologia.....</b>	<b>51</b>
<b>Conclusões .....</b>	<b>53</b>
<b>Bibliografia .....</b>	<b>i</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>v</b>
<i>Anexo I .....</i>	<i>v</i>
<i>Anexo II.....</i>	<i>vi</i>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - MAX'M (foto LACFFUC) .....	4
Figura 2 - SAS-1 e SAS-2 (foto LACFFUC) .....	4
Figura 3 - Combi scan 100 (foto LACFFUC) .....	4
Figura 4 - SEDY-12 (foto LACFFUC) .....	5
Figura 5 - SPOTLYTE (foto LACFFUC) .....	5
Figura 6 - AU400 (foto LACFFUC) .....	5
Figura 7 - VIDAS 30 (foto LACFFUC) .....	5
Figura 8 - OPTION 4 Plus (foto LACFFUC) .....	5
Figura 9 - Esquema da hematopoiese humana (retirada de <i>Clinical Hematology, Theory &amp; Procedures</i> , Fifth Edition, Mary Louise Turgeon, 2012, page 78).....	12
Figura 10 - Contador hematológico MAX'M (foto LACFFUC).....	13
Figura 11 - Eritrócitos (foto LACFFUC) .....	15
Figura 12 - Plaquetas (foto LACFFUC).....	15
Figura 13 - Neutrófilo (foto LACFFUC) .....	15
Figura 14 - Eosinófilo (foto LACFFUC).....	15
Figura 15 - Basófilo (foto LACFFUC).....	15
Figura 16 - Linfócito (foto LACFFUC) .....	16
Figura 17 - Monócito (foto LACFFUC) .....	16
Figura 18 - Acantócitos (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis</i> , Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 82) .....	17
Figura 19 - Esferócitos (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis</i> , Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 77) .....	17
Figura 20 - Eliptócitos (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis</i> , Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 73) .....	17
Figura 21 - Drepanócitos (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis</i> , Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 84) .....	17
Figura 22 - Dacriócitos (retirada de <i>Clinical Hematology, Theory &amp; Procedures</i> , Fifth Edition, Mary Louise Turgeon, 2012, chapter 6 - page 134).....	18
Figura 23 - Esquizócitos (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis</i> , Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 80) .....	18
Figura 24 - Leptócitos (foto LACFFUC) .....	18

Figura 25 - Estomatócitos (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 73</i> ) .....	18
Figura 26 - Codócitos (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 83</i> ) .....	19
Figura 27 - Corpo de Howell-Jolly (foto LACFFUC) .....	19
Figura 28 - Pontuado basófilo (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 74</i> ) .....	19
Figura 29 - Policromasia (foto LACFFUC) .....	20
Figura 30 - Linfócito atípico (foto LACFFUC) .....	21
Figura 31 - Mononuclear atípico (foto LACFFUC) .....	21
Figura 32 - Mononuclear atípico (foto LACFFUC) .....	21
Figura 33 - Reticulócitos (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 3 - page 34</i> ) .....	24
Figura 34 - Hipocromia eritrocitária (foto LACFFUC).....	26
Figura 35 - Dacriócito (foto LACFFUC) .....	26
Figura 36 - Leptócito (foto LACFFUC).....	26
Figura 37 - Linfócito atípico (foto LACFFUC) .....	28
Figura 38 - Macrócito (foto LACFFUC).....	28
Figura 39 - Plaquetas gigantes (foto LACFFUC) .....	28
Figura 40 - Micrócitos (foto LACFFUC) .....	31
Figura 41 - Poiquilocitose (foto LACFFUC).....	31
Figura 42 - Linfócitos maduros (foto LACFFUC) .....	34
Figura 43 - Linfócitos maduros (foto LACFFUC) .....	34
Figura 44 - Sombra nuclear (foto LACFFUC).....	34
Figura 45 - Linfócito maduro e sombra nuclear (foto LACFFUC) .....	35
Figura 46 - Linfócitos maduros (foto LACFFUC) .....	35
Figura 47 - Sombras nucleares (foto LACFFUC) .....	35
Figura 48 - Aglutinação eritrocitária (foto LACFFUC) .....	36
Figura 49 - Aglutinação eritrocitária (foto LACFFUC) .....	36
Figura 50 - Eritrócitos (foto LACFFUC).....	38
Figura 51 - Eritrócitos (foto LACFFUC).....	38
Figura 52 - Agregado plaquetar (foto LACFFUC).....	40
Figura 53 - Agregado plaquetar (foto LACFFUC).....	40
Figura 54 - Agregado plaquetar (foto LACFFUC).....	40
Figura 55 - Linfócito ativado (foto LACFFUC) .....	42

<b>Figura 56 - Linfócito com núcleo apoptótico (foto LACFFUC) .....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 57 - Linfócito com núcleo apoptótico (foto LACFFUC) .....</b>	<b>42</b>

**NOTA:** AS FIGURAS QUE APRESENTAM A LEGENDA “LACFFUC” SÃO FOTOGRAFIAS TIRADAS NO LABORATÓRIO COM AUXÍLIO DE MÁQUINA FOTOGRÁFICA DIGITAL. AS FOTOGRAFIAS QUE MOSTRAM CÉLULAS SANGUÍNEAS FORAM TIRADAS COM MÁQUINA DIGITAL MAS ATRAVÉS DA OCULAR DO MICROSCÓPIO ÓPTICO.

## ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

<b>Ilustração 1 - Organigrama da estrutura organizacional do LAC (retirado do MBPL do LAC) .....</b>	<b>2</b>
<b>Ilustração 2 - Hemoglobina A (retirada de <i>Clinical Hematology, Theory &amp; Procedures</i>, Fifth Edition, Mary Louise Turgeon, 2012, chapter 2 - page 98) .....</b>	<b>22</b>
<b>Ilustração 3 - Caso clínico 1 .....</b>	<b>25</b>
<b>Ilustração 4 - Caso clínico 2.....</b>	<b>27</b>
<b>Ilustração 5 - Proteinograma caso clínico 2 .....</b>	<b>29</b>
<b>Ilustração 6 - Caso clínico 3.....</b>	<b>31</b>
<b>Ilustração 7 - Electroforese hemoglobinas caso clínico 3 .....</b>	<b>32</b>
<b>Ilustração 8 - Caso clínico 4.....</b>	<b>33</b>
<b>Ilustração 9 - Caso clínico 4.1 .....</b>	<b>35</b>
<b>Ilustração 10 - Caso clínico 5.....</b>	<b>36</b>
<b>Ilustração 11 - Caso clínico 5.1 .....</b>	<b>37</b>
<b>Ilustração 12 - Caso clínico 6.....</b>	<b>39</b>
<b>Ilustração 13 - Caso clínico 6.1 .....</b>	<b>40</b>
<b>Ilustração 14 - Cascata da coagulação (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis</i>, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 18 - page 397).....</b>	<b>44</b>
<b>Ilustração 15 - Provas de coagulação (retirada de <i>Clinical Hematology, Theory &amp; Procedures</i>, Fifth Edition, Mary Louise Turgeon, 2012, chapter 23 - page 407) .....</b>	<b>48</b>



# ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela I</b> - Recursos Humanos do LAC (adaptado do MBPL do LAC) .....	<b>3</b>
<b>Tabela II</b> - Equipamentos utilizados no LAC.....	<b>4</b>
<b>Tabela III</b> - Separação de resíduos no LAC (adaptado do MBPL do LAC) .....	<b>7</b>
<b>Tabela IV</b> - Tipos de tubo de colheita do LAC.....	<b>8</b>
<b>Tabela V</b> - Análises bioquímicas executadas no LAC .....	<b>9</b>
<b>Tabela VI</b> - Análises microbiológicas executadas no LAC .....	<b>9</b>
<b>Tabela VII</b> - Análises imunológicas executadas no LAC.....	<b>10</b>
<b>Tabela VIII</b> - Valores de referência Hemograma.....	<b>14</b>
<b>Tabela IX</b> - Identificação de células do sangue periférico e alterações dos valores de contagem .....	<b>14</b>
<b>Tabela X</b> - Alterações morfológicas dos eritrócitos .....	<b>17</b>
<b>Tabela XI</b> - Inclusões eritrocitárias.....	<b>19</b>
<b>Tabela XII</b> - Leucócitos não característicos .....	<b>21</b>
<b>Tabela XIII</b> - Constantes eritrocitárias.....	<b>22</b>
<b>Tabela XIV</b> - Caracterização de tipos de anemia .....	<b>23</b>
<b>Tabela XV</b> - Caso clínico 1 ESP.....	<b>26</b>
<b>Tabela XVI</b> - Caso clínico 2 ESP .....	<b>28</b>
<b>Tabela XVII</b> - Caso clínico 2 Bioquímica .....	<b>28</b>
<b>Tabela XVIII</b> - Caso clínico 2 Coagulação .....	<b>29</b>
<b>Tabela XIX</b> - Caso clínico 3 ESP .....	<b>31</b>
<b>Tabela XX</b> - Caso clínico 4 ESP .....	<b>34</b>
<b>Tabela XXI</b> - Caso clínico 4.I ESP .....	<b>35</b>
<b>Tabela XXII</b> - Caso clínico 5 ESP.....	<b>36</b>
<b>Tabela XXIII</b> - Caso clínico 5.I ESP.....	<b>38</b>
<b>Tabela XXIV</b> - Caso clínico 6.I ESP.....	<b>40</b>
<b>Tabela XXV</b> - Resultados Caso clínico 6.....	<b>41</b>
<b>Tabela XXVI</b> - Mononucleose infecciosa ESP.....	<b>42</b>
<b>Tabela XXVII</b> - Valores de referência TP.....	<b>45</b>

## AGRADECIMENTOS

Agora que esta etapa da minha vida está quase a chegar ao fim e ao sentir que mais um desejo e objetivo pessoal está prestes a ser cumprido, gostaria de agradecer a todos os que tiveram de alguma forma envolvidos neste processo desde família, amigos e claro toda a Faculdade de Farmácia como instituição e todos os seus colaboradores que estiveram em contacto comigo e sempre se mostraram disponíveis a ajudar no que fosse preciso, tanto professores como funcionários.

Queria fazer um agradecimento muito especial mas que não consegue compensar tudo o que por mim fizeram e fazem às Dr<sup>as</sup> Ana Donato e Ana Matos, por todo o apoio nesta jornada e por todo o empenho em me ajudar a atingir as metas que por mim foram propostas e fazer de mim um melhor profissional e também pelo contributo no meu próprio crescimento pessoal. Mais ainda agradecer por todo o conhecimento que ambas me transmitiram durante este meu estágio e pela oportunidade que me deram de realizar todas as tarefas que são possíveis num laboratório de análises clínicas tal como se desde sempre fizesse parte dele.

Por último não podia deixar de referenciar aqui o laboratório de análises clínicas da faculdade de farmácia como o conjunto de todos os seus trabalhadores, que me acolheram como uma verdadeira família da qual já me sinto parte integrante e que como tal estará sempre no meu coração e estarei pronto para ajudar e defender sempre que tal for necessário. Um muito obrigado a todos.



## ABREVIATURAS

AHAI – Anemia Hemolítica Auto-Imune

ALP – Fosfatase alcalina

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

BD – Bilirrubina directa

BT – Bilirrubina total

CA 19.9 – Antígeno carcinogénico 19.9

CA 125 – Antígeno carcinogénico 125

CBC – Complete Blood Count

CEA – Antígeno carcino-embrionário

CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

CHC *scatter* – Cospuscular Hemoglobin Concentration *scatter*

CHDL – Colesterol HDL

CK – Creatina Cinase

CLDL – Colesterol LDL

CMV – Citomegalovírus

CPS 3 – Gelose cromID CPS

CT – Colesterol Total

DNA – Ácido desoxiribonucleico

EBV – Epstein-Barr Virus

EDTA K3 – Ácido etilenodiaminotetra-acético tri-potássico

ELFA – Enzyme linked fluorescent assay

ESP – Esfregaço de Sangue Periférico

FA – Fosfatase alcalina

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FPSA – Antígeno específico da próstata livre

FSH – Hormona estimuladora do folículo

FT3 – Triiodotironina livre

FT4 – Tiroxina livre

GB – Glóbulo branco

GGT – Gama - GT

GV – Glóbulo vermelho

Hb – Hemoglobina  
HBV – Vírus da Hepatite B  
HCM – Hemoglobina Corpuscular Média  
HCMr – Hemoglobina Corpuscular Média reticulocitária  
HCV – Vírus da Hepatite C  
HDL – High Density Lipoprotein  
HDW – Hemoglobin Distribution Width  
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana  
INR – Razão Normalizada Internacional  
ITA – Instrução de Trabalho Analítica  
LAC – Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia  
LDH – Lactato Desidrogenase  
LDL – Low density lipoprotein  
LH – Hormona luteinizante  
LLC – Leucemia Linfocítica Crónica  
MAC – Mestrado em Análises Clínicas  
MBPL – Manual de Boas Práticas Laboratoriais  
MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
NK – Natural – killer  
PCR – Proteína C Reactiva  
PTI – Púrpura Trombocitopénica Idiopática  
PTT – Púrpura Trombocitopénica Trombótica  
PRL – Prolactina  
RDW – Red-cells Distribution Width  
Retc – Reticulócitos  
T3 – Triiodotironina  
T4 – Tiroxina  
TAD – Teste de Antiglobulina Humana  
TASO – Título de Anti-Streptolisina O  
TIBC – Total Iron Binding Capacity  
TIG – Teste Imunológico de Gravidez  
TG – Triglicéridos  
TP – Tempo de Protrombina  
TPSA – Antígeno específico da próstata total  
TSH – Hormona estimuladora da tiróide

TTPa – Tempo de Tromboplastina Parcial activada

VDRL – Venereal Disease Laboratory Research

VGM – Volume Globular Médio

VGMr – Volume Globular Médio reticulocitário

VS – Velocidade de Sedimentação



## RESUMO

Neste relatório o objetivo principal foi o de descrever as atividades que são executadas no LAC da Faculdade de Farmácia de Coimbra, tendo em especial atenção a área da hematologia pois esta foi a que escolhi para descrever em mais pormenor.

No LAC são prestados serviços de análises clínicas de diversas valências, como a bioquímica, microbiologia, imunologia, endocrinologia e hematologia. O LAC além de prestar serviços à comunidade em geral serve ainda como local de ensino aos mais diversos cursos da FFUC e proporciona ainda oportunidades de estágios extracurriculares para todos os alunos interessados. No nosso laboratório é seguido um sistema de implementação da qualidade para todos os processos analíticos e as suas diferentes fases, pré-analítica, analítica e pós-analítica. Seguimos ainda todas as regulamentações em vigor para tratamento de amostras e de resíduos. Mantemos um programa de controlo da qualidade interno e participamos em vários programas de avaliação externa, por forma a garantir a fiabilidade dos nossos resultados.

Em hematologia é estudado o sangue como um todo, desde os seus elementos figurados até todos os fatores que influenciam a sua produção e todos os órgãos afetados pelos mesmos. No LAC o hemograma é uma das análises mais realizadas e este vai fornecer informação acerca do estado geral do sistema hematológico e imune do indivíduo em causa, através de parâmetros qualitativos e quantitativos. Para esta análise contribui a observação do ESP, onde é possível confirmar valores discrepantes fornecidos pelo contador automático e caracterizar células.

É através desta análise que conseguimos fazer a interpretação de casos clínicos que aparecem diariamente no LAC, de forma a conseguir fazer um diagnóstico diferencial e ter espírito crítico no tratamento e interpretação das amostras e dos seus resultados.

Além desta análise ainda são realizadas provas de coagulação e de velocidade de sedimentação dos eritrócitos, que nos vão fornecer informações acerca do sistema hemostático e estado inflamatório, por exemplo.

Esta foi uma experiência sem dúvida muito enriquecedora para mim e que me tornou um melhor profissional em análises clínicas, pelo que me irá servir como base de apoio para o resto da minha carreira.





## ABSTRACT

In this report the main objective was to describe the activities we develop in LAC of FFUC, focusing mainly on hematology, since it was the theme of my personal choice.

In LAC we make analysis in several valences such as biochemistry, immunology, microbiology, endocrinology and haematology. Besides serving the community in general, LAC also serves as a teaching place to all students from FFUC and gives opportunities to these students to make an internship to all that are interested in doing so. We on LAC follow a strict program of quality for all of our processes and to the different phases of the sample evaluation, like pre-analysis, analysis and post-analysis. We also follow the regulations for sample handling and their processment as well as wastes treatment. We keep a program of both internal and external quality control in order to guarantee the reliability of our results.

Haematology studies the blood as a whole with all his cells and their production and all the systems related to it. On LAC the CBC (Complete Blood Count) is one of the most executed analysis and can give us information about the state of the individual hematopoietic and immune system, through both qualitative and quantitative parameters. For the analysis to be complete we need to do the observation of the ESP, where we can confirm values out of normal and identify blood cells.

It's through this kind of analysis that we can evaluate the clinical cases that appear on the daily routine of LAC, making us capable of doing differential diagnosis and have conscious mind judging and correlating the sample results.

Beside this analysis we also make studies of coagulation and sedimentation velocity, that gives us clues about the hemostatic state of the individual and, for example, about inflammation states of the individual.

This was without a doubt an experience that will serve me for all of my life and will act as my foundation for the rest of my career. It made me a better professional in this job and more capable of doing it right.



# INTRODUÇÃO

Este relatório tem como intuito demonstrar e explicar os mecanismos e técnicas, métodos e procedimentos que são realizados num laboratório de análises clínicas que presta serviço à comunidade e neste caso em especial se encontra localizado e integrado na faculdade de farmácia, e desde logo perceber também a sua importância a nível de ensino destas áreas a todos os estudantes da faculdade que demonstrem o interesse pela mesma. O meu estágio em análises clínicas foi realizado no laboratório de análises clínicas da Faculdade de Farmácia, durante o período decorrido entre Julho de 2013 e Maio de 2014. Neste estágio foi-me possível contactar com as diversas áreas associadas às análises clínicas, as quais foram a hematologia, bioquímica, imunologia e microbiologia. Neste relatório irei aprofundar mais a área de hematologia, pois é aquela com a qual me identifico mais pessoalmente.

É de realçar a importância que o laboratório de análises clínicas tem na prevenção, monitorização, controlo e diagnóstico das mais diversas patologias da comunidade em geral, prestando para isso as mais diversas avaliações sobre uma multiplicidade de parâmetros. Também de referir que o facto de ser um laboratório integrado numa instituição de ensino superior faz com que este tenha uma importância acrescida pois permite prestar serviços a uma população específica, que é a estudantil de todo o pólo de ciências da saúde bem como da restante Universidade de Coimbra, assim como a população trabalhadora das mesmas instituições.

## DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO LABORATÓRIO

Designação Social: Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia

Propriedade: Universidade de Coimbra

Endereço: Pólo das Ciências da Saúde, Azinhaga de Santa Comba, 3000-548 Coimbra

Telefone: 239 488 470; e-mail: [anclin@ff.uc.pt](mailto:anclin@ff.uc.pt); Sítio: [www.ff.uc.pt](http://www.ff.uc.pt)

O laboratório está aberto ao público, das 8:30 às 17:30 de segunda a sexta-feira sendo o horário de colheitas das 8:30 às 12:00 no laboratório e das 8:45 às 11:45 no posto de colheitas (excepto nas condicionantes relativas ao tipo de análise, seu tratamento e conservação pré-analítica).

## IDENTIFICAÇÃO DA EQUIPA TÉCNICA

Director Técnico: Dr<sup>a</sup> Ana Maria Donato

Director Técnico-adjunto: Dr<sup>a</sup> Ana Miguel Matos

Especialistas: Dr<sup>a</sup> Ana Donato; Dr<sup>a</sup> Ana Miguel Matos

Gestor da Qualidade: Dr<sup>a</sup> Ana Donato

A organização do LAC está esquematizada da seguinte forma:

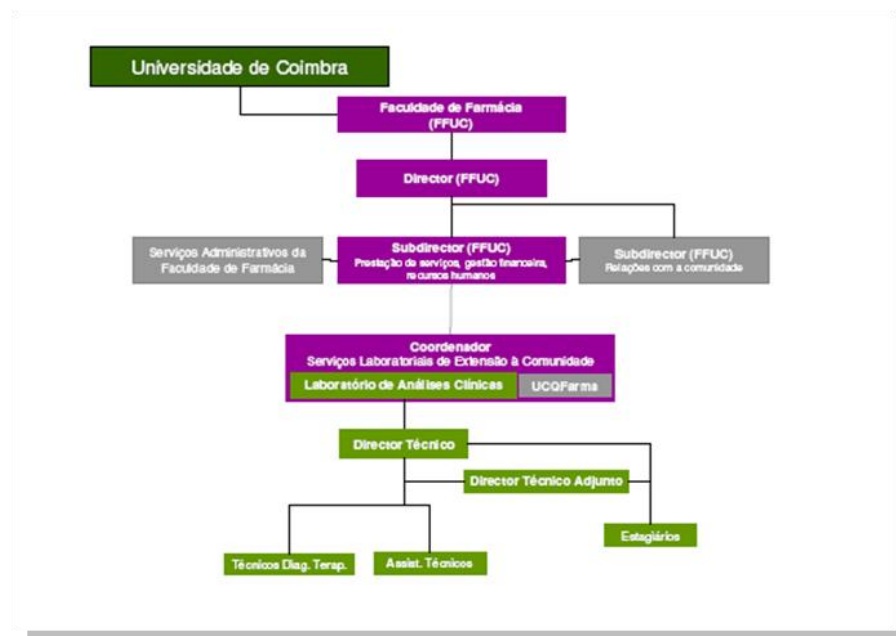


Ilustração 1 - Organograma da estrutura organizacional do LAC (retirado do MBPL do LAC)

## RECURSOS HUMANOS

No LAC os recursos humanos estão distribuídos segundo as seguintes competências:

Tabela I - Recursos Humanos do LAC (adaptado do MBPL do LAC)

Função	Titular
Director Técnico	Ana Maria Sarmento Donato
Responsável da Qualidade	Ana Maria Sarmento Donato
Especialistas em Análises Clínicas	Ana Miguel Matos
	Ana Maria Sarmento Donato
Técnicos de Colheitas	Sara Margarete Duarte Rodrigues
	Daniel Silva Gonçalves
Administrativos	Dulce Dias
	Maria Teresa Santos

## FLUXO DE AMOSTRAS

O fluxo de amostras diário do LAC é bastante variável, mas encontra-se na média de 15 a 20 utentes diariamente.

