



Filipa Valente Rodrigues

# Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito de Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Doutora Ana Donato e pela Professora Doutora Ana Miguel Matos e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Filipa Valente Rodrigues

# Relatório de Estágio

## Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito de Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Doutora Ana Donato e pela Professora Doutora Ana Miguel Matos e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



## AGRADECIMENTOS

Os meus maiores e mais sinceros agradecimentos,

*À Doutora Ana Donato e à Professora Doutora Ana Miguel Matos, orientadoras do estágio e deste relatório, pela amabilidade com que me receberam no laboratório, pela sua disponibilidade, pela transmissão de conhecimentos e preparação profissional, e ainda pela autorização da utilização de alguns resultados laboratoriais do arquivo neste relatório,*

*Aos restantes colaboradores do laboratório, Daniel Gonçalves, Dulce Dias e Teresa Santos, pela sua recetividade, simpatia e boa-disposição diária que cria um excelente ambiente de trabalho,*

*À Professora Doutora Leonor Martins Almeida, coordenadora do Mestrado em Análises Clínicas, pelo trabalho desenvolvido ao longo do Mestrado e pela oportunidade que me proporcionou em estagiar neste local e com ótimas pessoas,*

*Aos meus colegas e amigos do Mestrado em Análises Clínicas e a todos aqueles que fiz na minha passagem por Coimbra, ao longo destes dois anos, pela amizade, companheirismo e pelos momentos de descontração,*

*Finalmente, à minha família, em especial à minha mãe e à minha irmã, pelo carinho, incentivo e apoio constante e incondicional.*



# ÍNDICE

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>v</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>I</b>
<b>I. CARACTERÍSTICAS DO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS.....</b>	<b>3</b>
1. Recursos Humanos.....	3
2. Espaço Físico.....	3
3. Fluxo de Utentes e Amostras.....	4
4. Funcionamento do LACFFUC e Organização do Trabalho Diário.....	4
4.1. Fase Pré-Analítica.....	4
4.2. Fase Analítica.....	8
4.3. Fase Pós-Analítica.....	10
<b>II. GESTÃO DA QUALIDADE LABORATORIAL.....</b>	<b>11</b>
1. Controlo de Qualidade Interno.....	11
2. Avaliação Externa da Qualidade.....	12
<b>III. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....</b>	<b>14</b>
1. Área de Hematologia.....	14
1.1. Coagulação.....	15
2. Área de Imunologia.....	15
3. Área de Microbiologia.....	16
4. Área de Bioquímica.....	16

<b>IV. BIOQUÍMICA.....</b>	<b>17</b>
1. Equipamentos e Metodologia.....	17
1.1. AU 400®, da Beckman Coulter .....	18
1.2. SpotLyte Na/K/Cl Analyzer®, da Menari Diagnostics.....	20
1.3. Helena SAS-1 Plus e SAS-2®, da Biosciences Europe .....	20
1.4. CombiScan 100®, da Analyticon Diagnostics.....	21
1.5. VIDAS®, da Biomérieux .....	22
2. Avaliação da Função Cardiovascular .....	23
2.1. Colesterol Total .....	23
2.2. Colesterol das LDL.....	24
2.3. Colesterol das HDL.....	24
2.4. Triglicéridos .....	25
3. Avaliação da Função Renal .....	27
3.1. Avaliação da Função Glomerular .....	27
3.1.1. Compostos Azotados Não Proteicos .....	27
3.1.2. Ácido Úrico .....	30
3.1.3. Microalbuminúria.....	30
3.2. Avaliação da Função Tubular .....	31
3.3. Sedimento Urinário.....	32
4. Avaliação da Função Hepática .....	33
4.1. Marcadores de lesão hepatocelular .....	33
4.1.1. GPT .....	34
4.1.2. GOT .....	34
4.2. Marcadores de lesão canalicular .....	35
4.2.1. ALP.....	35
4.2.2. GGT.....	35
4.2.3. Bilirrubina .....	36
4.3. Marcadores de Síntese Hepática.....	37
4.3.1. Proteínas Plasmáticas Totais.....	37
4.3.2. Proteinograma.....	37
4.3.3. Tempo de Pró-Trombina .....	38
4.4. Marcadores de Alterações no Metabolismo de:.....	38
4.4.1. Ureia.....	38
4.4.2. Hidratos de Carbono .....	38
4.4.3. Lípidos .....	38