### Valências

O LAC presta serviços à comunidade nas seguintes valências:

- Bioquímica
- Hematologia
- Imunologia
- Microbiologia
- Endocrinologia

Funciona ainda como local de ensino sobre análises clínicas, quer para alunos do MICF que realizam estágio extracurricular no laboratório quer para alunos do MAC que têm aulas práticas das unidades curriculares de Hematologia, Imunologia Complementar e Bioquímica Clínica I, os quais também podem realizar estágio no laboratório.




## ACORDOS

O LAC possui um acordo com a Unidade de Alcoologia do Instituto da Droga e da Toxicoddependência do Centro, em que semanalmente, dois dias por semana, são enviadas amostras de utentes desta unidade para o LAC para que sejam analisadas, em qualquer das valências do LAC e cujos resultados são transmitidos de forma informática novamente para a Unidade de Alcoologia.

Para além de todas as técnicas e métodos utilizados na rotina diária o laboratório tem ainda uma parceria com o Laboratório de S. José, que tem como objectivo permitir providenciar todo o tipo de análises que possam ser requeridas pelos nossos clientes e que por ventura o LAC não as realize, por motivos de pouca quantidade de amostras para o parâmetro em causa ou então porque o método ou técnica necessário para a determinação do parâmetro em causa não se encontra instalado e validado no LAC.

## EQUIPAMENTOS

Tabela II - Equipamentos utilizados no LAC

Equipamentos utilizados no LAC	Provas	Identificação
<b>Beckman Coulter MAX'M</b>	<b>Hematologia</b>	 <p>Figura 1 - MAX'M (foto LACFFUC)</p>
<b>SAS-I e SAS-2 da Helena – BioSciences Europe</b>	<b>Proteinograma</b>	 <p>Figura 2 - SAS-I e SAS-2 (foto LACFFUC)</p>
<b>Combi scan 100 – Analyticon</b>	<b>Urina tipo II</b>	 <p>Figura 3 - Combi scan 100 (foto LACFFUC)</p>

---

**SEDY-12 da UNIQUE Diagnostics**

**VS**



Figura 4 - SEDY-12 (foto LACFFUC)

**SPOTLYTE Na/K/Cl ANALYZER**

**Ionograma**



Figura 5 - SPOTLYTE (foto LACFFUC)

**Beckman Olympus AU400**

**Bioquímica**



Figura 6 - AU400 (foto LACFFUC)

**VIDAS 30 da Biomérieux**

**Imunologia**



Figura 7 - VIDAS 30 (foto LACFFUC)

**OPTION 4 Plus da Biomérieux**

**Coagulação**



Figura 8 - OPTION 4 Plus (foto LACFFUC)

---

## **ESTRUTURA FÍSICA DO LAC**

O laboratório de análises clínicas tem uma sala de recepção aos clientes que funciona como secretariado e como sala de espera para clientes que necessitem de esperar para fazer as



suas colheitas. Uma sala de colheitas onde são feitas as colheitas de amostras de produtos biológicos aos clientes para posterior análise. Possui ainda gabinete para as especialistas responsáveis pelo LAC, uma sala de reuniões para reuniões programadas ou que sejam necessárias entre o pessoal do laboratório ou com fornecedores, entidades externas ou outras que possam surgir, e por fim um armazém para todo o material em *stock* que não necessita de frio, como sejam material de colheitas e tubos e pontas de pipeta e também um armazém para reagentes que precisam de frio e que ficam armazenados em frigoríficos. O LAC está dividido pelos seus diversos sectores, de acordo com o tipo de técnicas e amostras que são utilizadas em cada zona, havendo sempre intercomunicação entre as diversas áreas de forma a ser possível obter a melhor qualidade de resultados possível. No laboratório encontra-se também disponível para consulta o manual de boas práticas laboratoriais, bem como o manual com as análises realizadas no laboratório e respectivas técnicas usadas na sua determinação.

### **SISTEMA DE CONTROLO DA QUALIDADE**

O LAC segue um Sistema de Controlo da Qualidade que se encontra descrito no MBPL do mesmo, bem como a sua Política de Qualidade com a descrição de todos os processos necessários à implementação e aplicação do mesmo. (ver anexo I)

### **AVALIAÇÃO EXTERNA DE QUALIDADE**

No LAC, participamos em vários Programas de Avaliação Externa de Qualidade. Programas de química clínica, hemoglobina A1c, coagulação, endocrinologia, marcadores tumorais e marcadores virais. Em hematologia participamos em programas para o controlo de contagem celular e controlo de morfologia celular. Assim, para as contagens celulares recebemos periodicamente amostras do Instituto Ricardo Jorge, que são devidamente homogeneizadas e posteriormente analisadas uma única vez, sendo os resultados enviados após transcrição dos mesmos para os formulários de resposta enviados em conjunto com as amostras. Para o controlo de qualidade externo de morfologia celular em ESP, o LAC recebe periodicamente conjuntos de três lâminas com esfregaços de sangue periférico corados, para as quais nos são fornecidas as informações clínicas e analíticas consideradas relevantes para a interpretação do caso clínico e o formulário de resposta onde nos é pedido que identifiquemos as alterações morfológicas presentes mais relevantes e uma sugestão de diagnóstico de acordo com os achados morfológicos encontrados na lâmina e as informações dadas pelo Instituto Ricardo Jorge acerca da mesma.

## RESÍDUOS

O tratamento de resíduos no LAC segue as normas da legislação em vigor e foi estabelecido um contrato entre o LAC e uma empresa especializada no transporte de resíduos perigosos, para que o acondicionamento e eliminação dos mesmos possa ser feito da forma mais correta. Os diferentes tipos de resíduos são separados da seguinte forma:

Tabela III - Separação de resíduos no LAC (adaptado do MBPL do LAC)

Tipo de Resíduo	Eliminação
<b>Grupo I</b> Resíduos equiparados a urbanos	Acondicionados, junto à produção, em contentores pretos. Tratados como resíduos urbanos.
<b>Grupo II</b> Resíduos hospitalares não perigosos	Acondicionados, junto à produção, em contentores pretos.
<b>Grupo III</b> Resíduos hospitalares de risco biológico	Acondicionados, junto à produção, em contentores verdes, resistentes. Armazenados em local específico até recolha por empresa especializada.
<b>Grupo IV</b> Resíduos hospitalares específicos	Cortantes e perfurantes: Acondicionados, junto à produção, em contentores amarelos, imperfuráveis, com sinal de risco biológico. Armazenados em local específico até recolha semanal pela empresa especializada contratada.  Produtos químicos não sujeitos a legislação específica: Acondicionados em contentores brancos, estanques. Armazenados em local específico até recolha semanal pela empresa especializada contratada.

### PROCESSO ANALÍTICO





#### Fase Pré-analítica

Quando um cliente entra no laboratório é feito o registo das requisições médicas na zona da recepção. É necessário ter sempre em atenção a situação em que o cliente se encontra e se o mesmo é compatível com a realização das provas que são requisitadas, tal como seja o jejum para provas de glicose ou colesterol. Em seguida o cliente é encaminhado para a sala

de colheitas, onde se faz a recepção de colheitas passíveis de serem realizadas em casa pelos clientes, bem como a colheita das restantes amostras necessárias. Devem ser feitas as identificações das amostras o mais corretamente possível para que não haja possibilidade de troca ou má utilização da mesma.

Aqui nesta fase é necessário fazer a distinção entre quantidades de amostra necessária e tipo de amostra necessária. Existem no LAC 4 tipos de tubo de colheita de sangue periférico:

**Tabela IV - Tipos de tubo de colheita do LAC**

Conteúdo	Cor tampa	Concentração	Produto	Provas
<b>Sem anticoagulante</b>		Não aplicável	Soro	Bioquímica Imunologia
<b>EDTA K3</b>		1,5 +/- 0,25mg/ ml sangue	Sangue total	Hematologia
<b>Citrato de sódio</b>		3,2% (32g/L) na proporção de 9 volumes de sangue para 1 de anticoagulante	Sangue total	Coagulação
<b>Citrato de sódio</b>		3,2% (32g/L) na proporção de 4 volumes de sangue para 1 de anticoagulante	Sangue total	VS

Para além destes existem ainda recipientes estéreis para colheita de urina e de fezes, tubos com meio de transporte para colheita, com ajuda de zaragatoa, de exsudatos faríngeos, nasais, vaginais ou uretrais. Temos ainda soluções com concentração conhecida de glicose (75g/200ml) para a realização de provas como a tolerância oral à glicose. Por fim, existem ainda no LAC bisturis e caixas de petri para colheita de raspagens de unhas, destinadas a pesquisas micológicas.

### Fase Analítica

O LAC executa as mais diversas análises que estão associadas às diversas valências, tais como:

**Tabela V - Análises bioquímicas executadas no LAC**

Bioquímica			
<b>Metabolismo glucídico</b>	Glicose Hb A1c		
<b>Ficha lipídica</b>	CT	TG	CHDL CLDL
<b>Iões e metais</b>	Cálcio total	Magnésio	Fosfatos
	Ferro	Ionograma (Na,K,Cl)	
<b>Proteínas</b>	PCR	Albumina	Proteínas totais e proteinograma
<b>Anticorpos</b>	Factor reumatóide	TASO	
<b>Metabolismo hepático</b>	Bilirrubinas (BT, BD)	Transaminases (AST, ALT)	Fosfatase alcalina
		GGT	
<b>Metabolismo renal</b>	Creatinina	Ureia	Ácido úrico
		Albumina de baixa concentração	
<b>Enzimas</b>	Amilase	CK	LDH

**Tabela VI - Análises microbiológicas executadas no LAC**

Microbiologia			
<b>Bacteriologia</b>	Coprocultura	Exsudados (vaginal, uretral, faríngeo e nasal)	Urocultura
<b>Micologia</b>	Micologia (unhas, raspados)		Exsudado vaginal
<b>Parasitologia</b>	Exsudados (vaginal, uretral)	Parasitológico de fezes	
<b>Virologia</b>	Pesquisa de Rotavírus e Adenovírus nas fezes		

**Tabela VII - Análises imunológicas executadas no LAC**

Imunologia					
Marcadores infecciosos	HBV	HCV	HIV 1 e 2	Rubéola	CMV
	TXG	TXM	VDRL		
Marcadores tumorais	CEA	CA 125	CA 19.9	PSA	Ferritina
Hormonas	PRL	Estradiol	FSH	LH	Testosterona
	Progesterona	TSH	FT4 e T4		FT3 e T3
Anticorpos anti-tiroideus	ATG				ATPO
Grupos sanguíneos	AB0 e RH				TAD e TAI
Outros	Pesquisa de sangue oculto nas fezes				TIG

#### *Fase Pós-analítica*

É nesta fase que é feita a validação biopatológica dos resultados obtidos e a passagem dos mesmos para as folhas de trabalho para que depois possam ser processados administrativamente. É aqui feita também a interpretação dos resultados obtidos de forma a perceber se estes se encontram concordantes com o estado do/a cliente nas valências em que foi analisada a amostra.

São emitidos todos os relatórios com os resultados das análises, assinados pelo especialista, os quais serão depois entregues ao cliente que os requisitou ou outro requisitante, respeitando sempre as regras de confidencialidade.

# HEMATOLOGIA

A hematologia é um ramo da medicina que se dedica ao estudo do sangue e de todos os seus componentes figurados e não figurados, relacionando ainda estes elementos a todos os órgãos que por eles são afetados e a patologias que dessa associação derivam. Estuda todos os componentes sanguíneos desde a sua origem até à sua morte ou destruição.

A hematopoiese é o processo pelo qual se dá a formação de novas células sanguíneas, processo este que está dependente de vários factores de crescimento bem como de microambientes adequados ao crescimento e diferenciação das diferentes células. A medula óssea é o local mais apropriado para que este processo possa ocorrer, mas a hematopoiese não ocorre apenas a nível medular. Começa com a primeira célula precursora de todas as células sanguíneas, uma *stem cell* multipotente, que mais tarde irá dar origem a 2 linhagens distintas, sendo elas a mielóide e linfóide. Dentro da linhagem linfóide, a diferenciação ocorre com linfoblasto, prolinfócito e no final células dendríticas, linfócitos NK e ainda linfócitos maduros T e B, sendo que estes últimos ainda originam plasmócitos. Estes linfócitos T e B e ainda as células dendríticas são passíveis de aparecerem nos tecidos, além do sangue periférico.<sup>(1)</sup> (Figura 9)

Na linhagem mielóide há separação em três vias de maturação distintas: a linhagem eritrocitária, plaquetária e ainda linhagem leucocitária. A via de formação de plaquetas inicia-se com megacarioblasto, seguido por um promegacariócito, que posteriormente dá origem ao megacariócito trombocitogénico (célula polinucleada) e por fim as plaquetas em circulação. As plaquetas resultam da fragmentação do citoplasma dos megacariócitos e cada uma destas células pode dar origem a cerca de 16000 plaquetas. A linha eritróide é composta por: proeritroblasto, eritroblasto basófilo, eritroblasto policromático e eritroblasto acidófilo, reticulócitos (com maturação na medula e sangue periférico) e eritrócitos. Para os leucócitos a maturação inclui: mieloblasto, que irá dar origem a várias células: (Figura 9)

- monoblasto, promonócito e monócitos na circulação periférica, macrófagos nos tecidos.
- promielócito, mielócitos (neutrófilos, basófilos e eosinófilos), metamielócitos, bastonetes e neutrófilos, eosinófilos e basófilos.
- mastócitos, que vão surgir apenas nos tecidos.<sup>(1)</sup> (Figura 9)

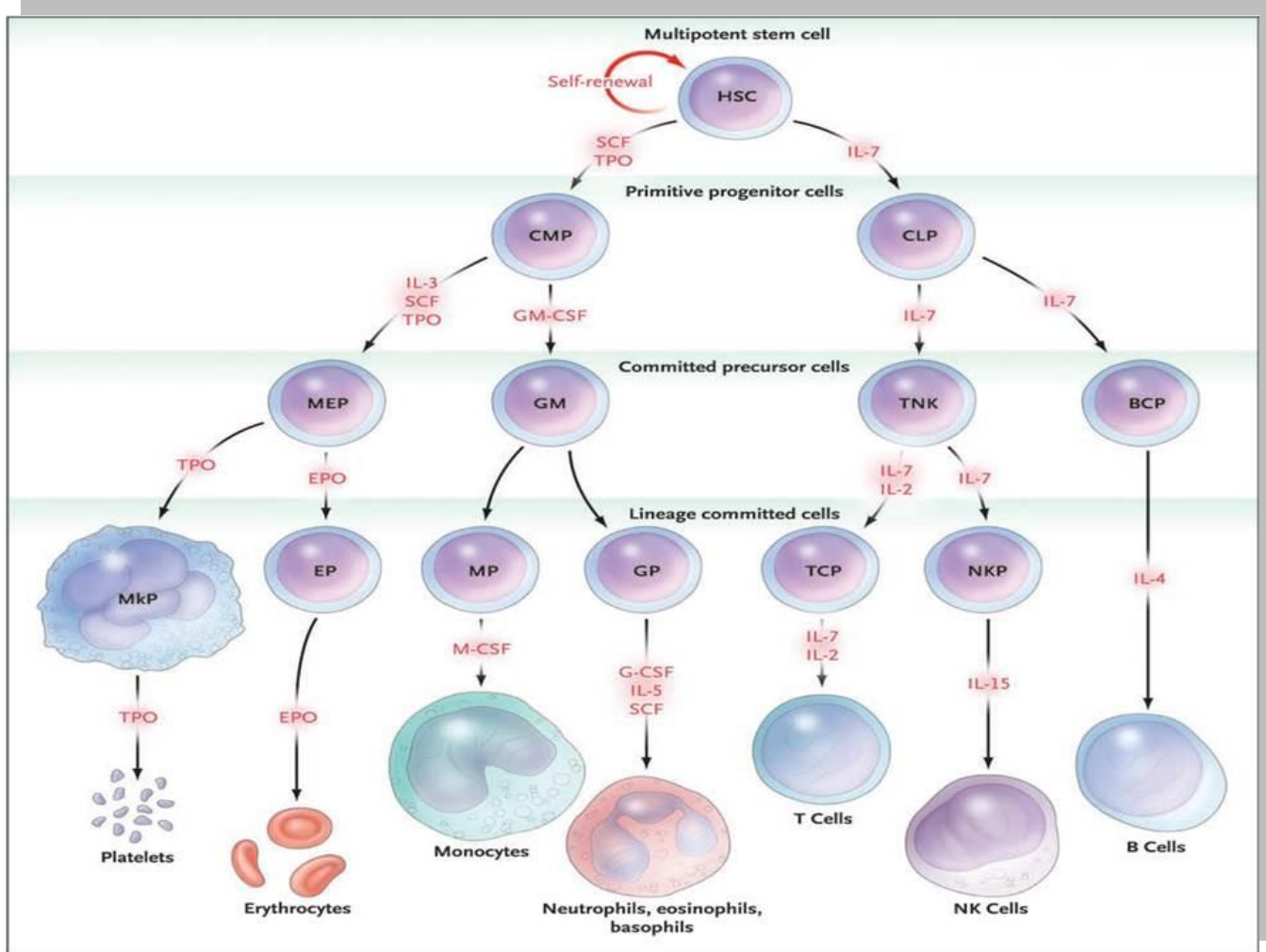


Figura 9 - Esquema da hematopoiese humana (retirada de *Clinical Hematology, Theory & Procedures, Fifth Edition, Mary Louise Turgeon, 2012, page 78*)

A hematologia é uma das áreas com maior volume de amostras diárias, sendo o sangue total colhido com EDTA K3 a amostra de eleição. O EDTA K3 é usado devido às suas propriedades anticoagulantes pois forma um complexo irreversível com o cálcio mas também devido à sua capacidade de funcionar como anti-agregante plaquetar.<sup>(1, 2)</sup> No LAC o contador automático utilizado para processar estas amostras é o MAX'M da *Beckman Coulter*. Este contador automático de partículas realiza as contagens utilizando o *Princípio de Coulter*, que se baseia na impedância para fazer as contagens celulares. Utiliza ainda a tecnologia **VCS** para fazer a contagem diferencial de leucócitos, a fórmula leucocitária. Os procedimentos diários de manutenção, modo de funcionamento, rotina de trabalho, reagentes e validação para o contador automático, encontram-se descritos na ITA02 do MBPL do LAC. (ver anexo 2)

## HEMOGRAMA

O hemograma é uma das análises mais requisitadas no LAC e também é uma das que tem maior importância no diagnóstico e monitorização de patologias, não só as que estão ligadas directamente ao sangue ou seus elementos figurados mas também outras que possam eventualmente ser sistémicas. No geral permite-nos ter uma ideia de como se encontra o sistema imunitário e hematopoiético. Esta é uma análise que é composta pelas contagens das diferentes células maduras sanguíneas e pelas quantificações de várias constantes relativas à mesma amostra. A observação ao microscópio óptico do esfregaço sanguíneo também é realizada, nos casos em que tal se justifique. Estes casos são, por exemplo, uma contagem muito baixa ou muito alta em qualquer das populações sanguíneas, impossibilidade de fazer contagem de alguma das populações ou a não realização da fórmula leucocitária pelo contador.