5. Avaliação da Função Pancreática.....	39
5.1. Amilase.....	39
5.2. Lipase.....	39
6. Avaliação de disfunções hormonais.....	40
6.1. Diabetes <i>mellitus</i> .....	40
6.1.1. Diagnóstico da DM.....	40
6.1.2. Monitorização da DM.....	42
6.2. Doenças da Tiróide.....	44
6.2.1. Hipotireoidismo.....	44
6.2.2. Hipertireoidismo.....	45
7. Diversos.....	46
7.1. Proteína C Reativa.....	46
7.2. Creatinina Cinase.....	46
7.3. Lactato Desidrogenase.....	47
7.4. Ionograma.....	47
7.5. $\beta$ -hCG.....	48
7.6. Sangue Oculto nas Fezes.....	48
<b>V. CASOS CLÍNICOS.....</b>	<b>49</b>
CASO CLÍNICO 1.....	49
CASO CLÍNICO 2.....	52
CASO CLÍNICO 3.....	54
CASO CLÍNICO 4.....	57
CASO CLÍNICO 5.....	59
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>61</b>



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> AU 400®, da Beckman Coulter (Fotografia: LACFFUC).....	18
<b>Figura 2.</b> SpotLyte NA/K/Cl Analyzer®, da Menarini Diagnostics (Fotografia: LACFFUC) .....	20
<b>Figura 3.</b> Helena SAS-1 Plus, SAS-2®, da Biosciences Europe (Fotografia: LACFFUC).....	20
<b>Figura 4.</b> Tira-reagente, 60 segundos após imersão em amostra de urina (Fotografia: LACFFUC) ..	21
<b>Figura 5.</b> CombiScan 100®, da Analyticon Diagnostics (Fotografia: LACFFUC) .....	21
<b>Figura 6.</b> VIDAS®, da Biomérieux (Fotografia: LACFFUC) .....	22
<b>Figura 7.</b> Comparação de dois perfis lipídicos (Fonte: LACFFUC) .....	25
<b>Figura 8.</b> Perfil lipídico de um doente diabético (Fonte: LACFFUC).....	26
<b>Figura 9.</b> Urémia (Fonte: LACFFUC).....	28
<b>Figura 10.</b> Valor da MAU em mg/L, obtida pelo equipamento laboratorial (Fonte: LACFFUC) .....	31
<b>Figura 11.</b> Infecção urinária (Fotografia: LACFFUC).....	32
<b>Figura 12.</b> Aumento isolada GOT (Fonte: LACFFUC).....	34
<b>Figura 13.</b> Tiras-reagente positivas para a bilirrubina e urobilinogénio (Fotografia: LACFFUC).....	36
<b>Figura 14.</b> Proteinograma revelando alteração na albumina e nas $\gamma$ -globulinas (Fonte: LACFFUC)..	38
<b>Figura 15.</b> Glicémia e HbA1c de um diabético (Fonte: LACFFUC) .....	42
<b>Figura 16.</b> Tiras-reagentes positivas para cetonas e proteínas (Fotografia: LACFFUC) .....	43
<b>Figura 17.</b> Ionograma de um alcoólico (Fonte: LACFFUC).....	47
<b>Figura 18.</b> Perfil bioquímico de um alcoólico crónico (Fonte: LACFFUC) .....	49
<b>Figura 19.</b> Hemograma de um alcoólico crónico (Fonte: LACFFUC).....	51
<b>Figura 20.</b> Resultados bioquímicos de um indivíduo da UA, com destaque para a GPT (Fonte: LACFFUC).....	52
<b>Figura 21.</b> Anticorpos anti-HCV positivos (Fonte: LACFFUC).....	53
<b>Figura 22.</b> Comparação entre Soro Lipémico e Soro Não Lipémico (Fotografia: LACFFUC).....	54
<b>Figura 23.</b> Parâmetros Bioquímicos da Amostra Lipémica, com destaque para os TAG (Fonte: LACFFUC).....	55
<b>Figura 24.</b> Perfil Lipídico após diluição 1:5 (Fonte: LACFFUC).....	55
<b>Figura 25.</b> Hemograma de um indivíduo com amostra lipémica (Fonte: LACFFUC) .....	56
<b>Figura 26.</b> Microalbumina urinária antes e após a diluição da amostra (Fonte: LACFFUC) .....	57
<b>Figura 27.</b> Análises Bioquímicas de um diabético (Fonte: LACFFUC) .....	57
<b>Figura 28.</b> Hemoglobina Glicada de um diabético (Fonte: LACFFUC) .....	58
<b>Figura 29.</b> Proteínas positivas na urina (Fonte: LACFFUC).....	58
<b>Figura 30.</b> Parâmetros bioquímicos de um alcoólico crónico, evidenciando PCR elevada (Fonte: LACFFUC).....	59