Figura 10 - Contador hematológico MAX'M (foto LACFFUC)

### **ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO**

O esfregaço sanguíneo é uma ferramenta muito útil nos casos acima descritos pois além de permitir fazer a contagem diferencial dos leucócitos, permite também observar a morfologia de todas as linhagens sanguíneas e fazer a identificação de células anormais ou alterações morfológicas significativas, o que vai ajudar na classificação de muitas patologias como sejam, por exemplo, as anemias. Este esfregaço sanguíneo tem de ser fixado com metanol para que em seguida se possa realizar a coloração do mesmo através da coloração de *MayGrünwald-Giemsa*.<sup>(3)</sup>



Os valores de referência para um hemograma de indivíduos adultos e saudáveis são:

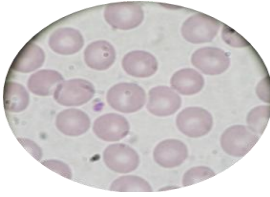
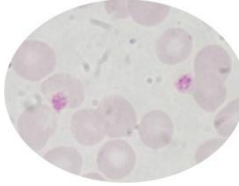
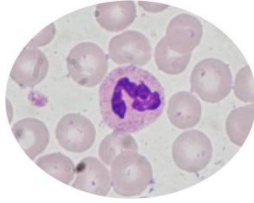
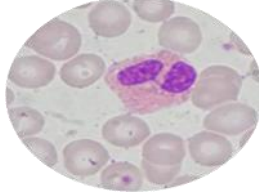
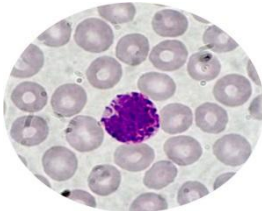
**Tabela VIII - Valores de referência Hemograma**

Parâmetros	Valores de referência	
<b>Eritrócitos</b>	Homens	4,5-5,9x10 <sup>12</sup> /l
	Mulheres	4,1-5,1x10 <sup>12</sup> /l
<b>Hemoglobina</b>	Homens	140-175 g/l
	Mulheres	120-153 g/l
<b>Hematócrito</b>	Homens	0,42-0,50 l/l
	Mulheres	0,36-0,45 l/l
<b>VCM</b>	Adultos	80-96 fl
<b>HCM</b>	Adultos	27-33 pg
<b>CHCM</b>	Adultos	300-350 g/l
<b>RDW</b>	Adultos	11,6-14%
<b>Leucócitos</b>	Adultos	4,0-11,0x10 <sup>9</sup> /l
<b>Neutrófilos</b> <b>Linfócitos</b> <b>Monócitos</b> <b>Eosinófilos</b> <b>Basófilos</b>	Adultos	# %
		2,0-7,0x10 <sup>9</sup> /l (40-80%)
		1,0-3,0x10 <sup>9</sup> /l (20-40%)
		0,2-1,0x10 <sup>9</sup> /l (2-10%)
		0,02-0,5x10 <sup>9</sup> /l (1-6%)
	0,02-0,1x10 <sup>9</sup> /l (<1%)	
<b>Plaquetas</b>	Adultos	150-400x10 <sup>9</sup> /l

## **OBSERVAÇÃO DE ESP**

As alterações que podem ser verificadas através da análise dos valores absolutos das contagens celulares e a identificação das células normais no ESP estão resumidas no seguinte quadro:

Tabela IX - Identificação de células do sangue periférico e alterações dos valores de contagem

Tipo de célula	Imagem em ESP	Alteração na contagem
<p><b>Eritrócitos</b> → células anucleadas coradas de forma acidófila, devido à presença de hemoglobina no seu interior, com forma arredondada e bicôncava denunciada pela ligeira hipocromia central da célula.<sup>(4)</sup></p>	 <p>Figura 11 - Eritrócitos (foto LACFFUC)</p>	<p>Aumento: eritrocitose Diminuição: eritropenia</p>
<p><b>Plaquetas</b> → fragmentos celulares de tamanho muito reduzido com forma irregular com presença de grânulos no seu interior.<sup>(4)</sup></p>	 <p>Figura 12 - Plaquetas (foto LACFFUC)</p>	<p>Aumento: trombocitose Diminuição: trombocitopenia</p>
<p><b>Neutrófilos</b> → células com citoplasma acidófilo, com núcleo lobulado com cromatina densa (entre 3 a 5 lóbulos) e presença de grânulos neutrófilos no citoplasma.<sup>(4)</sup></p>	 <p>Figura 13 - Neutrófilo (foto LACFFUC)</p>	<p>Aumento: neutrofilia Diminuição: neutropenia</p>
<p><b>Eosinófilos</b> → células com citoplasma acidófilo, núcleo normalmente bilobado com cromatina densa e com presença de grânulos grandes acidófilos por todo o citoplasma.<sup>(4)</sup></p>	 <p>Figura 14 - Eosinófilo (foto LACFFUC)</p>	<p>Aumento: eosinofilia</p>
<p><b>Basófilos</b> → células com citoplasma acidófilo, com núcleo lobulado (entre 2 a 3 lóbulos) com cromatina densa e com presença de grânulos grosseiros e grandes basófilos que estão distribuídos pelo citoplasma mas que podem estar sobrepostos ao núcleo também.<sup>(4)</sup></p>	 <p>Figura 15 - Basófilo (foto LACFFUC)</p>	<p>Aumento: basofilia</p>

**Linfócitos** → células normalmente pequenas, com citoplasma basófilo, núcleo sem lóbulos e com cromatina normalmente densa e com alta relação núcleo/citoplasma, sem presença de grânulos ou com presença de granulações azurófilas apenas na periferia do citoplasma.<sup>(4)</sup>

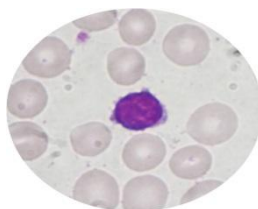


Figura 16 - Linfócito  
(foto LACFFUC)

Aumento:linfocitose  
Diminuição:linfopenia

**Monócitos** → células com citoplasma basófilo de tamanho variável e forma variável também, com núcleo sem lóbulos mas de forma variável (normalmente em forma de U) e com cromatina laxa, podendo haver ainda presença de vacúolos na célula.<sup>(4)</sup>

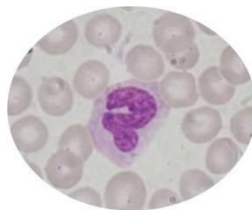


Figura 17 - Monócito  
(foto LACFFUC)

Aumento:monocitose  
Diminuição:monocitopenia

Devemos estar cientes de que as células nem sempre se apresentam de acordo com estas características principais e por isso devemos analisar com atenção a sua forma e coloração de todas as suas estruturas, para que possamos fazer uma correcta identificação do tipo de células que estamos a visualizar.

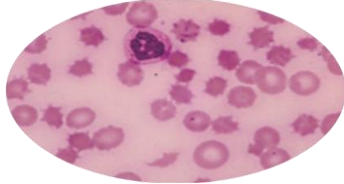
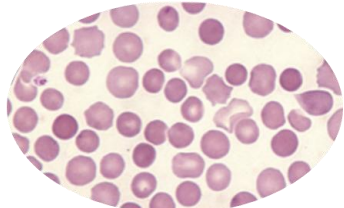
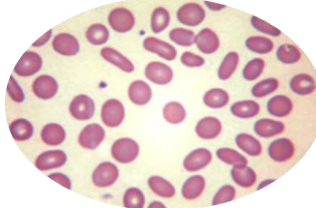
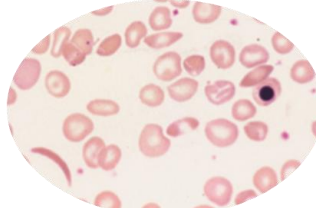
## **ERITRÓCITOS**

Na sua constituição normal o eritrócito possui na sua membrana proteínas como a actina, anquirina, proteínas de banda 3, banda 4.1, banda 4.2, espectrina, que no seu conjunto vão contribuir para que este tenha a sua forma bicôncava característica, mantendo a sua principal função que é o transporte de oxigénio de forma apropriada através dos capilares sanguíneos. Alterações na formação destas proteínas, como alterações genéticas, vão provocar malformações membranares com produção de eritrócitos todos semelhantes com a mesma deformação, causa esta que normalmente origina patologias com características bem definidas e de fácil identificação, tais como a esferocitose hereditária ou eliptocitose hereditária.<sup>(5-9)</sup> Estas formas alteradas dos eritrócitos resultam então de alterações no citoesqueleto ou alterações das proteínas membranares. Modificações na conformação do eritrócito podem ainda resultar de alterações na formação e produção de hemoglobina, normalmente associados a defeitos genéticos ou a deficiências na sua produção. Assim, relativamente aos eritrócitos, podemos encontrar várias formas alteradas num esfregaço

sanguíneo podendo estas estar ligadas directamente a patologias específicas ou situações de inflamação ou infecção. <sup>(7-11)</sup>

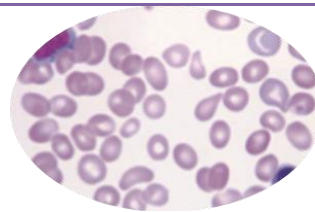
Os achados mais comuns relativos a esta matéria são:

**Tabela X - Alterações morfológicas dos eritrócitos**

Tipo de célula	Imagem ESP
<p><b>Acantócitos/equinócitos</b> – eritrócitos com espículas na sua membrana que estão associados geralmente a patologias hepáticas e/ou consequências de alcoolismo crónico, uma vez que estas alterações podem resultar de modificações no metabolismo do colesterol, importante na manutenção da estabilidade da membrana celular.<sup>(4, 9)</sup></p>	 <p><b>Figura 18 - Acantócitos</b> (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 82</i>)</p>
<p><b>Esferócitos</b> – resultam de alterações genéticas nas proteínas eritrocitárias como a banda 3, banda 4.1, anquirina ou espectrina, ou então resultam da sensibilização dos eritrócitos com anticorpos específicos para proteínas dos mesmos. Perdem a sua maleabilidade e diminuem o seu tamanho devido à forma esférica que adquirem, ficando desta forma mais frágeis também a alterações osmóticas que possam ocorrer.<sup>(4-6, 9, 12-14)</sup></p>	 <p><b>Figura 19 - Esferócitos</b> (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 77</i>)</p>
<p><b>Eliptócitos</b> – resultam das mesmas alterações genéticas que ocorrem no caso dos esferócitos, mas em proteínas diferentes ou de forma menos severa, daí que a deformação dos eritrócitos não seja tão intensa, sendo de qualquer forma comprometida a sua função normal devido a estas alterações.<sup>(4-6, 9)</sup></p>	 <p><b>Figura 20 - Eliptócitos</b> (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 73</i>)</p>
<p><b>Drepanócitos</b> – também designados por células em foice, resultam de uma alteração qualitativa da hemoglobina, neste caso há formação de origem genética de hemoglobina S, pela substituição de 1 aminoácido nas cadeias <math>\beta</math> da hemoglobina (6-ácido glutâmico <math>\rightarrow</math> 6-valina), provocando uma precipitação desta hemoglobina no interior dos eritrócitos no caso de haver baixa de pressão de oxigénio, o que vai provocar uma rigidez dos eritrócitos e por</p>	 <p><b>Figura 21 - Drepanócitos</b> (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 84</i>)</p>

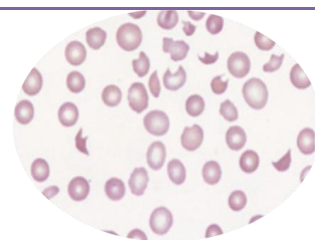
consequência uma deficiência da sua função normal. São característicos da drepanocitose ou anemia falciforme.<sup>(4, 9, 15)</sup>

**Dacriócitos** – células em forma de lágrima que aparecem devido a deformações na membrana eritrocitária e que estão associadas a situações de anemia ou situações mais graves como a mielofibrose ou insuficiência renal.<sup>(4, 9)</sup>



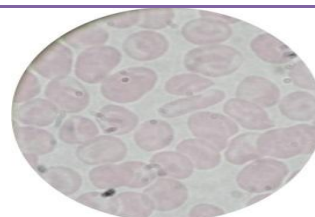
**Figura 22 - Dacriócitos (retirada de *Clinical Hematology, Theory & Procedures*, Fifth Edition, Mary Louise Turgeon, 2012, chapter 6 - page 134)**

**Esquizócitos** – eritrócitos que podem resultar de perdas de parte da membrana por parte dos eritrócitos previamente normais, sendo muitas vezes por esta razão denominados de fragmentos de eritrócitos. Podem resultar de problemas a nível de circulação sistémica, como as PTT ou PTI, ou ainda de motivos iatrogénicos como as substituições de válvulas cardíacas, por exemplo.<sup>(4, 9)</sup>



**Figura 23 - Esquizócitos (retirado de *Practical Haematology, Dacie and Lewis*, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 80)**

**Células em “charuto” (leptócitos)** – são células muito características de formato comprido e achatado, que aparecem frequentemente nas anemias sideropénicas e permitem ajudar no diagnóstico das mesmas.<sup>(4, 9)</sup>



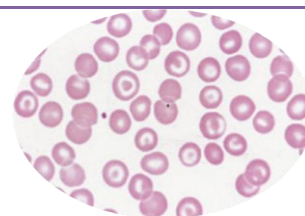
**Figura 24 - Leptócitos (foto LACFFUC)**

**Estomatócitos** – células que apresentam uma depressão descorada e central no seu interior, que podem resultar de alterações a nível da permeabilidade membrana aos iões e que são características do consumo crónico de álcool ou de problemas renais.<sup>(4, 9)</sup>



**Figura 25 - Estomatócitos (retirado de *Practical Haematology, Dacie and Lewis*, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 73)**

**Células em alvo (codócitos)** – apresentam-se como células que possuem uma zona descorada em redor de um ponto corado e concentrado a nível central, que resultam principalmente de problemas hepáticos.<sup>(4, 9)</sup>





**Figura 26 - Codócitos (retirado de *Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 83*)**

### *Inclusões eritrocitárias*

Podem ser observadas no ESP no interior dos eritrócitos e resultam de vários factores e até de níveis diferentes de hematopoiese. As que por mim foram observadas são:

**Tabela XI - Inclusões eritrocitárias**

Inclusões eritrocitárias	Observação ESP
<p><b>Corpos de <i>Howell-Jolly</i>:</b> resultam de precipitados de DNA que se encontram presentes no citoplasma dos eritrócitos devido a não serem retirados dos mesmos aquando da sua passagem pelo baço, daí que estes corpos se encontrem em indivíduos que foram esplenectomizados, que tem algum tipo de anemia hemolítica ou ainda anemia megaloblástica.<sup>(4, 10)</sup></p>	 <p><b>Figura 27 - Corpo de Howell-Jolly (foto LACFFUC)</b></p>
<p><b>Pontuado basófilo:</b> resulta da precipitação de ribossomas que estão ainda presentes no eritrócito e podem surgir devido a anemias hemolíticas, a intoxicações por metais pesados como o chumbo, deficiências nutricionais e ainda uso de drogas citotóxicas.<sup>(4, 10)</sup></p>	 <p><b>Figura 28 - Pontuado basófilo (retirado de <i>Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 5 - page 74</i>)</b></p>

**Policromasia:** variação de coloração de alguns eritrócitos em relação aos restantes, apresentando-se com uma coloração ligeiramente mais azulada/acinzentada, na coloração de *MayGrünwald-Giemsa*. Este tipo de achado pode corresponder a uma produção mais acelerada de eritrócitos por parte da medula, pois estas células são mais imaturas que os eritrócitos podendo representar a população de reticulócitos existentes na amostra.<sup>(4, 10)</sup>



**Figura 29 - Policromasia (foto LACFFUC)**

## **PLAQUETAS**

Resultam da fragmentação do megacariócito e têm como função principal a intervenção no processo hemostático do organismo, evitando a ocorrência de hemorragias. Relativamente à população plaquetar no ESP, também podemos encontrar diferentes tipos de população, sendo que a anisocitose plaquetar é bastante comum, seguida pela presença de plaquetas gigantes. Estas plaquetas gigantes resultam de um deficiente processo de produção das mesmas, que pode resultar de um défice de factor estimulador da trombopoiese, a trombopoietina, que está associado a estados de falência hepática, como a que encontramos em certos indivíduos alcoólicos. Podemos também encontrar diferentes tipos de agregação plaquetar presente na amostra apesar de esta ser posta em contacto com anticoagulante previamente. Assim, podemos estar perante uma agregação devido à produção de anticorpos anti-EDTA que vão consumir o anticoagulante usado e desta forma permitir que as plaquetas se agreguem. Por outro lado podemos ter uma agregação que pode indicar patologia ou apenas estados transitórios de ineficácia na produção das mesmas, que se refletem numa agregação em "tapete" em que várias plaquetas se encontram agregadas.<sup>(16)</sup>

## **LEUCÓCITOS**

São as células que têm como função fazer a defesa do nosso organismo contra material estranho, seja ele microorganismo ou moléculas tóxicas. Estão diferenciados em 5 diferentes tipos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos) e cada um tem um desempenho específico na nossa defesa. Enquanto uns são responsáveis por processos de fagocitose (neutrófilos e monócitos), outros estão mais envolvidos na libertação de moléculas citotóxicas (linfócitos), no reconhecimento de antígenos ou na produção de anticorpos (linfócitos). Em resumo estas são as células responsáveis pelo nosso sistema



imune, inato e adquirido.<sup>(17)</sup> Podemos encontrar as mais diversas alterações face ao que seria normalmente de esperar, tais como:

- Alterações nos grânulos
- Número de lóbulos
- Presença de mononucleares atípicos
- Células imaturas (blastos ou precursores medulares)

Existem ainda outras alterações não específicas logo torna-se difícil saber delinear claramente o que poderemos encontrar e neste, tal como em todos os casos, é necessário olhar caso a caso para conseguirmos traçar estratégias e chegarmos a conclusões acerca do que estamos a observar e do que é ou não importante para ajudar no diagnóstico ou monitorização de patologias. Apresento alguns exemplos de células atípicas por mim encontradas.

**Tabela XII - Leucócitos não característicos**

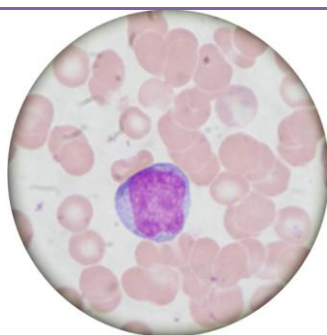


Figura 30 - Linfócito atípico (foto LACFFUC)

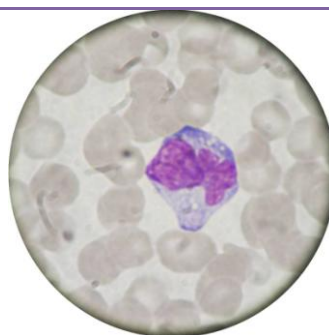


Figura 31 - Mononuclear atípico (foto LACFFUC)

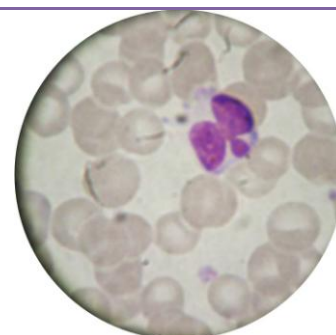


Figura 32 - Mononuclear atípico (foto LACFFUC)

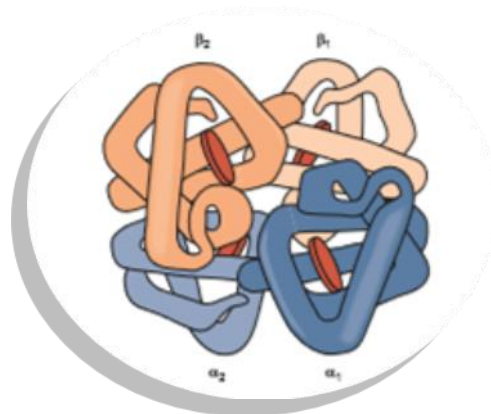
## ANEMIAS

Através da análise realizada num hemograma podemos fazer o despiste de uma das patologias mais comuns na comunidade, a anemia. A anemia é definida pela OMS como sendo um valor de hemoglobina inferior a 12g/dL para as mulheres e inferior a 13g/dL para os homens.<sup>(18, 19)</sup> **HEMOGLOBINA**

A hemoglobina é uma proteína quaternária constituída por uma parte globínica que está dividida em 4 cadeias proteicas, sendo as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  as mais comuns no adulto formando a hemoglobina A, e ainda por uma parte não proteica constituída por 4 grupos heme que têm capacidade para transportar 4 iões de ferro na sua forma de ferro ferroso ( $Fe^{2+}$ ), pois este é



o que vai permitir a ligação da hemoglobina ao oxigénio. As principais hemoglobinas do adulto são a Hb A( $\alpha_2\beta_2$ ), Hb A2( $\alpha_2\delta_2$ ) e Hb F( $\alpha_2\gamma_2$ ).



**Ilustração 2 - Hemoglobina A (retirada de *Clinical Hematology, Theory & Procedures, Fifth Edition*, Mary Louise Turgeon, 2012, chapter 2 - page 98)**

Assim, a hemoglobina tem a capacidade de transporte de 4 moléculas de oxigénio na sua forma de oxihemoglobina. Mas para além desta forma podemos ainda encontrar no nosso organismo as formas de desoxihemoglobina quando está não está ligada a moléculas de oxigénio e ainda a carboxihemoglobina quando esta se encontra ligada a monóxido de carbono. Um outro tipo de hemoglobina pode aparecer, a metahemoglobina, que resulta de uma presença de  $Fe^{3+}$  na molécula e um défice na distribuição de  $O_2$  pois este não é ligado nem distribuído pelos tecidos. A sua principal função é o transporte de oxigénio, devido a ser transportada pelos eritrócitos, para todos os tecidos. Ora se a quantidade de hemoglobina diminui facilmente percebemos que isso vai ter repercussões em todos os tecidos do organismo não havendo a correcta oxigenação dos mesmos e não vai ser possível estes terem o seu funcionamento normal.

O volume globular médio dos eritrócitos é medido exactamente pelo contador MAX'M através da metodologia de impedância e é dado o valor médio medido pelo contador, após a passagem de todos os eritrócitos. As restantes constantes eritrocitárias são calculadas pelo aparelho automaticamente através das seguintes fórmulas:

**Tabela XIII - Constantes eritrocitárias**

<b>HCM: hemoglobina g/L</b>	<b>pg (<math>10^{-12}</math>)</b>	<b>CHCM: hemoglobina (g/L)</b>	<b>g/L</b>
<b>eritrócitos x <math>10^{12}</math> /L</b>		<b>hematócrito (L/L)</b>	

O RDW é um valor percentual que nos indica o índice de variação de tamanho dos eritrócitos, ou seja, dá-nos ideia acerca da anisocitose presente nos eritrócitos da amostra, através da divisão entre o desvio padrão do histograma eritrocitário e o VGM, multiplicado por 100.

Existem vários tipos de anemia com etiologias diferentes, mas se as caracterizarmos de acordo com os parâmetros eritrocitários VGM e HCM, temos a seguinte divisão.<sup>(18-20)</sup>

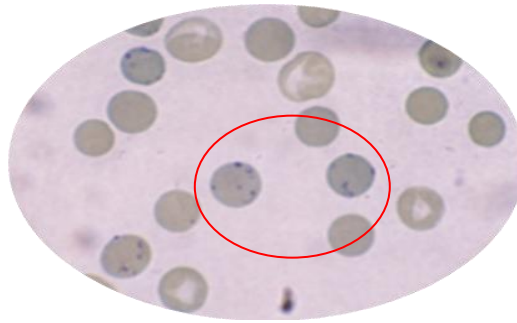
**Tabela XIV - Caracterização de tipos de anemia**

<b>Anemia</b>	<b>Constantes eritrocitárias</b>	<b>Causas</b>
<b>Microcítica hipocrômica</b>	VGM < 80fl HCM < 27pg	Anemias sideropénicas Anemias sideroblásticas Talassémias
<b>Normocítica normocrômica</b>	VGM 80-96fl HCM 27-33pg	Anemias das doenças crónicas Anemias hemolíticas
<b>Macrocítica</b>	VGM > 96fl	Anemias megaloblásticas: <ul style="list-style-type: none"> <li>• deficiências em vitamina B12 e ácido fólico (folatos)</li> <li>• anemia perniciosa</li> </ul> Anemias não megaloblásticas: <ul style="list-style-type: none"> <li>• medicamentos</li> <li>• álcool</li> </ul>
<b>Hiperocrômica</b>	HCM > 33pg	Esferoцитose hereditária AHAI

### **RETICULÓCITOS**

Os reticulócitos (Retic) são os precursores imediatos dos eritrócitos e estes podem ser encontrados em circulação no sangue periférico em situação fisiológica, sendo os seus valores normais entre 0.5% e 2.5%, representando este valor a percentagem de reticulócitos entre o total de eritrócitos, na circulação. Estas células já não possuem núcleo, tal como os eritrócitos, mas no seu citoplasma é possível observar a presença de fragmentos de ribossomas ou mitocôndrias quando sujeitos a coloração específica. A coloração que deve ser realizada para fazer a observação e contagem de reticulócitos utiliza azul-de-metileno novo. Esta mistura do sangue com o corante vai fazer com que as estruturas restantes no

citoplasma do Retic precipitem e assim vamos poder observar no microscópio o “reticulado” que lhes dá o seu nome.



**Figura 33 - Reticulócitos (retirado de *Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 3 - page 34*)**

Terá de ser feita a contagem de um número de cerca de 1000 eritrócitos e correspondente número de reticulócitos a eles associados, sendo a percentagem de reticulócitos dada pela razão entre o número de Retic contados sobre o número de GV contados multiplicada por 100. O seu número absoluto é dado pela razão entre a percentagem que obtivemos de Retic e o número de eritrócitos da amostra, sendo o resultado dado em valor de reticulócitos  $\times 10^9/L$ . Os valores normais para este parâmetro encontram-se entre 50 e  $100 \times 10^9/L$ .

A contagem e quantificação de Retic é importante para percebermos se a medula está a funcionar correctamente e se está a haver uma eritropoiese eficaz, uma vez que em casos de anemia hemolítica iremos encontrar uma percentagem de Retic aumentada no sangue periférico, correspondente ao facto da medula tentar compensar a perda excessiva de GV. Um aumento do número de Retic vai corresponder então a uma resposta favorável da medula à patologia em causa.<sup>(1, 19)</sup>

## CASOS CLÍNICOS

### CASO CLÍNICO I

Mulher com 31 anos de idade, sem informação clínica.

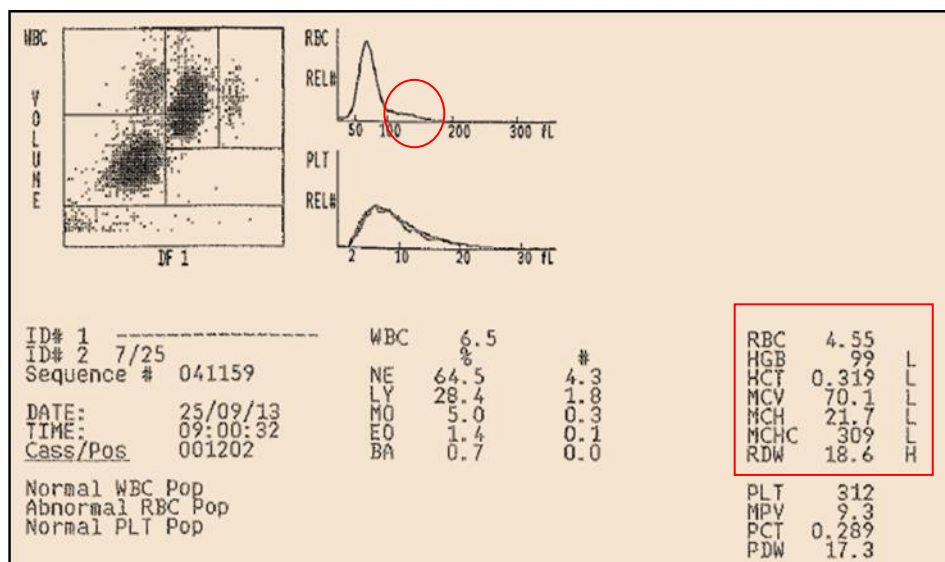


Ilustração 3 - Caso clínico I

Face aos resultados obtidos podemos verificar a existência de uma anemia que podemos considerar já severa (9.9g/dl de HGB), que em conjunto com os valores dos parâmetros eritrocitários podemos dizer que será caracterizada como microcítica (VGM=70fl) e hipocrômica (HCM=22pg). As restantes populações de células sanguíneas encontram-se aparentemente normais e sem alterações. Numa primeira avaliação podemos suspeitar de uma anemia sideropénica, o que é suportado pela presença de um RDW muito aumentado, característico destas situações e que revela um elevado grau de anisocitose dos eritrócitos, sendo que no histograma dos eritrócitos é possível verificar a presença de uma elevação anormal do lado direito do gráfico representativa de uma população ligeiramente dimórfica de eritrócitos (ver ilustração 2).<sup>(18, 21-23)</sup> Assim e perante estes resultados impõe-se realizar um ESP para termos uma melhor perceção do que realmente se passa com a amostra.

**Tabela XV - Caso clínico I ESP**

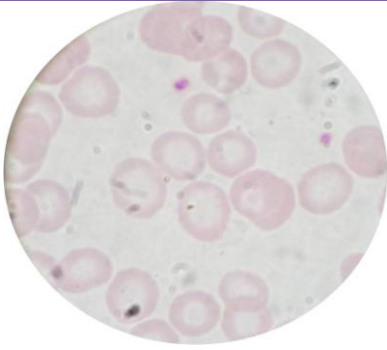


Figura 34 - Hipocromia eritrocitária  
(foto LACFFUC)



Figura 35 - Dacriócito (foto  
LACFFUC)

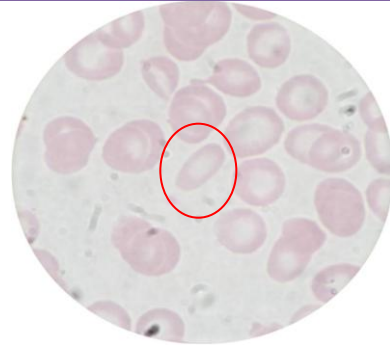


Figura 36 - Leptócito (foto LACFFUC)

No ESP foi verificada uma anisopoiquilocitose acentuada, eritrócitos hipocrômicos e bastantes eritrócitos em forma de "charuto" e dacriócitos, células estas que são características de patologias como a anemia sideropénica. Podemos ainda acrescentar que a amostra tinha um valor de VS=5mm/1<sup>a</sup>hora, ou seja, sem qualquer tipo de alteração logo poderíamos também descartar hipóteses como a anemia das doenças crónicas que normalmente levam a um aumento do tempo de VS. Mas para podermos ter o diagnóstico confirmado é necessário avaliar os níveis de ferritina, transferrina, ferro sérico e ainda TIBC, sendo que todos estarão diminuídos com excepção da TIBC se realmente se tratar da patologia em suspeita. Não foi possível aceder aos dados destes testes confirmatórios uma vez que não foram requisitados pela cliente. No caso de anemias sideropénicas como possivelmente será o caso, o tratamento mais eficaz será a terapia com ferro oral para que os seus níveis possam ser regularizados e volte a haver uma produção normal de hemoglobina.<sup>(18, 21-23)</sup>

## CASO CLÍNICO 2

Homem, 50 anos, consumidor crónico de álcool.

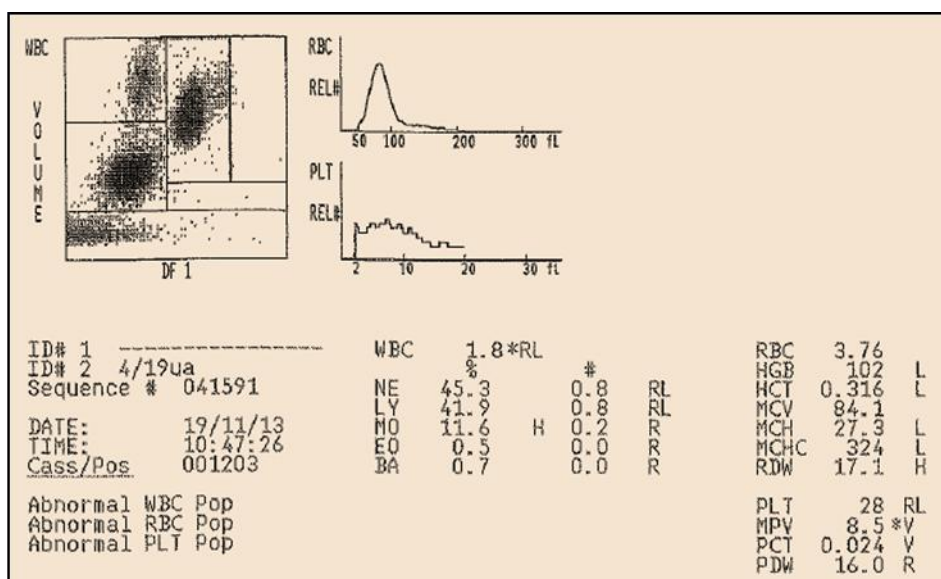


Ilustração 4 - Caso clínico 2

Face à observação do resultado vemos que há alterações significativas em todas as populações. Estamos, na avaliação eritrocitária, perante uma anemia (Hb=10,2g/dl) normocítica (VGM=84fl) e normocrómica (HCM=27pg). Vemos ainda que o valor de RDW se encontra elevado, correspondente a uma anisocitose celular. Normalmente este não é o quadro típico de um doente alcoólico crónico, pois estes geralmente podem ou não ter anemia, apresentam um valor de VGM muito elevado devido ao consumo de álcool e ainda uma falsa hiper Cromia dos eritrócitos devido ao valor de hematócrito que normalmente está baixo, como é o deste caso também, devido à desidratação que estes doentes apresentam. Na população plaquetar temos uma trombocitopenia muito severa em que o contador nem conseguiu traçar o histograma das plaquetas, situação esta que corresponde a uma falta de produção de trombopoietina, produzida no fígado, órgão este que está geralmente afectado nestes doentes dependendo a severidade da trombocitopenia de acordo com a cronicidade do alcoolismo. Quanto à população branca vemos que existe uma leucopenia também grave, uma vez que o valor inferior normal é de  $4 \times 10^9/L$ . Esta situação pode ser justificada pelo facto de o álcool ter um efeito tóxico ao nível do organismo mas em concreto ao nível medular, o que vai afectar desde logo todas as células sanguíneas.<sup>(11, 24)</sup> No ESP foram observadas as seguintes células, que vão de encontro ao que foi observado pelo contador automático:

**Tabela XVI - Caso clínico 2 ESP**

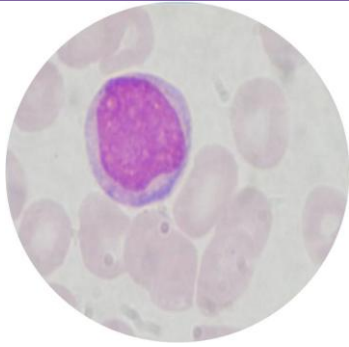


Figura 37 - Linfócito atípico (foto LACFFUC)

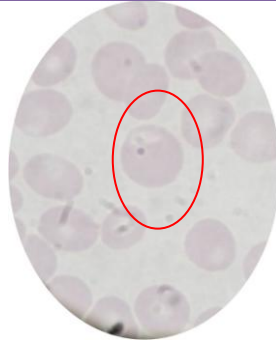


Figura 38 - Macrócito (foto LACFFUC)

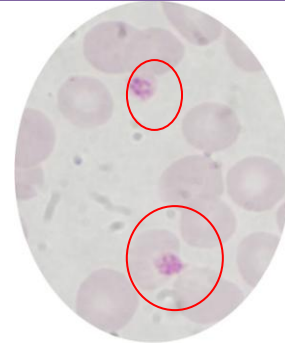


Figura 39 - Plaquetas gigantes (foto LACFFUC)

Para melhor perceber o que realmente se passava com este doente fomos estudar os valores obtidos nas restantes análises requeridas para o doente. Assim, obtivemos os seguintes resultados:

**Tabela XVII - Caso clínico 2 Bioquímica**

Resultados do doente (bioquímicos)	Valores de referência
<b>AST = 56 U/L</b>	Homem < 31
<b>ALT = 28 U/L</b>	Homem < 34
<b>FA = 132 U/L</b>	30 - 120
<b>GGT = 28 U/L</b>	Homem < 38 U/L
<b>BT = 1.3mg/dl</b>	0.3 - 1.2
<b>BD = 0.4mg/dl</b>	< 0.2

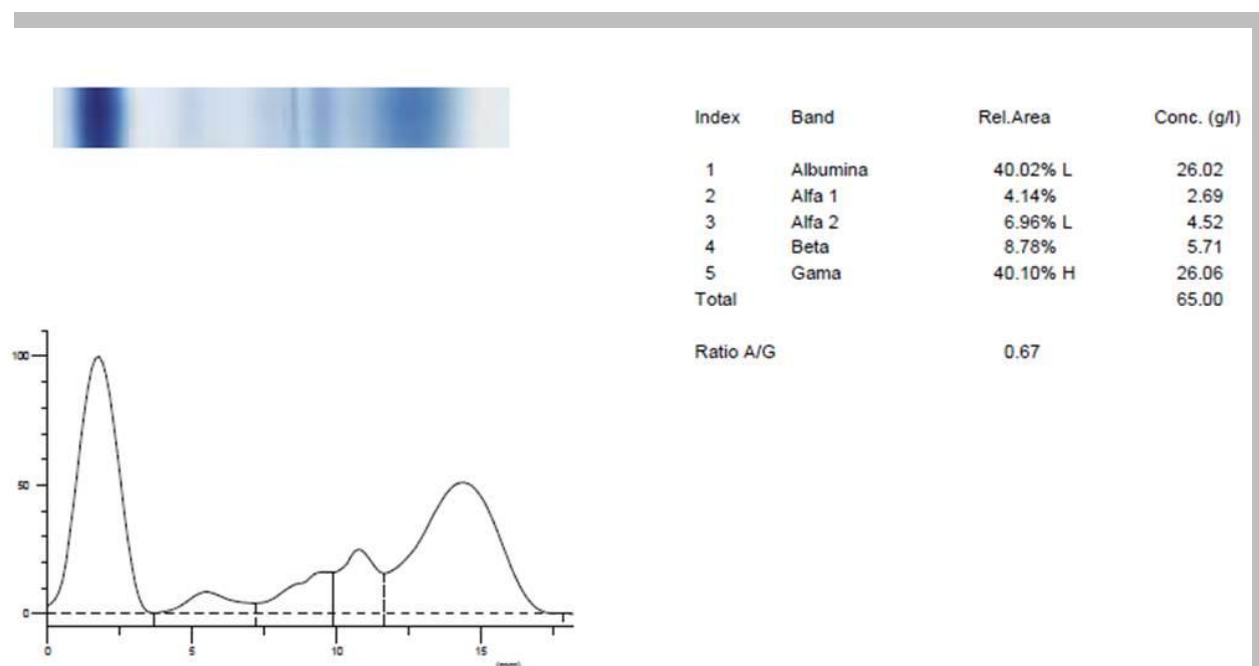
A análise destes valores deu-nos a informação de que haveria destruição de tecido, através do aumento da AST, mas mesmo este não é um aumento que seja significativo para o que seria de esperar para um alcoólico crónico com um hemograma como o que vimos anteriormente.<sup>(11, 24)</sup> Contudo estes resultados deixaram a suspeita de que o doente poderia estar já em fase de falência hepática, daí não haver resposta por parte das enzimas. Verificamos que o doente tinha um valor de VS = 17mm/h, o que também ainda se encontra dentro dos valores de referência para este parâmetro num homem, podendo ainda deixar um pouco de lado a ideia de que a leucopenia poderia resultar de uma infeção pois neste caso o valor de VS estaria mais elevado, presumivelmente. Bem, o doente tinha ainda

requisitado provas de coagulação, pelo que se efectuaram os tempos de protrombina e de tromboplastina parcial activada. Obtivemos valores de:

**Tabela XVIII - Caso clínico 2 Coagulação**

TP	Valores de referência	TTPa	Valores de referência
<b>23.7seg</b>	11 - 14	39.0seg	22.6 - 35
<b>INR = 2.26</b>	0.9 - 1.2		

Ora o tempo de protrombina é por excelência uma prova de função de síntese hepática, uma vez que estas vão refletir a capacidade de síntese hepática, responsável pela produção de grande parte dos factores de coagulação sanguínea. Neste caso o doente apresenta uma alteração significativa em ambas as provas, sinal de que há uma afectação grave do fígado e a capacidade de síntese do mesmo está reduzida. Finalmente foi realizado o proteinograma à amostra e obtivemos o seguinte resultado:



**Ilustração 5 - Proteinograma caso clínico 2**

O proteinograma fornece-nos informação acerca da maioria das proteínas do soro, sendo que estas migram, de acordo com o seu tamanho e carga, em diferentes zonas e formam cinco bandas bem definidas em que apenas a primeira é constituída por uma única proteína, a albumina. A última banda e também a mais difusa corresponde à migração das



gamaglobulinas, principalmente as imunoglobulinas. O rácio normal que se encontra nas amostras entre a albumina e as globulinas é superior a 1. A nossa amostra apesar de ainda ter um valor normal de proteínas totais (65g/L) tem uma grande diminuição no valor de albumina e um aumento do valor da banda gama que começa a formar um pico melhor definido, daí que resulte um rácio entre estas duas frações inferior a 1. Esta situação é bastante comum nos alcoólicos e cursa com o diagnóstico de cirrose hepática, situação em que há um aumento da banda gama devido à incapacidade do fígado de eliminar as imunoglobulinas que são geradas no resto do organismo e leva à sua acumulação. Esta situação também está de acordo com todos os valores que encontramos previamente e com a nossa suspeita inicial de falência hepática, o que nos faz entender as alterações profundas que encontramos no hemograma inicial pois a incapacidade de metabolizar o álcool consumido vai fazer com que este tenha uma maior efeito tóxico na medula logo há uma hematopoiese ineficaz, bem como uma ineficácia hepática na metabolização lipídica o que pode em parte justificar a manutenção do VGM celular, a trombocitopenia devido à falta de factor estimulante a trombopoietina. Por fim pode ainda haver já algum comprometimento renal devido à acumulação de produtos de metabolização tóxicos para as células renais e daí que este facto possa explicar em parte também a anemia já instalada, por falta do estimulante a eritropoietina produzida a nível renal.<sup>(11, 24)</sup> Devido à gravidade da situação decidimos contactar a Unidade de Alcoologia do IDT para relatar os achados de forma a poderem ser tomadas as medidas necessárias o mais rapidamente possível, sendo que nos foi transmitido pelo clínico que seguia o doente que este se encontrava realmente em estado cirrótico e que iria ser colocado em lista de espera para transplante hepático.

### CASO CLÍNICO 3

Mulher de 69 anos, sem informação clínica.