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais Características dos Tubos Coletores de Sangue Venoso usados no LACFFUC... 5	
<b>Tabela 2.</b> Técnicas manuais utilizadas no LACFFUC com a respetiva metodologia, por valência..... 9	
<b>Tabela 3.</b> Aparelhos usados no LACFFUC com respetiva metodologia e parâmetros, por valência.. 9	
<b>Tabela 4.</b> Parâmetros analíticos determinados no AU 400®, de acordo com a sua metodologia..... 19	
<b>Tabela 5.</b> PTOG às 0, 1 e 2h para diagnóstico de DG (Fonte: LACFFUC) .....	41

## ABREVIATURAS

<b>β-hCG</b>	Gonadotrofina Coriónica Humana, fração β
<b>Ac</b>	Anticorpo
<b>AEQ</b>	Avaliação Externa da Qualidade
<b>Ag</b>	Antigénio
<b>ALP</b>	Fosfatase Alcalina
<b>ALT</b>	Alanina Aminotransferase
<b>AST</b>	Aspartato Aminotransferase
<b>ATG</b>	Anticorpo anti-tiroglobulina
<b>ATPO</b>	Anticorpo anti-tireoperoxidase
<b>CA</b>	Antigénio Carbohidrato
<b>CEA</b>	Antigénio Carcinoembrionário
<b>CHCM</b>	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
<b>C-HDL</b>	Colesterol das HDL
<b>CK</b>	Creatinina Cinase
<b>C-LDL</b>	Colesterol das LDL
<b>CLSI</b>	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
<b>CMV</b>	Citomegalovírus
<b>CPS</b>	<i>Chromogenic Plate Substrate</i>
<b>CQI</b>	Controlo de Qualidade Interno
<b>DCV</b>	Doenças Cardiovasculares
<b>DG</b>	Diabetes Gestacional
<b>DGS</b>	Direção-Geral de Saúde
<b>DM</b>	Diabetes <i>mellitus</i>
<b>Dr.<sup>a</sup></b>	Doutora
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiaminotetracético
<b>FFUC</b>	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
<b>FPSA</b>	Antigénio específico da próstata livre
<b>FSH</b>	Hormona Folículo-estimulante
<b>FT<sub>3</sub></b>	Triiodotironina Livre
<b>FT<sub>4</sub></b>	Tiroxina Livre
<b>GGT</b>	Gama Glutamil Transferase

<b>GN</b>	Gram negativo
<b>GOT</b>	Glutamato-Oxaloacetato Transaminase
<b>GPT</b>	Glutamato-Piruvato Transaminase
<b>HbA1c</b>	Hemoglobina Glicada
<b>HBV</b>	Vírus da Hepatite B
<b>HCV</b>	Vírus da Hepatite C
<b>HDL</b>	<i>High Density Lipoprotein</i>
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<b>Ig</b>	Imunoglobulina
<b>INR</b>	<i>International Normalized Ratio</i>
<b>LAC</b>	Laboratório de Análises Clínicas
<b>LACFFUC</b>	Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
<b>LDH</b>	Lactato Desidrogenase
<b>LDL</b>	<i>Low Density Lipoprotein</i>
<b>LH</b>	Hormona Luteino-estimulante
<b>LPL</b>	Lipoproteína Lipase
<b>MAU</b>	Microalbuminúria
<b>NAD+</b>	Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina Oxidado
<b>NADH</b>	Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina Reduzido
<b>NP: EN:</b>	Norma Portuguesa: <i>European Norm; International Organization for</i>
<b>ISO</b>	<i>Standardization</i>
<b>OF</b>	Ordem dos Farmacêuticos
<b>PC</b>	Posto de Colheitas
<b>PCR</b>	Proteína C Reativa
<b>PRL</b>	Prolactina
<b>Prof. <sup>a</sup></b>	Professora
<b>PTOG</b>	Prova de Tolerância Oral à Glucose
<b>PTT</b>	Tempo de Pró-Trombina
<b>RBG</b>	Anticorpo do tipo G anti Vírus da Rubéola
<b>RF</b>	Fator Reumatóide
<b>Rh</b>	<i>Rhesus</i>
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucleico