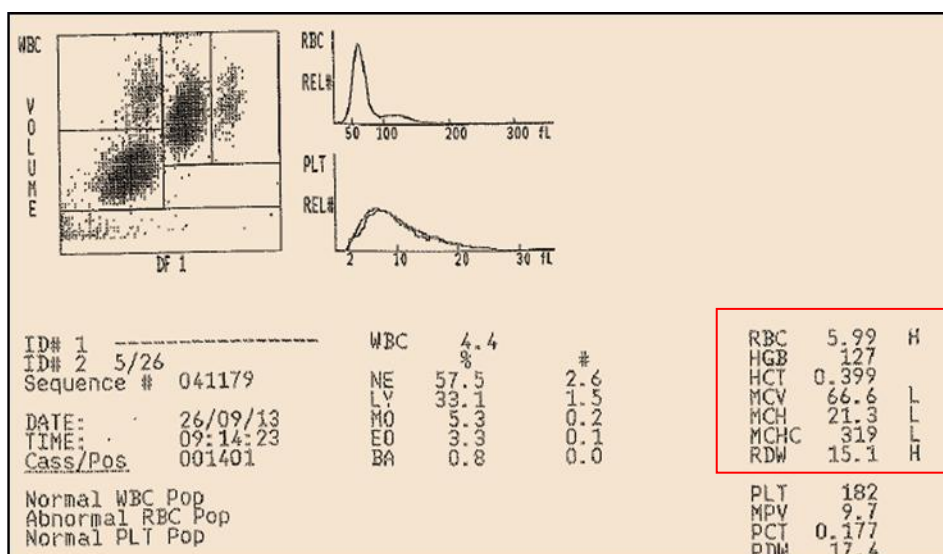


Ilustração 6 - Caso clínico 3

Ao analisarmos estes valores vemos que nos encontramos perante uma policitemia devido ao aumento do número de eritrócitos, acompanhada por uma microcitose (VGM=67fl) e hipocromia (HCM=21pg). O RDW está elevado mas não é um aumento muito significativo e deriva de alguma anisocitose natural da patologia em causa como descobrimos mais tarde. De referir que não existe anemia neste caso. Realizamos um ESP e foi observado o seguinte:

Tabela XIX - Caso clínico 3 ESP

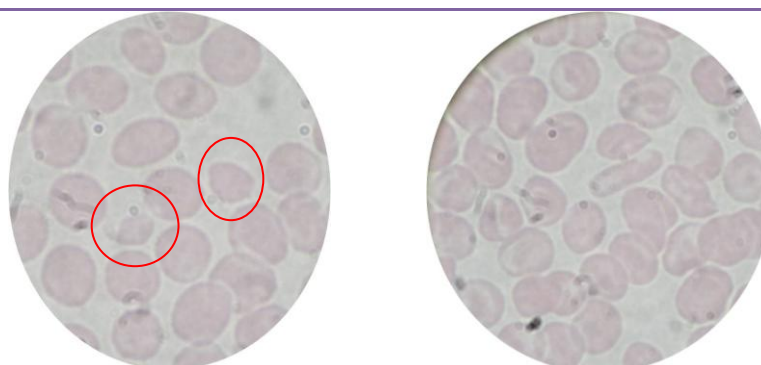
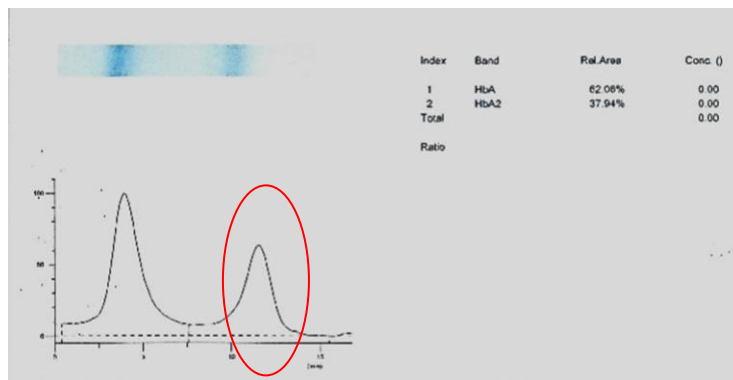


Figura 40 - Micrócitos (foto LACFFUC)    Figura 41 - Poiquilocitose (foto LACFFUC)

Com este quadro de resultados e ausência de anemia a hipótese mais provável de diagnóstico é a talassémia. As talassémias resultam da deleção de um ou mais genes responsáveis pela codificação das cadeias globínicas presentes em todas as moléculas de

hemoglobina, sendo que todos os indivíduos saudáveis possuem 4 genes responsáveis pelas cadeias  $\alpha$  e 2 genes responsáveis pelas cadeias  $\beta$ . As talassémias são doenças hereditárias e resultam de alterações quantitativas da hemoglobina. Podem ter várias apresentações genotípicas e fenotípicas, indo desde talassémias minor, intermédias até major. Num indivíduo adulto saudável a hemoglobina presente em maior quantidade é a HbA ( $\alpha_2\beta_2$ ) que corresponde a cerca de 96% da hemoglobina total, seguida pela HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) que atinge até 2.5% do total e ainda a HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ) que pode atingir até 1% do total. As características fenotípicas gerais da  $\beta$ - talassémia minor (cujo genes são  $\beta^-$ ) são habitualmente uma microcitose acompanhada de uma hipocromia natural dos eritrócitos devido à menor quantidade de hemoglobina que é produzida. Normalmente estas talassémias não são acompanhadas de anemia ou então podem ter anemia ligeira devido à compensação que o organismo faz produzindo mais HbA2 para utilizar as cadeias  $\alpha$  que tem em excesso ligando-as às cadeias  $\delta$  que não estão afectadas, além do aumento de número de eritrócitos de forma a tentar compensar esta mesma perda de hemoglobina normal. Sendo assim, para despiste destas patologias é necessário realizar uma electroforese de hemoglobinas de forma a perceber se a HbA2 está aumentada. No entanto é preciso ter atenção a situações em que há associação de  $\beta$ - talassémia minor com  $\delta$ - talassémia onde o que vai acontecer é que vamos ter uma HbA2 com percentagem normal, uma vez que não existem também cadeias  $\delta$  para compensar o excesso de cadeias  $\alpha$ . As formas mais severas de talassémia, quer  $\alpha$  ou  $\beta$ , levam a alterações mais graves dos eritrócitos e conduzem a anemias, obrigatoriamente, sendo muitas vezes estes doentes dependentes de transfusões sanguíneas para sobreviver, havendo problemas secundários com excesso de ferro devido a estas transfusões.<sup>(15, 20, 25, 26)</sup> Assim, para a nossa cliente foi feita uma electroforese de hemoglobinas, na qual obtivemos o seguinte resultado:



**Ilustração 7 - Electroforese hemoglobinas caso clínico 3**

Como podemos facilmente identificar, há uma redução muito acentuada da percentagem de HbA presente e um aumento proporcional de HbA2. Assim sendo, chegamos à conclusão que a nossa amostra possui uma  $\beta$ - talassémia menor que se encontra perfeitamente compensada e sem anemia.

## CASO CLÍNICO 4

Mulher com 66 anos, sem informação clínica.

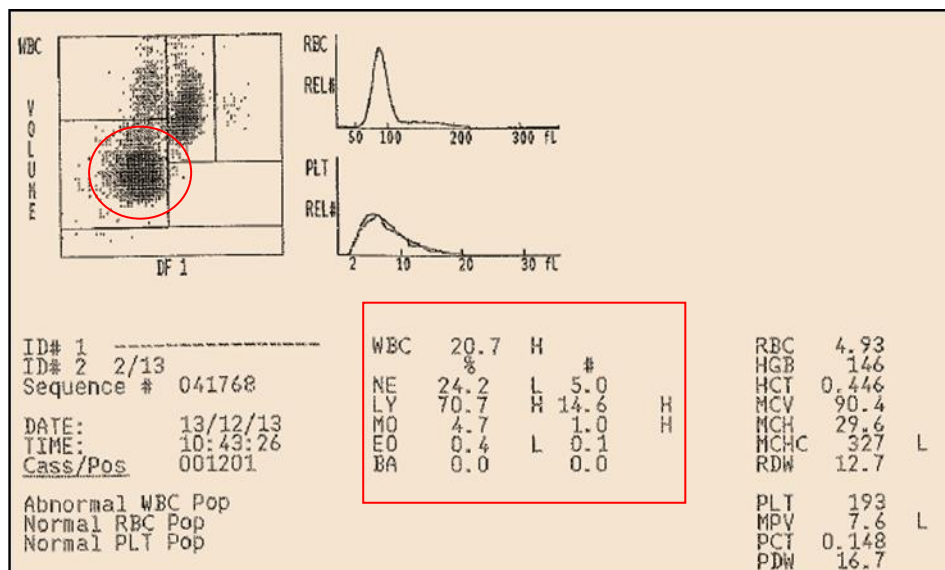


Ilustração 8 - Caso clínico 4

Na avaliação plaquetar e eritrocitária o hemograma apresenta-se normal mas na população branca vemos que existe uma grande elevação da contagem total de brancos, sendo que o limite superior de referência é  $11 \times 10^9/L$ , mas esta elevação é causada devido a uma linfocitose percentual e absoluta. Pela observação do scatter que nos é fornecido pelo contador verificamos uma grande concentração de células na zona onde habitualmente se encontram os linfócitos maduros (ver Ilustração 7), que são caracterizados por possuírem um tamanho pequeno e com uma baixa complexidade ficando estes então representados no primeiro quadrante esquerdo. Perante esta situação fomos realizar e observar o ESP para podermos tirar mais conclusões.

**Tabela XX - Caso clínico 4 ESP**

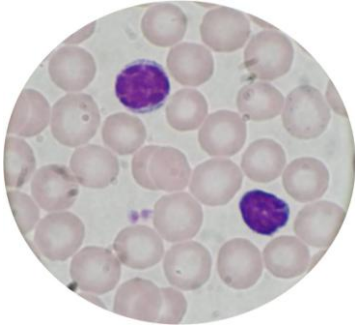


Figura 42 - Linfócitos maduros (foto LACFFUC)

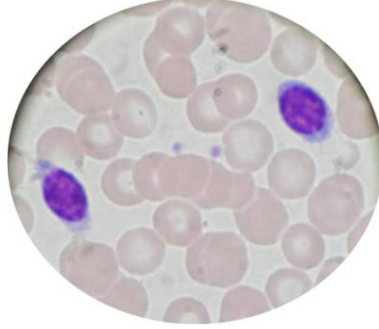


Figura 43 - Linfócitos maduros (foto LACFFUC)

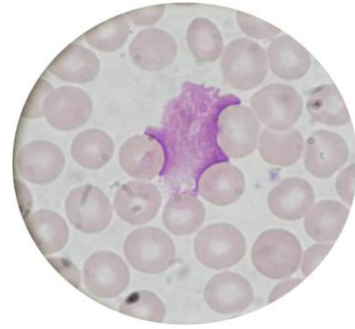


Figura 44 - Sombra nuclear (foto LACFFUC)

No ESP observamos realmente uma linfocitose marcada com presença de linfócitos maduros e pequenos com cromatina altamente condensada e muito escasso citoplasma e ainda detectamos a presença de bastantes sombras nucleares, que resultam da lise dos linfócitos maduros que se encontram mais frágeis e não resistem à pressão aplicada na execução do esfregaço sanguíneo. A cliente apresentava ainda um valor de PCR aumentado (PCR=8,5mg/L - Val.Ref. <1mg/L), valor este que pode estar relacionado com a doença em causa ou com uma prévia infecção que a cliente relatou no acto da colheita da amostra. Com estes achados muito provavelmente estaremos perante uma Leucemia Linfocítica Crónica, provavelmente do subtipo LLC-B.<sup>(27-29)</sup> Esta doença caracteriza-se por estes achados que encontramos no nosso hemograma realizado e clinicamente é definida como um Linfoma Não-Hodgkin Indolente, sendo que geneticamente está associada na maioria das vezes a uma translocação 14;18, translocação esta que vai activar a tradução do gene bcl-2 induzindo uma resistência destas células à apoptose e daí resultar o seu aumento no sangue periférico. Para termos um diagnóstico definitivo e caracterizar as células da doença especificamente para o nosso caso seria necessário realizar um estudo dos marcadores celulares expressos por estas células através de uma técnica de citometria de fluxo.<sup>(27-29)</sup>

A cliente voltou ao LAC e foi realizado um novo hemograma 5 meses após a amostra anterior.

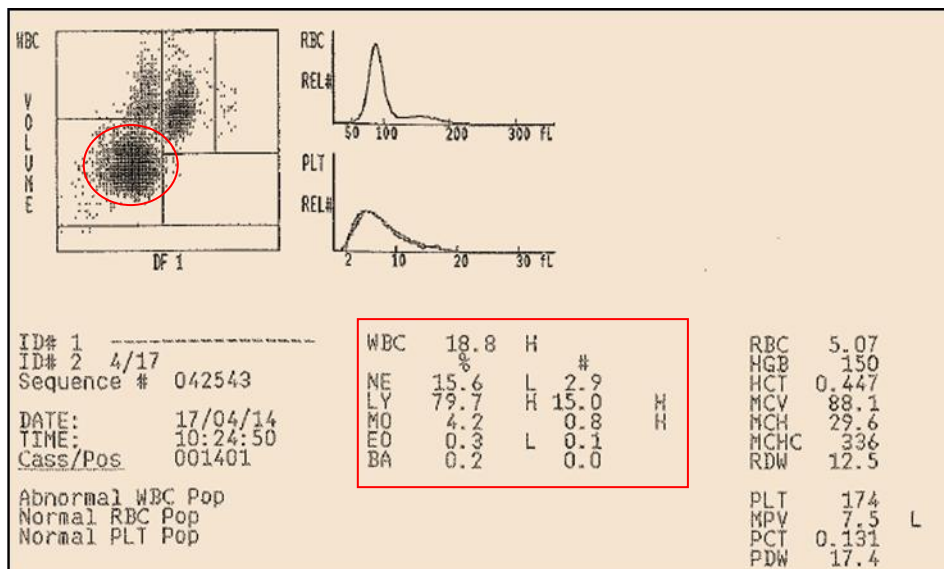


Ilustração 9 - Caso clínico 4.1

Tabela XXI - Caso clínico 4.1 ESP

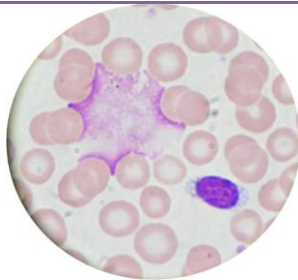


Figura 45 - Linfócito maduro e sombra nuclear (foto LACFFUC)

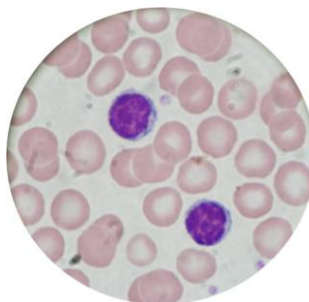


Figura 46 - Linfócitos maduros (foto LACFFUC)

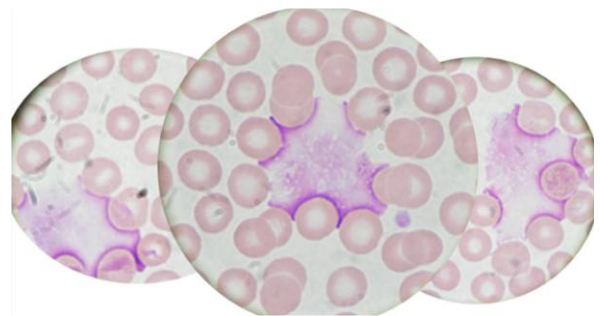


Figura 47 - Sombras nucleares (foto LACFFUC)

Novamente o quadro que a cliente apresenta é quase idêntico ao que anteriormente apresentava, apenas havendo uma ligeira descida no número total de leucócitos, mas mantém uma linfocitose absoluta e após realização e observação do ESP as mesmas características que já anteriormente tinham sido observadas mantiveram-se, com a presença do mesmo tipo de linfócitos maduros e a presença das sombras nucleares em grande quantidade também.

Assim, face à hipótese de LLC e em conversa com a cliente durante a colheita da amostra foi-me revelado que a cliente já conhece há bastante tempo a sua patologia mas que esta se tem mantido sempre dentro do controlo e efectua apenas ali o controlo com o hemograma no nosso laboratório, sendo que a cliente não efectua qualquer tipo de terapia dirigida para a patologia a nível de fármacos mas opta por um tratamento alternativo, realizando acupuntura.

## CASO CLÍNICO 5

Homem, 27 anos, consumidor crónico de álcool.

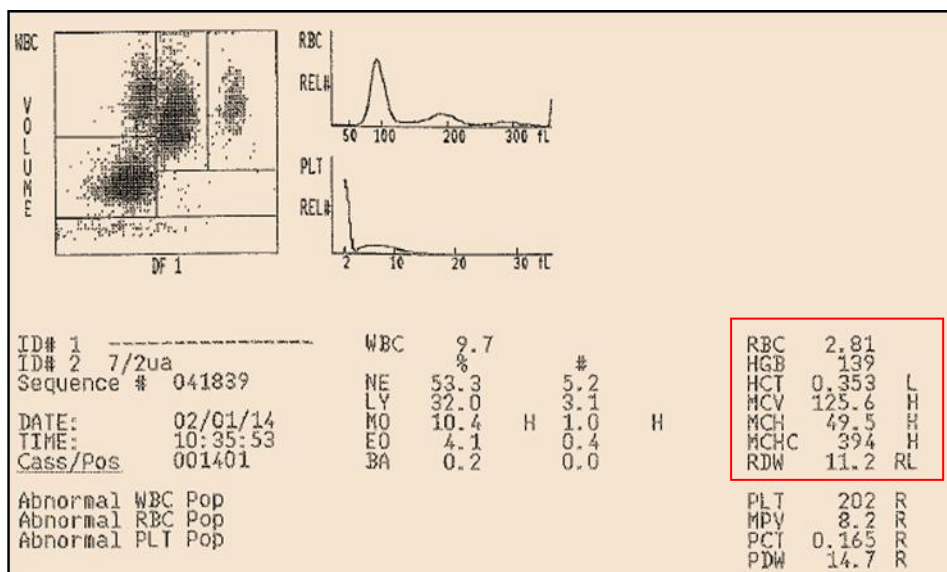


Ilustração 10 - Caso clínico 5

O doente não apresentava alterações significativas nas restantes populações, mas como se pode observar apresentava uma contagem do número total de eritrócitos muito reduzida acompanhada por uma macrocitose muito marcada e ainda por um valor de HCM extremamente elevado provavelmente não compatível com a realidade da amostra, uma vez que anemias hiperocrómicas são praticamente inexistentes e as que podem dar esse quadro resultam de alterações a nível das proteínas membranares eritrocitárias, mas mesmo estas não dão valores tão elevados como o que se apresenta aqui (HCM=50pg). Perante esta situação foi realizado o ESP e na sua observação observamos o seguinte:

Tabela XXII - Caso clínico 5 ESP



Figura 48 - Aglutinação eritrocitária (foto LACFFUC) Figura 49 - Aglutinação eritrocitária (foto LACFFUC)

Neste ESP vimos que apesar de estarmos numa zona óptima para observação do esfregaço havia sempre eritrócitos aglutinados em pequenos grupos de 2 a 3 eritrócitos e antes de pensarmos em algo mais descartamos a hipótese de estarmos perante um fenómeno de



*rouleaux*, visto que estes não se encontravam empilhados sob a forma de "pilha de moedas". Após esta hipótese ser posta de lado o que pusemos como hipótese foi a presença de aglutininas a frio, sendo que pensamos nesta hipótese pois o facto de a colheita da amostra já ter sido realizada à algum tempo na Unidade de Alcoologia acrescido do facto de a temperatura ambiente ser bastante baixa na altura em que recebemos a amostra (Janeiro de 2014), facilita a ação destas aglutininas se estas realmente existirem. As aglutininas a frio são anticorpos dirigidos contra proteínas específicas dos eritrócitos mas que apenas têm capacidade de aglutinar os mesmos quando a temperatura é inferior à temperatura normal do organismo, normalmente inferior a 35-36°C. A presença destes anticorpos pode levar a situações como as de hemoglobinúria paroxística nocturna pois durante a noite e o sono nas alturas em que a temperatura é mais baixa há uma redução da temperatura corporal e estes anticorpos após ligação aos eritrócitos vão fazer com que estes sejam lisados e provoque o aparecimento de hemoglobina na urina. Ora posta esta hipótese o que decidimos fazer foi aquecer a amostra a 37°C durante cerca de 5-10 minutos e fazê-la passar novamente após aquecimento no contador MAX'M. O resultado que obtivemos após este procedimento foi o que se apresenta a seguir:

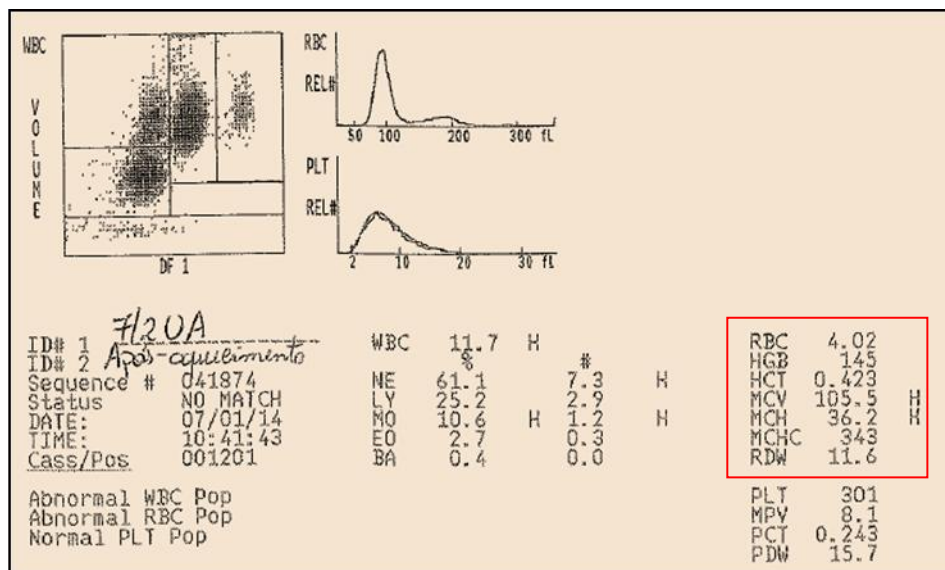


Ilustração 11 - Caso clínico 5.1

Desde logo notamos uma diferença enorme nas contagens e medições realizadas. A amostra apresenta agora uma contagem total de eritrócitos já normal com um valor de HCM já muito perto do valor de referência também (36pg). Quanto ao VGM (106fl) verificamos que se mantém a macrocitose, mas não nos podemos esquecer de que se trata de um doente consumidor crónico de álcool. De qualquer maneira realizamos ainda o ESP dentro de estufa



a 37°C e com material aquecido (lâmina, lamela e capilar) seguido imediatamente por coloração para vermos se conseguimos observar diferenças também ao microscópio óptico. O que observamos neste ESP foi o seguinte:

**Tabela XXIII - Caso clínico 5.1 ESP**

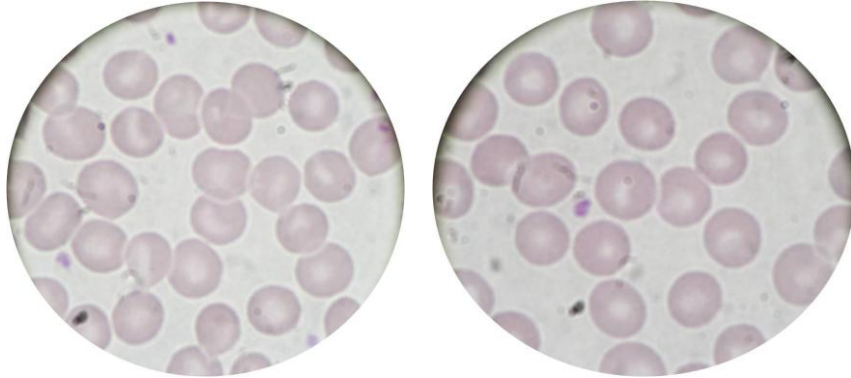


Figura 50 - Eritrócitos (foto LACFFUC)

Figura 51 - Eritrócitos (foto LACFFUC)

Vemos pelas imagens que o número de eritrócitos aglutinados é muito menor e que realmente existe uma dispersão maior dos eritrócitos quase como o que normalmente se observa em ESP sem patologia associada ou tal como os restantes que são habituais consumidores crónicos de álcool. Realizamos apenas como forma de tentar obter confirmação da nossa hipótese de diagnóstico um TAD em que a utilização de antiglobulina humana nos permite verificar se os eritrócitos realmente se encontram sensibilizados com anticorpos à sua superfície. Mas o resultado que obtivemos nesta técnica foi negativo, o que pode significar que os anticorpos não se encontravam já nesse altura ligados aos eritrócitos ou que estes possuem uma capacidade muito baixa de ligação e aglutinação dos eritrócitos, que apenas é exacerbada por uma diminuição drástica da temperatura. Na primeira contagem que foi feita pelo MAX'M obtivemos os valores referenciados devido ao facto de os eritrócitos estarem aglutinados e serem contados como apenas uma única partícula, sendo medidos com um volume muito superior ao real, pois são contados conjuntos de eritrócitos e não apenas um eritrócito de cada vez, visto que o contador não consegue distinguir essa aglutinação. Quanto à presença de um valor de HCM tão elevado deve-se ao facto de este ser feito através de um cálculo em que é utilizada a quantidade de hemoglobina e o número de eritrócitos, logo com um número tão baixo de eritrócitos e com um valor normal de hemoglobina, pois esta só é medida após lise dos eritrócitos, naturalmente obtemos um valor extremamente elevado e falseado. Se tivermos em linha de conta o valor de CHCM vemos que este também está muito elevado, pois este também resulta de um cálculo entre a hemoglobina e o hematócrito, sendo que para uma hemoglobina normal

vemos que o doente possui um hematócrito baixo, daí o aumento deste parâmetro. Assim, este caso da presença de aglutininas frias não tem à partida qualquer tipo de implicação na vida diária do doente uma vez que à temperatura corporal normal estes não têm capacidade de ligação aos eritrócitos, mas temos de ter em atenção a presença dos mesmos em amostras para a área de hematologia pois podem colocar-nos problemas para os quais temos de estar atentos para que não seja permitida a saída de resultados falseados e também para sabermos como lidar com estes problemas na rotina laboratorial e conseguir a sua resolução.<sup>(2, 30)</sup>

## CASO CLÍNICO 6

Homem com 58 anos, com diagnóstico de *Diabetes mellitus*.

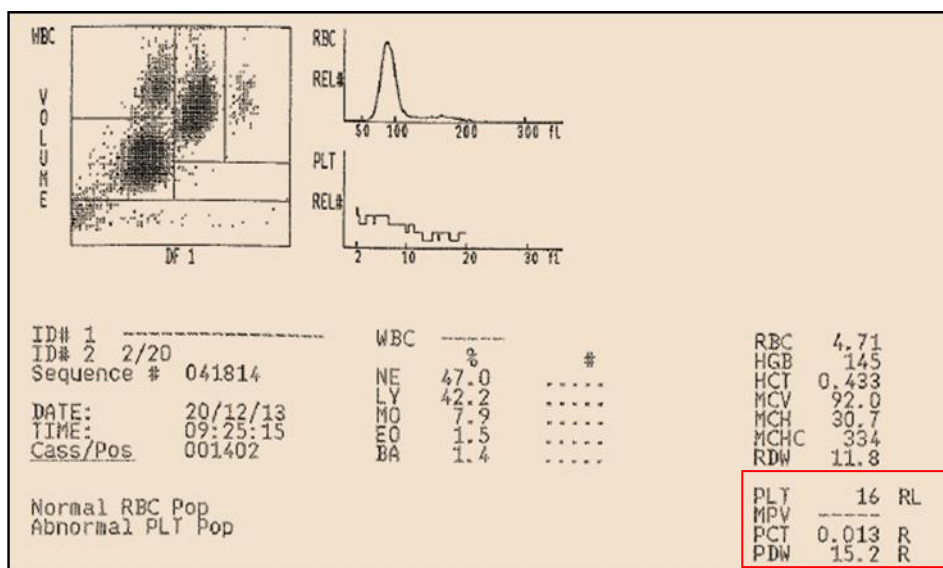


Ilustração 12 - Caso clínico 6

Ao olhar para o resultado vemos que apesar de ser apresentado o *scatter* dos leucócitos o contador não nos forneceu o valor absoluto dos leucócitos pois apesar de este fazer as contagens não obteve valores de contagem concordantes. Para além disso vemos que tivemos uma contagem de plaquetas de 16000. Este valor é uma trombocitopenia muito severa e que é considerado uma emergência pois o doente pode estar sujeito a hemorragias graves. Como primeira ação decidimos repetir o hemograma uma vez que o facto de os leucócitos não terem sido contados também poderia indicar que houve algum problema com o contador ao realizar este hemograma ainda que o controlo interno tenha sido realizado e dado os valores correctos. Acabamos por realizar várias repetições do hemograma e na última repetição obtivemos os seguinte resultado:

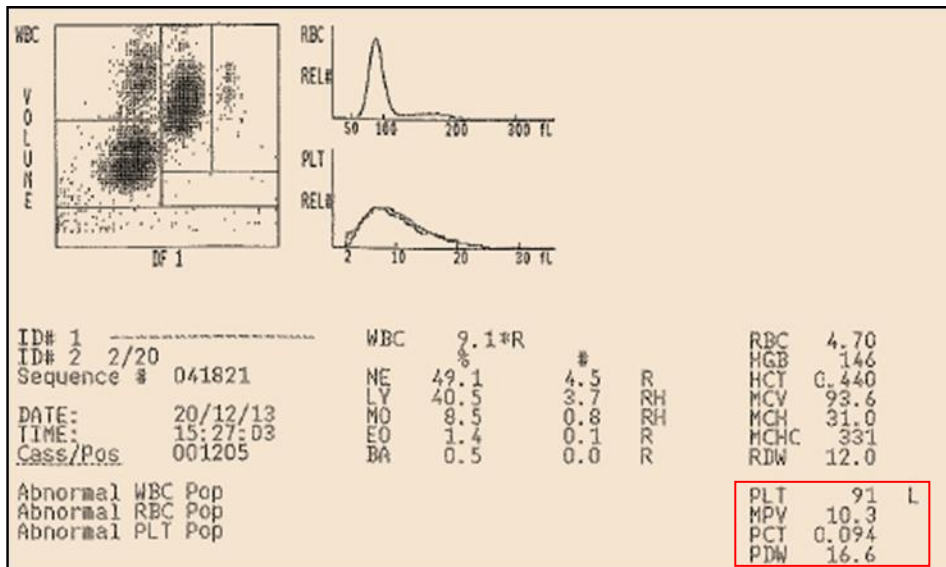


Ilustração 13 - Caso clínico 6.1

A contagem dos leucócitos foi realizada e os parâmetros eritrocitários mantiveram-se mas o valor de plaquetas aumentou significativamente, para 91000, apesar de ainda ser mantida a trombocitopenia já não é tão preocupante como o valor que tínhamos obtido previamente. Fizemos várias repetições do hemograma pois verificamos que o valor das plaquetas ia aumentando gradualmente à medida que o tempo passava e que o tubo estava no agitador automático. Entre as várias repetições realizamos claro um ESP para termos uma percepção então do que poderia estar a ocorrer com a amostra. O que foi observado no ESP foi o seguinte:

Tabela XXIV - Caso clínico 6.1 ESP

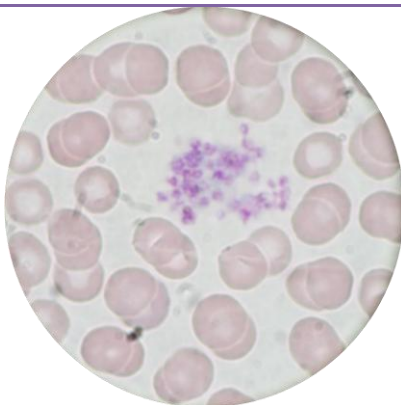


Figura 52 - Agregado plaquetar (foto LACFFUC)

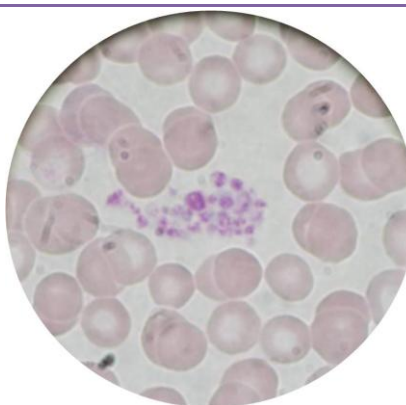


Figura 53 - Agregado plaquetar (foto LACFFUC)

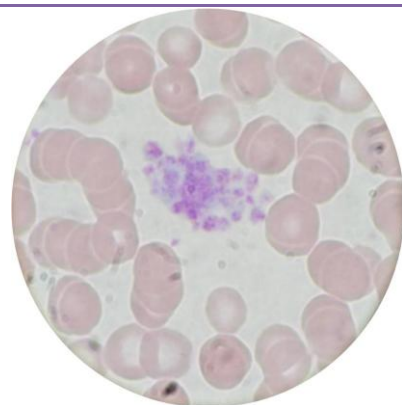


Figura 54 - Agregado plaquetar (foto LACFFUC)

A primeira ideia que poderíamos ter seria a presença de anticorpos anti-EDTA mas pela observação do tipo de aglutinação plaquetar que encontramos começamos a descartar essa hipótese, pois a agregação que vimos aparecia com as plaquetas em forma de "tapete", ou

seja, uma ou mais plaquetas maiores rodeadas por plaquetas mais pequenas à sua volta. Outro factor que nos levou a desviar dos anticorpos anti-EDTA foi o aumento sucessivo da contagem plaquetar com o passar do tempo, o que não aconteceria com a presença de anti-EDTA uma vez que a presença desses anticorpos iria consumir cada vez mais o EDTA presente no tubo de colheita e originar contagens cada vez mais baixas de plaquetas. A presença de aglutinados de plaquetas em "tapete" faz mais sentido com o aumento das contagens de plaquetas uma vez que a agitação do tubo faz com que se libertem as plaquetas mais pequenas dos agregados. Um fenómeno deste género resulta de uma ineficácia na trombopoiese que pode ter por trás várias causas, entre elas problemas hepáticos, presença de tóxicos medulares ou ainda deficiências alimentares ou nutricionais. Fomos então ver quais os restantes resultados que estavam associados ao doente.<sup>(16, 31)</sup> Verificamos que este é diabético não controlado e tinha aparente hipotireoidismo.

O quadro de trombocitopenia pode ser resultado da acumulação destas patologias e dos seus efeitos a nível metabólico no organismo, nomeadamente com o efeito tóxico da glicose em concentrações muito elevadas e a deficiente metabolização glucídica devido ao hipotireoidismo. Pode haver também um certo grau de afectação hepática devido a estas patologias e daí a situação encontrada.<sup>(16, 31)</sup> Mais tarde o cliente voltou ao LAC e verificamos que houve uma melhoria ligeira nos parâmetros relacionados com a diabetes assim como os parâmetros relacionados com o hipotireoidismo (ver Tabela XIII). Para além disso, apesar de manter uma trombocitopenia, esta é muito mais ligeira comparada com a que nós encontramos no hemograma demonstrado, com um valor de plaquetas de 140000. Poderá estar aqui um efeito de melhoria devido à melhoria do estado geral do cliente.

**Tabela XXV - Resultados Caso clínico 6**

Resultados Caso Clínico 6		
1ª amostra	2ª amostra	Val. Ref.
<b>Glicose</b> - 347mg/dl	255mg/dl	74-106mg/dL
<b>HbA1c</b> > 13.8%	10.4%	4-6,2% (unidades DCCT)
<b>TSH</b> - 53.04mUI/L	42.17mUI/L	0,25-5mUI/L
<b>FT4</b> - 10.63pmol/L		10,6-19,4pmol/L

## OUTROS CASOS CLÍNICOS

Durante o estágio foram encontrados ainda dois casos curiosos que resultaram de hemogramas realizados no LAC, realização dos respectivos esfregaços e pesquisa no histórico acerca de informações anteriores dos clientes em questão. No primeiro caso encontramos algumas alterações pouco específicas na parte leucocitária de uma amostra que pertencia a uma jovem. Assim, realizamos o ESP da amostra e encontramos o seguinte:

**Tabela XXVI - Mononucleose infecciosa ESP**

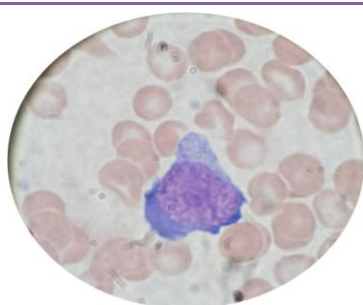


Figura 55 - Linfócito ativado (foto LACFFUC)

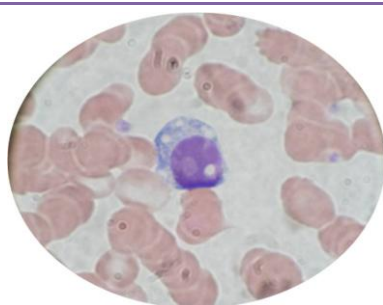


Figura 56 - Linfócito com núcleo apoptótico (foto LACFFUC)

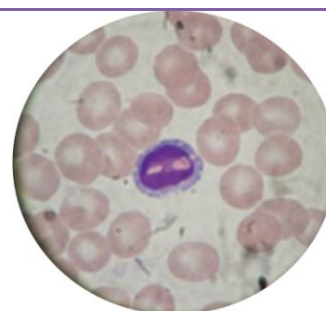


Figura 57 - Linfócito com núcleo apoptótico (foto LACFFUC)

Apesar de este não ser o aspecto típico das células pertencentes à patologia em causa, e após investigação de como poderíamos classificar estas células, chegamos à conclusão de que além dos linfócitos ativamos temos a presença de linfócitos com núcleos apoptóticos, características estas que nos indicam que estamos perante uma mononucleose infecciosa causada pelo agente EBV.

O outro caso com que nos deparamos foi o de uma Leucopenia Étnica Crónica, presente numa mulher de raça negra, caracterizada por uma leucopenia constante ao longo da sua vida. Verificamos o nosso histórico para esta senhora desde que a mesma começou a realizar as suas análises no LAC e vimos que esta apresenta sempre uma leucopenia da mesma ordem de grandeza em todos os hemogramas. Através de pesquisa concluímos que realmente se poderia tratar de uma situação destas e que esta alteração não tem qualquer influência na vida diária da cliente.

## HEMOSTASE

A hemostase é o processo pelo qual ocorre a formação do coágulo sanguíneo e a sua consequente destruição, através do processo de fibrinólise. Está dependente de variados factores, tais como sejam as plaquetas, os factores de coagulação e ainda iões que vão funcionar como cofactores ou activadores de factores de coagulação. É importante referir que os factores de coagulação se encontram sempre em circulação mas apenas são activados em circunstâncias especiais e face ao aparecimento de moléculas que vão promover a sua activação. Assim, as plaquetas estão implicadas numa resposta primária à lesão ocorrida num vaso de forma a parar a hemorragia. Estas vão actuar através da sua agregação e adesão ao endotélio de forma a formarem uma rede que vai permitir não só a paragem da hemorragia mas uma base sustentada para a formação posterior do coágulo. Também são responsáveis pela libertação de factores activadores da cascata de coagulação e libertação de substâncias pro-coagulantes, através da sua desgranulação. As principais proteínas envolvidas neste processo plaquetário encontram-se à superfície das suas membranas e são designadas como proteína Ia/Ib e IIb/IIIa, responsáveis pela adesão e agregação plaquetar, sendo que qualquer alteração nestas proteínas irá levar a situações patológicas e de problemas na hemóstase, como sejam por exemplo as doenças de Bernard-Soulier ou a Trombostenia de Glanzman.<sup>(32, 33)</sup>

Outro importante interveniente neste processo é o Factor de VonWillebrand (FvW), que tem como sua principal função promover a agregação de plaquetas e sem o qual não é possível ocorrer uma hemostase correcta e funcional. A deficiência neste factor é uma das principais e mais prevalentes patologias relacionadas com a hemostase.<sup>(32, 33)</sup>

Por fim ocorre um dos grandes processos da hemostase e que envolve proteínas activadas consecutivamente, designado por cascata da coagulação. Este é um processo *in vitro* pode ser separado em duas vias separadas que culminam numa via comum, mas que *in vivo* não é possível fazer a sua distinção e ambas as vias ocorrem simultaneamente sem que haja detrimento de uma em relação à outra. (ver Ilustração 13)

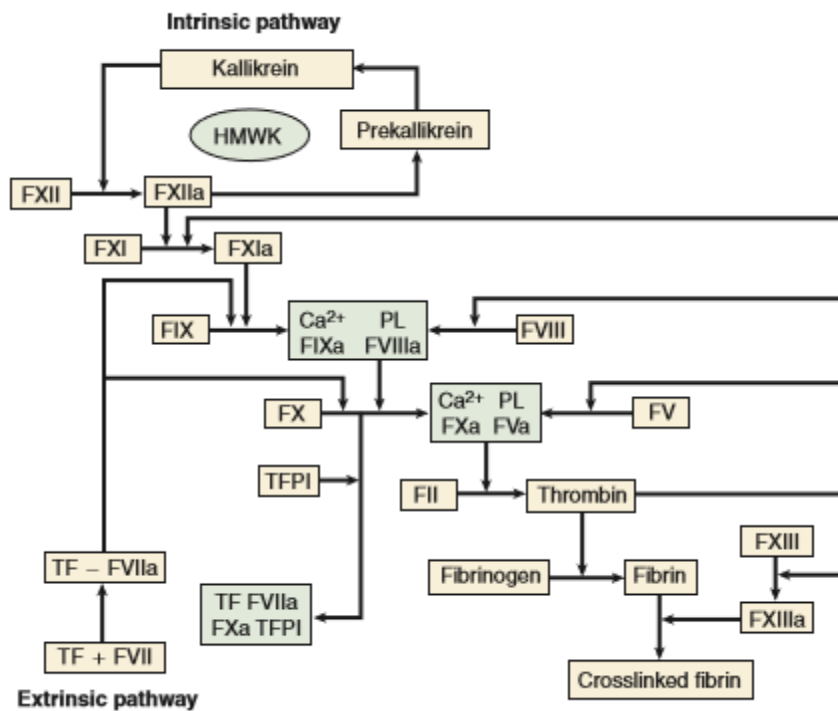


Ilustração 14 - Cascata da coagulação (retirado de *Practical Haematology, Dacie and Lewis, Eleventh Edition, Elsevier, 2011, chapter 18 - page 397*)

Para que este seja um sistema funcional e não prejudicial, a hemostase é composta não só pela formação do coágulo mas também pela sua destruição, ou seja, a fibrinólise. Este é um processo paralelo ao anterior e ocorre em simultâneo, sendo potenciado pelas proteínas C e S, proteínas estas que vão ser responsáveis pela inibição quer do factor V quer do factor VIII. Uma outra proteína muito importante para este processo é a plasmina que deriva do plasminogénio e que é responsável pela degradação da fibrina e provoca a libertação de produtos de degradação de fibrina, que também podem ser designados como D-dímeros, que actuam também como inibidores da coagulação. Desta forma após a hemorragia estar controlada vai ser promovida a destruição do coágulo para que não haja o risco de este ser libertado na corrente sanguínea e poder provocar acidentes vasculares como trombozes e embolias.<sup>(32, 33)</sup>

As provas de coagulação que são efectuadas no LAC são realizadas com o auxílio do equipamento *OPTION 4 Plus* da *Biomérieux*, que utiliza a densidade óptica da amostra para fazer a medição do tempo entre a densidade inicial e a final, ou seja, quando se forma o coágulo. Desta forma não é necessário fazer a visualização a olho nu da formação deste coágulo, o que evita leituras incorrectas destas provas ou até o inevitável prolongamento dos tempos de coagulação devido à menor sensibilidade do olho humano face à leitura óptica do aparelho.