<b>ROS</b>	Espécies Reativas de Oxigénio
<b>t<sub>1/2</sub></b>	Tempo de semi-vida
<b>T<sub>3</sub></b>	Triiodotironina
<b>T<sub>4</sub></b>	Tiroxina
<b>TAG</b>	Triglicéridos
<b>TASO</b>	Anticorpo anti-estreptolisina O
<b>TFG</b>	Taxa de Filtração Glomerular
<b>TOXO</b>	Toxoplasma
<b>TPSA</b>	Antigénio específico da próstata total
<b>TRH</b>	Tireotrofina
<b>TSH</b>	Hormona estimuladora da Tiróide
<b>TTPa</b>	Tempo Parcial de Tromboplastina Ativada
<b>UA</b>	Unidade de Alcoologia
<b>UD</b>	Unidade de Desabilitação
<b>VCM</b>	Volume Corpuscular Médio
<b>VCS</b>	Volume, Condutividade, Scatter
<b>VDRL</b>	<i>Venereal Disease Research Laboratory</i>
<b>VIDAS</b>	<i>Vitek Immuno Diagnostic Assay System</i>
<b>LDL</b>	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
<b>VS</b>	Velocidade de Sedimentação
<b>XLD</b>	Xilose-Lisina-Desoxicolato



## **RESUMO**

O estágio curricular do Mestrado em Análises Clínicas pretende fornecer um primeiro contacto com a rotina laboratorial, através da manipulação dos equipamentos e da execução de algumas técnicas manuais que permitem analisar as amostras biológicas, segundo uma política de qualidade.

Por isso, o presente relatório tem por objetivo descrever, de uma forma sucinta, as principais atividades que tive a oportunidade de desenvolver no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (LACFFUC) ao longo destes últimos meses. Especial destaque será dada à valência de Bioquímica, uma área que apesar de já se encontrar automatizada, continua fundamental na avaliação da saúde geral de um indivíduo.

**Palavras-Chave:** LACFFUC, Atividades Laboratoriais, Controlo da Qualidade, Bioquímica

## **ABSTRACT**

The curricular traineeship of the Master in Clinical Analysis intends to offer a first contact with the laboratorial routine through the manipulation of the equipment and the execution of some manual techniques allowing the analysis of the biologic samples, according to a quality policy.

Therefore, the current report aims to describe, in a simple mode, the main activities I had the opportunity to develop in the Laboratory of Clinical Analysis of the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra (LACFFUC) throughout these last few months. Special focus will be given to Biochemistry an area which, despite its automation, remains fundamental in the assessment of an individual's general health.

**Keywords:** LACFFUC, Laboratorial Activities, Quality Control, Biochemistry



## INTRODUÇÃO

Vários séculos se passaram desde que se constatou que a partir de uma amostra biológica se poderia obter informações sobre o estado geral de saúde de um determinado indivíduo, tornando-se esta uma ferramenta preciosa quando aplicada à prática clínica. No entanto, só com o progresso das áreas científicas no campo da saúde e com o crescente desenvolvimento dos métodos analíticos é que as decisões médicas deixaram de ser exclusivamente empíricas para serem baseadas em dados concretos do boletim analítico que suportam e orientam o diagnóstico clínico. Isto levou a uma mudança no paradigma de prestação de cuidados de saúde à população, no qual o papel das Análises Clínicas tem sido cada vez mais valorizado, surgindo como um importante meio complementar de diagnóstico, com contribuições adicionais na prevenção e prognóstico de algumas patologias assim como na orientação e monitorização da terapêutica<sup>1</sup>.

Tratando-se de um serviço prestado à comunidade, uma preocupação constante prende-se com o aumento da produtividade e da rapidez de resposta, aos menores custos e com a minimização de erros que poderão ter repercussões nefastas para a saúde do doente. Apesar de nos últimos anos termos assistido a dificuldades económicas neste setor, o que se reflete na redução de custos de funcionamento e no aumento da automatização, os laboratórios clínicos não deixaram que isso afetasse a qualidade dos resultados fornecidos, continuando a constituir uma peça fulcral do Serviço Nacional de Saúde.

Dada a sua importância, é fundamental a formação de pessoal qualificado não só na manipulação dos diversos equipamentos mas também na interpretação e validação dos dados obtidos, mediante a situação clínica do doente. Uma boa preparação profissional reveste-se de grande valor quer na compreensão do trabalho laboratorial diário quer na utilização dos meios e métodos adequados para a execução das análises corretas no doente correto, de modo a que estes resultados tenham valor acrescido na clínica.