## **TEMPO DE PROTROMBINA**

A prova de excelência para controlo da coagulação sanguínea e também de função de síntese hepática é o tempo de protrombina. Esta prova de coagulação é usada para controlo da via extrínseca da cascata da coagulação, uma vez que o que vamos utilizar como reagente será a tromboplastina adicionada de cálcio, o que para além de provocar o desequilíbrio na concentração de cálcio e portanto desencadeia a activação da coagulação sanguínea também vai promover a activação do factor VII uma vez que este reagente funciona como factor tecidual. Os resultados são expressos sob a forma de tempo de formação de coágulo em segundos, percentagem de actividade e ainda INR. O valor de INR (Razão Normalizada Internacional) é hoje em dia a forma de expressão de resultado mais importante desta prova de coagulação, uma vez que este resulta de um cálculo utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{INR} = \left( \frac{\text{TP do doente}}{\text{TP de referência}} \right)^{\text{ISI}}$$

Nesta fórmula é utilizado então o valor em segundos do tempo de protrombina do doente em causa, o tempo em segundos do ensaio realizado com um controlo com 100% de actividade e ainda o ISI (Índice de Sensibilidade Internacional), valor que é atribuído a cada reagente consoante a sua sensibilidade após titulações realizadas a partir de uma tromboplastina de referência. Um valor baixo de ISI é vantajoso para que se possa ter maior fiabilidade nos resultados obtidos. O INR foi criado então como forma de uniformizar os resultados que são obtidos nos vários laboratórios dos mais diversos países sem por em causa o bem-estar dos doentes que fazem o controlo da terapêutica. Assim, desta forma é possível que os doentes possam fazer o seu controlo em laboratórios diferentes pois apesar de os reagentes utilizados serem diferentes o valor de INR vai ser acertado com o valor de referência e desta forma ser normalizado a nível internacional.<sup>(32, 33)</sup>

Os valores de referência do tempo de protrombina estão situados entre os seguintes valores:

**Tabela XXVII - Valores de referência TP**

<b>Resultado</b>	<b>Valor de referência</b>
<b>Tempo de protrombina</b>	11 - 14 segundos
<b>% de actividade</b>	70 - 120%
<b>INR</b>	0.9 - 1.2



A principal razão para a realização desta prova é o controlo e monitorização de doentes sob o efeito de terapia com anticoagulantes orais derivados cumarínicos, sendo o mais conhecido e mais comumente utilizado a varfarina. Este anticoagulante, descoberto por acaso após ser utilizado como veneno para ratos pois causava hemorragias intensas, é controlado desta forma pois este actua como um inibidor da vitamina K, sendo que esta é fundamental para a formação dos factores de coagulação a nível hepático. Os factores que dependem desta síntese a nível hepático são: factor II, VII, IX e X e além destes também as proteínas C e S. Assim, é fácil entender que esta será a melhor prova para controlar a medicação e perceber se a dose que está a ser administrada é a correcta para o doente pois avalia a via extrínseca de coagulação e logo os factores que dependem de vitamina K para serem produzidos. É necessário ter em atenção que a ingestão de variados alimentos por parte dos doentes pode influenciar os resultados obtidos para o TP, como sejam por exemplo os alimentos ricos em vitamina K como os vegetais de folha verde. Ainda de referir que no caso de haver uma sobredosagem de anticoagulante oral é possível contrariar esse efeito com administração de um concentrado de vitamina K, que neste caso vai actuar como antídoto.<sup>(32, 33)</sup>

Os valores de INR para doentes sobre medicação com anticoagulantes orais devem situar-se entre 2 e 3, sendo que abaixo de 2 a terapia pode não estar a ter o efeito desejado havendo possibilidade de formação de trombos mais facilmente e valores acima de 3 poderão levar a efeitos de sobredosagem e provocar processos de inibição excessiva da coagulação e por consequência riscos de hemorragia. Para fazer a interpretação dos valores obtidos é preciso ter em conta todos os interferentes já referidos e como tal é necessário muitas vezes entrar em contacto com os doentes e saber que tipo de alimentação ou até medicação recente andam a realizar para que se possa entender alguma variação que tenha ocorrido no valor de INR.

Uma outra situação onde é muito útil a utilização desta prova na avaliação de doentes é no caso de indivíduos alcoólicos ou indivíduos com patologias hepáticas, pois existem alterações graves na sua função de síntese hepática. O tempo de protrombina avalia a via extrínseca e portanto factores de coagulação dependentes de vitamina K, logo, é utilizado como um marcador sensível e precoce de patologia hepática.

É preciso ter em atenção que os mais recentes anticoagulantes orais, como o dabigatrano, não vão possuir esta obrigatoriedade no controlo da terapêutica tal como acontece com os derivados cumarínicos, sendo que este funciona como um potente inibidor directo da trombina, competitivo e reversível, ou seja, a melhor forma de percebermos se por acaso existe uma sobredosagem do fármaco será realizar uma prova de TTPa, mas sabendo de

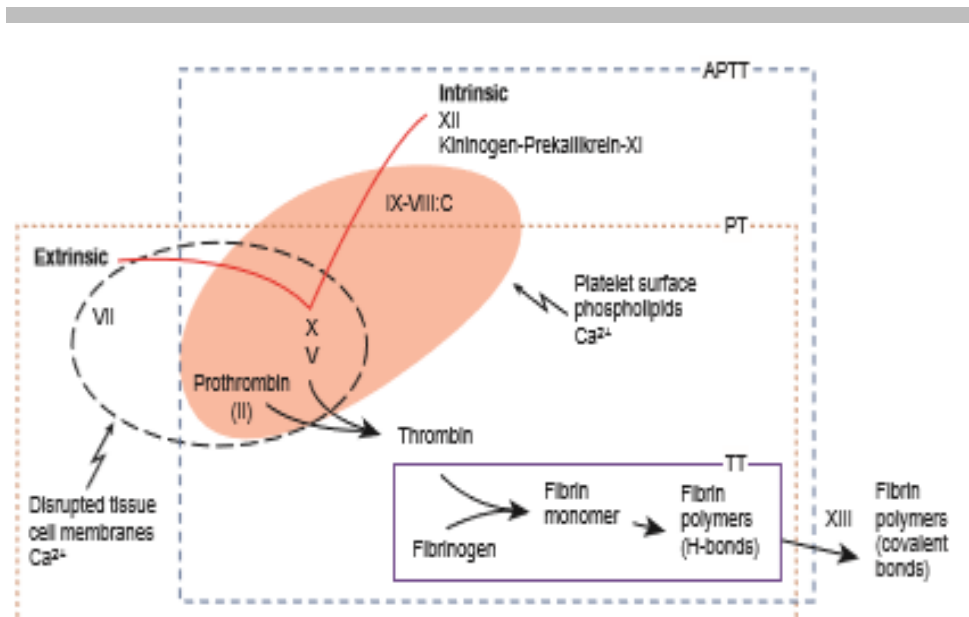
início que esta prova tem uma sensibilidade limitada e pode não ser suficiente para que se possa determinar o risco de hemorragia associado aquele doente em questão. Para além disso não existe também antídoto directo para este fármaco, ao contrário do que acontece com os derivados cumarínicos, logo a única forma de reverter o processo é interromper a toma do fármaco. Esta interrupção da toma dos novos anticoagulantes pensa-se que seja suficiente para reverter o processo uma vez que estes fármacos possuem um tempo de semivida bastante curto quando comparado ao dos derivados cumarínicos.<sup>(32, 33)</sup>

### ***TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA***

O tempo de tromboplastina parcial activada também é determinado no LAC e esta é uma prova que nos vai permitir avaliar a via intrínseca da coagulação, sendo por isso necessário utilizar um reagente que nos vai permitir ter a simulação de uma superfície de contacto, neste caso aquele que é utilizado no LAC possui na sua constituição partículas de sílica micronizada e ainda fosfolípidos que vão simular esta superfície, e que são incubados com a amostra de forma a promover a iniciação da cascata de coagulação, que só se vai despoletar assim que adicionarmos o cálcio fazendo a reactivação da cascata da coagulação. O resultado desta prova é expresso em segundos que demora o coágulo a ser formado e os seus valores normais estão situados entre 22,6 a 35 segundos.

Esta é uma prova que pode ser utilizada na rotina como verificação do estado de activação da cascata de coagulação pela via intrínseca e em conjunto com o tempo de protrombina serve para despiste de problemas associados a toda a cascata de coagulação. Para além disso esta é uma prova que permite fazer a monitorização de doentes que façam terapia com um anticoagulante como a heparina, uma vez que esta vai actuar a nível da formação da trombina inibindo a formação da mesma e promovendo a remoção da mesma do plasma e desta forma esta será a prova de eleição para controlar esta terapêutica. Outras patologias que irão provocar um TTPa aumentado serão as hemofilias, patologias de origem hereditária e ligadas ao cromossoma X em que há um défice de determinados factores de coagulação, dependendo do tipo de patologia em causa, hemofilia A ou B, que por sua vez irão dar défice em factor V ou factor VIII, respectivamente. Uma vez que estes factores vão efectuar a sua acção na via intrínseca e início da via comum esta prova será a que irá sofrer mais alterações.<sup>(32, 33)</sup>

No seguinte esquema é fácil a visualização da aplicação das provas de coagulação que foram referidas anteriormente, de acordo com a via que estudam na cascata de coagulação. (Ilustração 15)



**Ilustração 15 - Provas de coagulação (retirada de *Clinical Hematology, Theory & Procedures, Fifth Edition*, Mary Louise Turgeon, 2012, chapter 23 - page 407)**

## VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO

A velocidade de sedimentação, como o próprio nome indica é uma prova que nos vai permitir medir a velocidade a que ocorre a sedimentação dos eritrócitos, quando o sangue total é deixado em posição vertical. O resultado é dado em mm/h, sendo este representativo dos milímetros de plasma formados durante o decorrer de uma hora, devido à sedimentação dos eritrócitos. O anticoagulante utilizado para esta prova é o citrato de sódio na proporção de uma parte de sangue para quatro partes de anticoagulante e o aparelho que nos permite fazer esta prova de forma mais automática vai fazer a leitura da altura da coluna de plasma de acordo com a diferença de densidade óptica entre esta e a restante parte da amostra onde ainda se encontram os eritrócitos. Os valores normais situam-se para ambos os sexos em valores <20mm/l<sup>a</sup>hora.

Esta é uma avaliação que é utilizada como forma de controlar ou detectar, principalmente, doenças inflamatórias. Isto porque um aumento da VS vai dever-se nestes casos a um aumento de proteínas circulantes, o que vai fazer com que a carga que circunda os eritrócitos diminua, ou seja, a força de repulsão que estes possuem uns para com os outros vai diminuir e logo a sua aglutinação torna-se mais fácil de ocorrer e consequentemente a sedimentação dos eritrócitos vai ser mais rápida. Assim, doentes com doenças inflamatórias crónicas, como por exemplo a artrite reumatóide utilizam este parâmetro como controlo da sua doença ou até como forma de monitorizar a resposta a determinado tratamento que estejam a fazer.

Este valor de VS pode ser utilizado também como teste de rotina como forma de despiste de alguma doença inflamatória ou ainda infecciosa, uma vez que processos infecciosos devido a agentes patogénicos como bactérias ou vírus também podem levar a um aumento do valor de VS.<sup>(1)</sup>

Outra aplicação da VS são as doenças neoplásicas, sendo que em muitas leucemias e linfomas o valor também vai estar aumentado e a sua variação pode estar associada a diferentes tratamentos e resposta a estes mesmos tratamentos também.

Por fim, uma outra causa bem associada a uma variação da VS são as alterações morfológicas dos próprios eritrócitos, quer sejam hereditárias e genéticas ou adquiridas. Doentes com patologias hereditárias como a drepanocitose, por exemplo, têm alterações significativas no formato dos seus eritrócitos e esta alteração vai favorecer a sedimentação mais rápida dos mesmos. Outra forma de alterar a VS, mas de forma adquirida, é o consumo crónico de álcool, que vai provocar um aumento do volume dos eritrócitos, ou seja, provoca

macrocitose celular e assim um aumento da VS devido ao seu maior tamanho que vai facilitar a deposição dos mesmos.<sup>(1)</sup>

Contudo é necessário ter em atenção ao fazer a interpretação dos resultados uma vez que o valor de VS vai aumentando de forma fisiológica com a idade. Assim, a VS não pode ser considerada um teste sensível e/ ou específico pois existem diversos factores que podem provocar a sua alteração mas o valor da mesma também não é muitas vezes o primeiro a ser alterado, de forma que este parâmetro é útil sim na monitorização de patologias bem definidas e conhecidas e no despiste de situações agudas e transitórias, mas não como marcador de patologia específica ou teste de diagnóstico diferencial.<sup>(1)</sup>

## NOVAS PERSPECTIVAS EM HEMATOLOGIA

Hoje em dia já podemos contar com novos parâmetros eritrocitários que nos podem ajudar na diferenciação e no diagnóstico mais precoce de diversas patologias, de forma a que melhor possamos servir os clientes e doentes e a que mais problemas que surgem nesta área possam ser ultrapassados. Muitos destes parâmetros não requerem grandes modificações na nossa forma de trabalhar mas apenas actualizações de *software* ou de equipamentos se tal for necessário. Alguns desses parâmetros são por exemplo o HDW, % de células hiperocrómicas, % de células hipocrómicas, VGMr, HCMr e ainda os CHC *scatters*. O HDW vai-nos fornecer informação sobre a distribuição da hemoglobina no interior dos eritrócitos e que em conjunto com a informação que nos dá o valor de células hiperocrómicas na amostra, nos vai permitir fazer muito mais facilmente o diagnóstico de anemias possivelmente hiperocrómicas como sejam as esferocitoses hereditárias, estomatocitoses hereditárias, eliptocitoses hereditárias e ainda outras como a AHAI.<sup>(5, 6, 12-14, 34-37)</sup> A distinção entre estas patologias é também possível pois além dos valores mencionados vamos ter ainda o *scatter* CHC que nos dá a distribuição da hemoglobina nos eritrócitos, sendo que para cada uma das patologias referidas o tipo de gráfico formado é diferente. Quanto aos valores de VGMr e HCMr estes dão a mesma informação que os já existentes para os eritrócitos mas estes referem-se aos parâmetros reticulocitários.<sup>(12-14, 34-36)</sup> Em conjunto com o valor de células hipocrómicas presentes na amostra vão permitir controlar e monitorizar anemias microcíticas e ainda doentes com doença renal crónica, pois vamos poder ter uma percepção da resposta da medula a este tipo de patologias através da informação que nos é fornecida pelos parâmetros referentes aos reticulócitos, sendo possível monitorizar terapêutica realizada nestes doentes. Também aqui são usados os gráficos CHC *scatter* para melhor visualizarmos as diferenças entre os diferentes tipos de patologia enquadradas no referido quadro microcítico e de insuficiência renal.<sup>(21, 23)</sup>

Outra grande descoberta e muito recente é o facto de agora se ter encontrado uma molécula que é responsável pela manutenção da homeostasia do ferro no nosso organismo e que pode vir a ter grandes implicações no futuro, a eritroferrona. A eritroferrona é produzida na medula óssea e vai ter um papel inibidor da hepcidina, molécula esta que é responsável pelo sequestro do ferro a nível hepático. Assim, presume-se que esta molécula é fundamental no nosso organismo para que haja uma melhor resposta a hemorragias e patologias como as anemias. Uma vez que a eritroferrona vai inibir a hepcidina, mais ferro vai ficar disponível para que mais hemoglobina possa ser formada e logo haja uma maior

regeneração adequada de eritrócitos no sangue periférico. Podemos ter assim ideia das implicações que tal descoberta vai trazer no tratamento dos doentes e no despiste de várias patologias, pois o doseamento desta molécula vai permitir verificar se há capacidade de resposta a reduções drásticas ou prolongadas de hemoglobina e ainda perceber o porque de certos indivíduos responderem muito melhor a tratamentos que são aplicados hoje em dia no caso de anemias sideropénicas, por exemplo. Esta molécula tem ainda um grande potencial de ser utilizada como terapêutica de anemias por perda de ferro pois permite aumentar o ferro disponível no organismo. É necessário também entender de que maneira esta nova molécula é útil no controlo e diagnóstico das sobredosagens de ferro, pois à priori esta irá estar reduzida abaixo dos valores de referência para que a hepcidina possa executar o seu papel e baixar o ferro disponível em circulação. Mas para que tal aconteça é necessário entender ainda melhor todos os efeitos que a eritroferrona pode ter no organismo para não correremos o risco de provocar efeitos secundários demasiado agressivos.<sup>(21, 22, 38-42)</sup>

## CONCLUSÕES

No fim deste estágio sinto que este foi uma mais valia para mim e que sem dúvida me ajudou a ser melhor profissional em análises clínicas, uma vez que criou em mim o sentido de responsabilidade que é necessário ter para exercer esta profissão bem como a necessidade de nos mantermos sempre em constante actualização e a consolidar conhecimentos adquiridos, pois sem termos uma visão geral e sem conseguirmos interligar as diversas áreas da nossa formação não vamos conseguir dar a melhor resposta aos doentes e fazer o nosso trabalho com competência. Durante o estágio foi-me possível consolidar conhecimentos que já possuía e adquirir ainda novos conhecimentos que não tinha ainda ou que não utilizava da melhor forma. Consegui estabelecer a ligação entre as diversas valências onde estagiei e compreender o comportamento nas restantes áreas, de determinado tipo de amostras, a partir do resultado que estas têm em determinada valência. Percebi que nada é constante nas análises clínicas e que não podemos ficar agarrados ao passado ou ao que fazemos actualmente pois esta é uma área que está em constante evolução e portanto é necessário termos uma grande capacidade de adaptação a novos métodos ou novas técnicas de análise. Consegui compreender melhor como funciona toda a problemática da manutenção da qualidade em todas as fases analíticas, desde a pré-analítica, analítica e pós-analítica para que se possa fornecer o resultado mais fiável e de confiança ao cliente que o requisitou. Além disso entender como funciona toda a política de qualidade do LAC através do controlo de qualidade interno e externo e perceber quais as acções a tomar no caso de algo não correr como esperado ou dentro do que é esperado. Por fim este estágio foi enriquecedor no sentido de entender toda a complexidade que está envolvida na gestão do laboratório e de todos os reagentes e material que é necessário para manter o seu normal funcionamento, sendo por isso uma experiência que certamente poderá ser utilizada mais tarde na minha vida profissional. Fui ensinada a estar mais atento a pormenores no dia a dia de trabalho e toda esta experiência criou em mim um maior espírito crítico em relação a todo o trabalho relacionada com o tratamento de amostras e como tal em geral nas análises clínicas.





## BIBLIOGRAFIA

1. Turgeon ML. The Principles of Hematology. In: Sabatini P, editor. *Clinical Hematology Theory & Procedures*. Fifth ed: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business; 2012. p. 73-86.
2. Bain B. Bl, Laffan M., Lewis M. Collection and handling of blood. In: *Houston M*, editor. *Dacie and Lewis Practical Hematology*. Eleventh ed: Elsevier; 2011. p. 6-8.
3. Bain B. Bl, Laffan M., Lewis M. Preparation and staining methods for blood and bone marrow films. In: *Houston M*, editor. *Dacie and Lewis Practical Hematology*. Eleventh ed: Elsevier; 2011. p. 61.
4. Bain B. Bl, Laffan M., Lewis M. Blood cell morphology in health and disease. In: *Houston M*, editor. *Dacie and Lewis Practical Hematology*. Eleventh ed: Elsevier; 2011. p. 70-97.
5. Huq S, Pietroni MA, Rahman H, Alam MT. Hereditary spherocytosis. *Journal of health, population, and nutrition*. 2010;28(1):107-9.
6. Iolascon A, Avvisati RA, Piscopo C. Hereditary spherocytosis. *Transfusion clinique et biologique : journal de la Societe francaise de transfusion sanguine*. 2010;17(3):138-42.
7. Satchwell TJ, Shoemark DK, Sessions RB, Toye AM. Protein 4.2: a complex linker. *Blood cells, molecules & diseases*. 2009;42(3):201-10.
8. Mohandas N, Gallagher PG. Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*. 2008;112(10):3939-48.
9. An X, Mohandas N. Disorders of red cell membrane. *British journal of haematology*. 2008;141(3):367-75.
10. Turgeon ML. Erythrocytes. In: Sabatini P, editor. *Clinical Hematology Theory & Procedures*. Fifth ed: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business; 2012. p. 89-225.
11. Kaferle J, Strzoda CE. Evaluation of macrocytosis. *American family physician*. 2009;79(3):203-8.
12. Bain B. Bl, Laffan M., Lewis M. Acquired haemolytic anaemias. In: *Houston M*, editor. *Dacie and Lewis Practical Hematology*. Eleventh ed: Elsevier; 2011. p. 273-97.
13. Jung HL. A new paradigm in the diagnosis of hereditary hemolytic anemia. *Blood research*. 2013;48(4):237-9.
14. Perrotta S, Gallagher PG, Mohandas N. Hereditary spherocytosis. *Lancet*. 2008;372(9647):1411-26.

15. Verma IC, Saxena R, Kohli S. Hemoglobinopathies in India--clinical and laboratory aspects. *Clinics in laboratory medicine*. 2012;32(2):249-62.
16. Smock KJ, Perkins SL. Thrombocytopenia: an update. *International journal of laboratory hematology*. 2014;36(3):269-78.
17. Turgeon ML. Leukocytes. In: Sabatini P, editor. *Clinical Hematology Theory & Procedures*. Fifth ed: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business; 2012. p. 235-353.
18. Bain B. Bl, Laffan M., Lewis M. Iron deficiency anaemia and iron overload. In: *Houston M*, editor. *Dacie and Lewis Practical Hematology*. Eleventh ed: Elsevier; 2011. p. 176-96.
19. Risch L, Herklotz R, Huber AR. [Differential diagnosis of anemia]. *Therapeutische Umschau Revue therapeutique*. 2004;61(2):103-15.
20. Bain B. Bl, Laffan M., Lewis M. Investigation of abnormal haemoglobins and thalassaemia. In: *Houston M*, editor. *Dacie and Lewis Practical Hematology*. Eleventh ed: Elsevier; 2011. p. 302-30.
21. Donker AE, Raymakers RA, Vlasveld LT, van Barneveld T, Terink R, Dors N, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of microcytic anemias due to genetic disorders of iron metabolism or heme synthesis. *Blood*. 2014;123(25):3873-86.
22. Kautz L, Nemeth E. Molecular liaisons between erythropoiesis and iron metabolism. *Blood*. 2014.
23. Shander A, Goodnough LT, Javidroozi M, Auerbach M, Carson J, Ershler WB, et al. Iron Deficiency Anemia-Bridging the Knowledge and Practice Gap. *Transfusion medicine reviews*. 2014.
24. Galicia-Moreno M, Gutierrez-Reyes G. [The role of oxidative stress in the development of alcoholic liver disease]. *Revista de gastroenterologia de Mexico*. 2014;79(2):135-44.
25. Musallam KM, Rivella S, Vichinsky E, Rachmilewitz EA. Non-transfusion-dependent thalassemsias. *Haematologica*. 2013;98(6):833-44.
26. Thein SL. The molecular basis of beta-thalassaemia. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2013;3(5):a011700.
27. Parikh SA, Kay NE, Shanafelt TD. Monoclonal B-cell lymphocytosis: update on diagnosis, clinical outcome, and counseling. *Clinical advances in hematology & oncology : H&O*. 2013;11(11):720-9.
28. Ghia P, Hallek M. Management of chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2014;99(6):965-72.