O principal objetivo deste estágio curricular consistiu num primeiro contato com esta realidade laboratorial através da passagem pelas valências de Bioquímica, Imunologia/Endocrinologia, Hematologia e Microbiologia, permitindo não só a aquisição de competências técnico-científicas para a interpretação dos resultados laboratoriais mas também possibilitando a aplicação prática dos conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do Mestrado.



Deste modo, o presente relatório tem por objetivo descrever, de uma forma sucinta, as principais atividades que tive a oportunidade de desenvolver no laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (LACFFUC) ao longo destes últimos meses, no âmbito do estágio curricular do Mestrado em Análises Clínicas. Especial ênfase será dada à valência de Bioquímica, uma área que, apesar de já se encontrar muito automatizada, continua essencial na avaliação geral da saúde do indivíduo e na compreensão de muitos processos metabólicos, com a integração de conhecimentos de várias áreas.

# **I. CARACTERÍSTICAS DO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS**

---

Integrado na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), o Laboratório de Análises Clínicas (LAC), inicialmente no Pólo I, abriu as portas em 1983, tendo sido posteriormente transferido para o Pólo III, das Ciências da Saúde, em 2009.

## **1. Recursos Humanos**

Sob a direção técnica da Dr.<sup>a</sup> Ana Donato, farmacêutica especialista em Análises Clínicas pela Ordem dos Farmacêuticos (OF), a qual está especificamente encarregue pela validação dos resultados analíticos, por garantir a qualidade dos exames realizados e por assegurar o cumprimento das boas práticas laboratoriais, a equipa integra ainda uma Diretora Técnica-Adjunta, a Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Miguel Matos, também ela farmacêutica e especialista em Análises Clínicas pela OF, um técnico de Análises Clínicas, o Mestre Daniel Gonçalves, uma técnica responsável pela colheita de produtos biológicos no Posto de Colheitas, a enfermeira Sara Rodrigues e ainda duas assistentes administrativas, Dulce Dias e Maria Teresa Santos.

## **2. Espaço Físico**

O Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (LACFFUC) situa-se no piso 0 da FFUC e dispõe de espaços específicos para as diferentes atividades realizadas. Como tal, possui uma área de atendimento ao público, dois gabinetes para os funcionários do laboratório, uma sala de reuniões, dois armazéns, 3 casas-de-banho, uma sala de colheitas e o laboratório propriamente dito. Este último dispõe das valências de Hematologia, Imunologia/Endocrinologia e Bioquímica, fisicamente separadas da área de Microbiologia, que se encontra na sala adjacente, após a qual se situa uma sala para lavagem do material diariamente utilizado nas atividades laboratoriais.

Já o Posto de Colheitas (PC), localizado nos Serviços Médicos Universitários (SASUC), na Rua Venâncio Rodrigues n.º 2, no Pólo I, inclui apenas uma receção, uma sala de colheitas e uma casa-de-banho.

### **3. Fluxo de Utentes e Amostras**

O fluxo médio de amostras diárias colhidas no LACFFUC tem por base os 3 a 5 utentes diários, ao qual se juntam aproximadamente 8 a 10 amostras provenientes de indivíduos que se deslocaram ao PC. Adicionalmente, o laboratório estabeleceu protocolos com determinadas instituições com vista a aumentar este fluxo de amostras. Desta forma, durante dois dias por semana, pode-se ainda contar com mais 10 a 15 amostras de doentes da Unidade de Alcoologia (UA) e da Unidade de Desabituação (UD) do Instituto da Droga e da Toxicodependência (IDT) de Coimbra, e, ocasionalmente, com amostras de sangue de algumas utentes do sexo feminino ao abrigo de um estudo da Faculdade de Psicologia da Universidade de Coimbra.

### **4. Funcionamento do LACFFUC e Organização do Trabalho Diário**

O LACFFUC encontra-se aberto ao público todos os dias úteis das 8h30 às 17h30, encerrando apenas no mês de Agosto. Como tal, qualquer utente com requisição médica ou por sua própria iniciativa poder-se-á dirigir quer ao LACFFUC quer ao PC e solicitar a realização de determinadas análises. Aquelas que não são passíveis de serem executadas no laboratório são reencaminhadas para o Laboratório de Análises Clínicas S. José, na IdealMed, devidamente identificadas e acondicionadas.

O trabalho diário começa com o atendimento dos utentes para colheita e/ou entrega de amostras biológicas, com vista a serem posteriormente processadas, e termina com a validação dos boletins analíticos. Assim, podemos dividir este processo laboratorial em 3 fases principais: a pré-analítica, a analítica e a pós-analítica.