29. Sakata S, Tsuyama N, Takeuchi K. Pathology of indolent B-cell neoplasms other than follicular lymphoma. *Journal of clinical and experimental hematopathology : JCEH*. 2014;54(1):11-22.
30. Mondal PC, Chakraborty PP, Bera M. Primary cold agglutinin disease. *Journal of the Indian Medical Association*. 2011;109(7):509-10.
31. Kubisz P, Ruiz-Arguelles GJ, Stasko J, Holly P, Ruiz-Delgado GJ. Sticky Platelet Syndrome: History and Future Perspectives. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2014.
32. Bain B. Bl, Laffan M., Lewis M. Investigation of haemostasis. In: *Houston M*, editor. *Dacie and Lewis Practical Hematology*. Eleventh ed: Elsevier; 2011. p. 394-442.
33. Turgeon ML. Principles and Disorders of Hemostasis and Trombosis. In: *Sabatini P*, editor. *Clinical Hematology Theory & Procedures*. Fifth ed: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business; 2012. p. 399-457.
34. Bain B. Bl, Laffan M., Lewis M. Investigation of the hereditary haemolytic anaemias: membrane and enzyme abnormalities. In: *Houston M*, editor. *Dacie and Lewis Practical Hematology*. Eleventh ed: Elsevier; 2011. p. 246-69.
35. Vagace JM, Bajo R, Gervasini G. Diagnostic and therapeutic challenges of primary autoimmune haemolytic anaemia in children. *Archives of disease in childhood*. 2014.
36. Gerber B, Schanz U, Stussi G. [Autoimmune hemolytic anemia]. *Therapeutische Umschau Revue therapeutique*. 2010;67(5):229-36.
37. Billett HH, Fabry ME, Nagel RL. Hemoglobin distribution width: a rapid assessment of dense red cells in the steady state and during painful crisis in sickle cell anemia. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1988;112(3):339-44.
38. Abbaspour N, Hurrell R, Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*. 2014;19(2):164-74.
39. Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature genetics*. 2014.
40. Konz T, Montes-Bayon M, Vaulont S. Heparin quantification: methods and utility in diagnosis. *Metallomics : integrated biometal science*. 2014.
41. Poli M, Asperti M, Ruzzenenti P, Regoni M, Arosio P. Heparin antagonists for potential treatments of disorders with heparin excess. *Frontiers in pharmacology*. 2014;5:86.
42. Winter WE, Bazydlo LA, Harris NS. The molecular biology of human iron metabolism. *Laboratory medicine*. 2014;45(2):92-102.



# ANEXOS

## ***ANEXO I***

2014

# Manual de Boas Práticas Laboratoriais



Ana Donato, Ana Miguel Matos

01-01-2014

## 4 - POLÍTICA DA QUALIDADE

O Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, tem como objectivo ser um laboratório de referência, pautado por elevados padrões de qualidade em todas as actividades inerentes às análises clínicas, assumindo o cumprimento de exemplares práticas laboratoriais, fundamentadas em critérios de utilidade clínica reconhecidos pela comunidade científica, bem como da ética e da deontologia profissionais. O seu compromisso vem reforçado pela responsabilidade que lhe impende enquanto unidade associada ao ensino e investigação de instituição Universitária de elevado prestígio.

Da missão universitária decorrem os seus propósitos de:

1. Participar na formação, em pré-graduação, pós-graduação e especialização, de profissionais de análises clínicas, pela oferta permanente de bolsas de estágio, seminários formativos e outras realizações de natureza pedagógica;
2. Integrar ou apoiar projectos de investigação em estreita colaboração com unidades de investigação, hospitais e outras instituições;
3. Disponibilizar à comunidade académica da Universidade de Coimbra, a prestação de serviços de análises clínicas, em proximidade, em harmonia com a política e estratégia assistencial da Universidade.

No plano técnico e da prestação de serviços de análises clínicas são finalidades do Laboratório:

1. Ser referência para utentes e respectivas equipas clínicas pelos serviços de saúde de elevada qualidade, primando pela qualidade do seu contributo para a profilaxia, diagnóstico e terapêutica da doença;
2. Promover o aconselhamento e educação do doente para a saúde;
3. Atingir níveis de diferenciação e inovação de procedimentos que permitam ser um laboratório de referência para hospitais e outras instituições, públicas ou privadas, com disponibilização de programas e exames laboratoriais exclusivos ou especializados.



Para a persecução da política da qualidade a Direcção da Faculdade de Farmácia em estreita colaboração com o Gabinete de Serviços Laboratoriais de Extensão à Comunidade e com a Direcção Técnica do Laboratório de Análises Clínicas compromete-se a:

1. Disponibilizar instalações consentâneas com as funções e objectivos do laboratório que privilegiem, também a acessibilidade e o conforto dos utentes;
2. Manter renovado e adequado todo o equipamento e sistemas analíticos;
3. Garantir a adequada formação dos colaboradores e a sua motivação profissional;
4. Zelar pelo cumprimento de boas práticas profissionais;
5. Acolher iniciativas fundamentadas para projectos de natureza técnico-científica em parceria com outras instituições;
6. Melhorar continuamente a eficácia do sistema de gestão da qualidade, visando a satisfação dos seus utentes e equipas clínicas.
7. Comunicar a todos os intervenientes nos processos do laboratório a finalidade da implementação da política e dos procedimentos da qualidade, divulgando a documentação associada, e a importância das boas práticas profissionais e da qualidade dos serviços laboratoriais prestados.
8. Cumprir estritamente a legislação aplicável ao sector;
9. Cumprir os requisitos da NP EN ISO 9001:2008.

## 5 – SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE

Os processos necessários ao Sistema de Gestão da Qualidade e à sua aplicação no Laboratório de Análises Clínicas são: 1) Gestão; 2) Recursos; 3) Qualidade; 4) Fase pré-analítica; 5) Fase analítica e 6) Fase pós-analítica.

Procedimentos documentados do Sistema

1. PP – Procedimentos que descrevem processos
2. PT – Procedimentos Técnicos
3. IT – Instruções de Trabalho
4. ITA – Instruções de Trabalho Analítico

Apresenta-se, quadro resumo da documentação existente no laboratório de Análises Clínicas

Código	Documentos Associados		Edição	Data	
			1ª	Aprovação	
			2ª	28-09-11 31-03-14	
PP 01	Fase Pré- Analítica	IT 01 Gestão do Sistema Informático			
		IT 03 Atendimento			
		IT 04 Obtenção de Amostras Biológicas			PT 01 Procedimento Técnico para obtenção de Amostras Biológicas
		IT 05 Conservação de Amostras Biológicas			
		IT 06 Transporte de Amostras Biológicas			
		IT 07 Tratamento de Amostras Biológicas			
PP 02	Fase Analítica	IT 01 Gestão do Sistema Informático			
		Lista de Análises			
		IT 10 Eliminação de Resíduos			
		ITAS			ITA 01 AU 400
					ITA 02 Coulter Max'M
					ITA 03 VIDAS
					ITA 04 Spotlyte
					ITA 05 OPTION 4PLUS
					ITA 06 Bacteriologia
					ITA 07 Espermograma
					ITA 08 Urina II
					ITA 09 Teste Gravidez
					ITA 10 Electroforese Hb
					ITA 11 Proteinograma
					ITA 12 Lipidograma
					ITA 15 Imunodifusão radial
					ITA 16 Grupos Sanguíneos
					ITA 17 R. Paul Bunnel
					ITA 18 R. Rosa de Bengala
					ITA 19 VDRL
					ITA 20 R. Waller Rose
					ITA 21 Widal Wright, Weil Felix
					ITA 22 Pesquisa Sangue Oculto nas fezes
ITA 23 VSG					
PP 03	Fase Pós- Analítica	IT 01 Gestão do Sistema Informático			
		IT 05 Conservação de Amostras Biológicas			

Código	Documentos Associados		Edição	Data Aprovação
			1ª	28-09-11
			2ª	31-03-14
PP 04	Qualidade	IT 08 Controlo de Qualidade		
		Lista de ensaios contratados INSA		
PP 05	Recursos Materiais	Lista de Equipamento		
		Fichas de Equipamento		

## **ANEXO II**

**1. OBJECTIVO:**

Definir a metodologia de trabalho no equipamento Coulter Max'M.

**2. CAMPO DE APLICAÇÃO:**

Destina-se a amostras biológicas nas quais se pretende executar: contagem de glóbulos vermelhos, glóbulos brancos, plaquetas, determinação da concentração de hemoglobina, hematócrito, constantes eritrocitárias (VCM, HCM, CHCM) e contagem diferencial de glóbulos brancos.

**3. MODO DE PROCEDER:**

**3.1 Amostras:** sangue total colhido com EDTA 3K.

**Critérios de aceitação:**

Proporção correcta sangue/anticoagulante;

Ausência de hemólise da amostra;

Ausência de coágulos na amostra.

**3.2. Reagentes:** Os fornecidos pelo fornecedor do equipamento.

**Preparação:** Não aplicável

**Segurança:** Regras gerais de manuseamento de reagentes.

**Conservação:** De acordo com o indicado pelo fornecedor.

**3.3. Equipamento:** Coulter Max'M

O Coulter Max'M é um contador automatizado para determinações quantitativas e diferenciais de células sanguíneas destinado ao diagnóstico *in vitro*.

O princípio de funcionamento apresenta-se pormenorizado no ANEXO I

**Manutenção:** Descrita no Manual de Referência 4237244-B

**Calibração/Verificação:** Descrita no Guia do Operador 4237245-B

---

### 3.4. Controlo de Qualidade:

CQI efectuadas com amostras de controlo (três níveis) do fornecedor Execução de dois esfregaços de sangue periférico para controlo da contagem diferencial de leucócitos AEQ para os parâmetros contagens celulares.

#### **Periodicidade:**

CQI diária.

AEQ de acordo com a calendarização do Programa do INSA.

#### **Critérios de aceitação:**

Os definidos pelos respectivos programas.

#### **Registo:**

CQI - Impressão do equipamento arquivado em pasta própria;

AEQ – Os registos do próprio programa

### 3.5. Processamento Analítico:

O equipamento necessita de um procedimento de início de trabalho descrito no Manual do Operador e apresentado em pormenor no Anexo II.

**Interferências:** As referenciadas no Manual do Operador.

**Método:** Princípio Coulter e Tecnologia VCS

### 3.6. Validação e Resultados

A validação analítica considera os resultados das calibrações, do CQI e AEQ, e a análise dos resultados no seu conjunto. Resultados inesperados implicam a repetição do ensaio respectivo.

### 3.7. Responsabilidades:

Especialista responsável pela Valência de Hematologia

**3.8. Documentos relacionados/Anexos:**

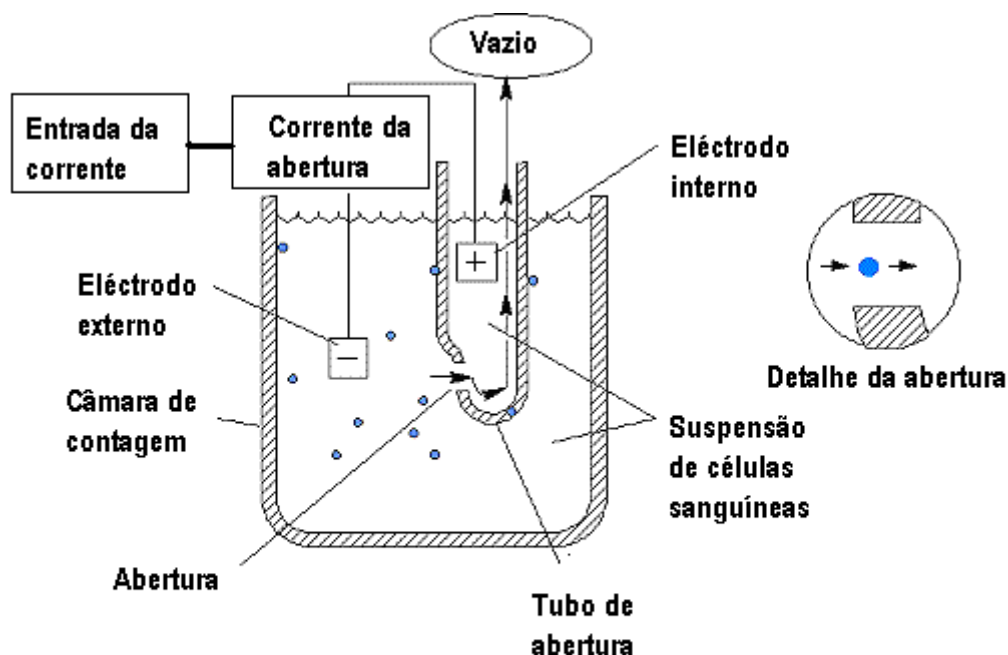
Max'M - Manual de Referência 4237244-B (1996)

Max'M - Guia do Utilizador 4237245-B (1996)

Max'M -Manual de Procedimentos especiais e avarias 4237246-B (1996)

Anexo I: Princípio de funcionamento do Coulter Max'M

Anexo II: Procedimento de trabalho diário

**ANEXO I****Contagem de Partículas - Princípio COULTER**

1 – Número de impulsos eléctricos correspondente ao número de partículas que passam na abertura, amplitude dos impulsos proporcional ao volume das partículas;

2 – Abertura na câmara de contagem de eritrócitos e plaquetas de 50  $\mu\text{m}$ , na câmara de contagem dos leucócitos 100  $\mu\text{m}$ ;

3 – Contagem em triplicado para cada tipo de partícula: eritrócitos, leucócitos e plaquetas;

4 – Na câmara de contagem de eritrócitos

Eritrócitos: partículas com volume  $\geq$  a 36 fl;

Plaquetas: partículas com volume entre 2 e 20 fl.

5 – Na câmara de contagem de leucócitos

Leucócitos: partículas com volume  $\geq$  a 36 fl.

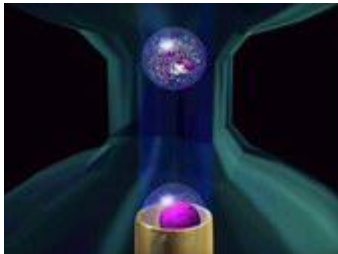
## Contagem diferencial de leucócitos - Princípio VCS

### Tecnología VCS

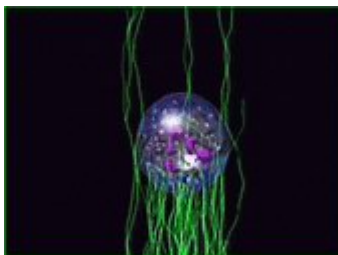
A tecnologia VCS é o mecanismo pelo qual os analisadores de hematologia COULTER fazem a diferenciação dos leucócitos em cinco tipos: Neutrófilos, Linfócitos, Monócitos, Eosinófilos e Basófilos

### Princípio do Método

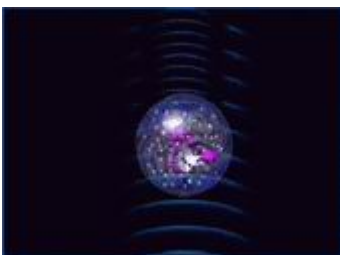
A amostra (sangue) é misturada com o reagente Erytrolyse (contido no Scatter Pack), que produz uma lise rápida dos eritrócitos sem alterar os leucócitos e reduzindo ao mínimo os fragmentos celulares. Em seguida junta-se o reagente StabiLyse, que actua como conservante dos leucócitos mantendo-os na sua forma nativa para as medições subsequentes ( volume, condutividade e scatter).



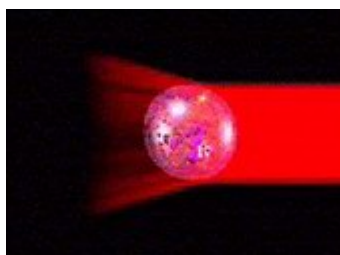
A amostra uma vez tratada é transportada a uma célula de fluxo (Flow cell) onde, devido ao seu desenho hidrodinâmico, os leucócitos vão passar um a um sendo sujeitos às seguintes medidas:



Determinação do volume da célula por impedância de baixa frequência;

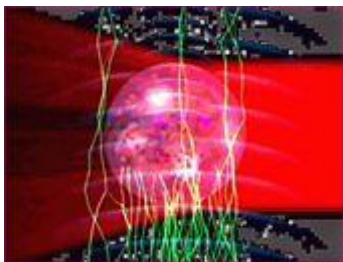


A condutividade de alta frequência de Radiofrequência (RF) determina a condutividade interna da célula;



A dispersão (scatter) da luz laser indica a estrutura e forma da célula

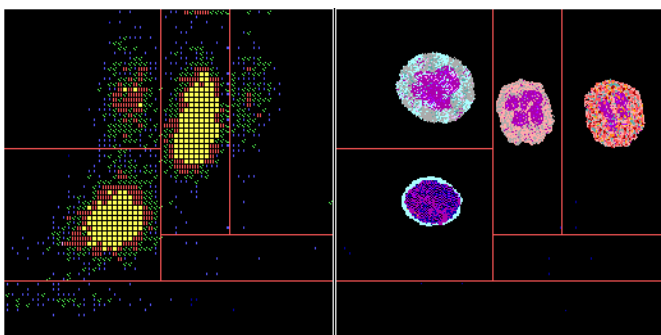




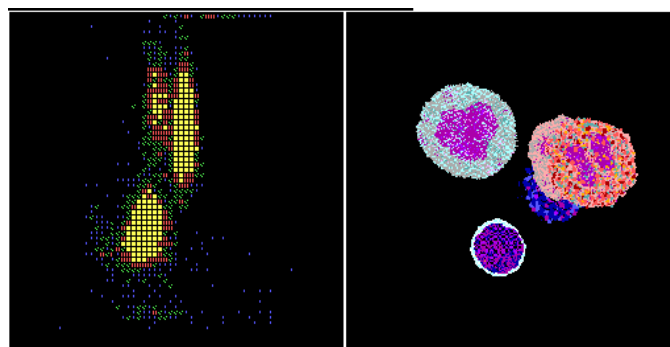
As leituras destas três medidas são amplificadas e processadas pelo sistema originando três gráficos:

- DF1: Volume vs. Scatter
- DF2: Volume vs. Condutividade
- DF3: Volume vs. Condutividade extraíndo os sinais de Neutrófilos e Eosinófilos

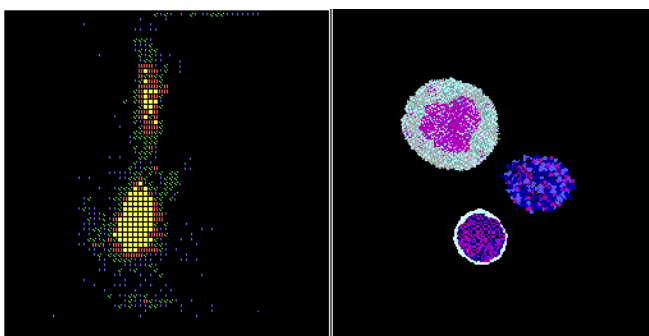
DF1



DF2



DF3



O sistema caracteriza cada célula que passa até uma contagem de 8 132 células ou até que decorram 20 segundos.

---

## Procedimento diário

- 1 – Ligar a impressora e em seguida o contador;
- 2 – Activar a impressora (**F5; F5 Esc**);
- 3 – Iniciar o Start Up do sistema (**Diluter Functions- Start Up**);
- 4 – Seleccionar o modo de trabalho: (**Sample analysis; Run Samples; F2 – modo automático; F3 – modo manual**);
- 5 – Trabalhando em modo automático preparar a lista de trabalho: (**Sample analysis- Work list**);
- 6 – Incluir os controlos (3 níveis: normal, anormal I, anormal II);
- 7 – Colocar os tubos contendo as amostras na cartridge e efectuar a análise;
- 8 – Validação analítica dos resultados;
- 9 – Validação biopatológica dos resultados;
- 10 – Repetição de ensaios caso seja necessário;
- 11 – Proceder ao Shut-down do sistema (**Diluter Functions – Shut down**);
- 12 – Desligar a impressora e em seguida o contador.

## REAGENTES UTILIZADOS NO COULTER MAX'M

### I -DILUENTE: ISOTON III

Electrólito isotónico que:

- 1 – dilui a amostra de sangue total;
- 2 – estabiliza as membranas celulares;
- 3 – é bom condutor;
- 4 – transporta a amostra para a célula de fluxo para contagem diferencial de leucócitos;
- 5 – lava o sistema entre amostras.

---

## II REAGENTE DE LISE: LYSE S III DIFF

- 1 – permite a contagem de leucócitos lisando os eritrócitos libertando a hemoglobina ; reduz o tamanho dos resíduos celulares;
- 2 – permite a quantificação da hemoglobina, convertendo-a em cianometahemoglobina.

## III SCATTER PACK:

### Erythrolyse II

- Dilui a amostra de sangue;
- Lisa rapidamente os eritrócitos;
- Reduz os fragmentos celulares a um nível insignificante.

### Stabilyse

- Preserva os glóbulos brancos no seu estado nativo para que possam ser classificados nas suas sub-populações através do princípio VCS

## IV AGENTE DE LIMPEZA: CLENZ

- Limpa e lava todas as partes do diluidor. Usado diariamente impede a acumulação de resíduos proteicos e impede a obstrução das aberturas de contagem.