#### **4.1. Fase Pré-Analítica**

Esta fase engloba todos os passos prévios à análise das amostras, o que inclui a análise da prescrição médica com a identificação dos parâmetros a serem determinados, a preparação adequada do utente, passando pela colheita dos produtos biológicos apropriados com a sua correta identificação, transporte e triagem até que ocorra o seu processamento analítico<sup>2</sup>.

Na receção de ambos os locais (LACFFUC e PC), durante o atendimento é preenchida a ficha do utente com o registo no sistema informático LabUC das respetivas análises a efetuar para, de seguida, se proceder à colheita da amostra e/ou à sua receção.

#### 4.1.1. Colheita das Amostras

As colheitas são realizadas durante a manhã, das 8h30 às 11h30 no PC e até às 12h no LACFFUC. Se a amostra for colhida pelo próprio, este apenas necessita entregá-la na receção, mas caso seja necessária intervenção do técnico, com colheita no momento, o utente é encaminhado para a sala de colheitas.

##### a) Amostras colhidas no LACFFUC

Durante o tempo em que estive no LACFFUC, as amostras aí colhidas foram exclusivamente de sangue venoso, pelo técnico flebotomista, e de urina, pelo próprio utente, após breve explicação dos cuidados a ter.

##### a1) Colheita de Sangue Venoso

Por forma a não introduzir mais variáveis pré-analíticas no momento da colheita de sangue venoso que possam influenciar os resultados, nomeadamente a contaminação da amostra de sangue com os microrganismos comensais da pele, a sua hemólise ou a sua coagulação *in vitro*, vários são os cuidados a ter neste processo. Estes consistem, especificamente, na desinfeção da pele antes da inserção da agulha, no controlo do tempo de garrotagem, na escolha da agulha adequada ao calibre das veias e na seleção da seringa com a capacidade apropriada ao volume de amostra a colher<sup>3</sup>. Regra geral, o sangue é colhido com uma agulha de 21G para uma seringa de 10mL sendo posteriormente distribuído pelo número de tubos apropriado, respeitando a proporção entre anticoagulante e sangue de cada tubo. Estes têm um código de cores na tampa que permite identificar o anticoagulante que reveste as suas paredes e a sua escolha depende do tipo e do número de análises a serem realizadas. As características principais dos quatro tubos utilizados diariamente encontram-se resumidas na **Tabela I**.

**Tabela I.** Principais Características dos Tubos Coletores de Sangue Venoso usados no LACFFUC.

Cor da Tampa	Anticoagulante	Volume	Amostras Obtidas	Testes Realizados
Preto	Citrato sódico 1:4	1,5 mL	Sangue Total	Velocidade de Sedimentação
Azul	Citrato trissódico 1:9	2,5 mL	Plasma	Provas de Coagulação
Roxo	EDTA tripotássico	3 mL	Sangue Total	Hemograma e Hemoglobina Glicada
Vermelho	Sem anticoagulante	10 mL	Soro	Provas Imunológicas e Bioquímicas, Proteinograma e Ionograma

Quando se torna necessária a utilização de vários tubos diferentes, a existência de uma ordem pré-estabelecida revela-se essencial na minimização do risco de contaminação de um tubo com o anticoagulante do tubo anterior o que, conseqüentemente, poderá influenciar os resultados obtidos. Desta forma, as *guidelines* do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) recomendam começar pelo anticoagulante menos potente, ou seja, pelo de citrato sódico, e de entre eles, primeiro pelo de 1:9 e só depois pelo de 1:4. O seguinte seria o tubo sem anticoagulante e, finalmente, o de EDTA tripotássico, pois a ligação que este estabelece com o cálcio é irreversível. No entanto, no LACFFUC o tubo para obtenção de soro é deixado para o final, pois sendo o sangue colhido com seringa, não é tão afetado pelo processo de coagulação que se inicia dentro desta. Assim, considerando que o sangue que entra por último na seringa é o menos afetado pela formação de microcoágulos irreversíveis, os tubos com anticoagulante terão de ser cheios primeiro e o mais rapidamente possível, para que o anticoagulante exerça a sua função e os valores dos parâmetros aí analisados não sejam alterados.

Depois, os tubos com anticoagulante são colocados no agitador mecânico da sala de colheitas, enquanto os de soro ficam a repousar, na vertical e à temperatura ambiente durante 30 minutos, de modo a promover a formação do coágulo para posterior centrifugação e separação do soro.

#### **b) Amostras colhidas no PC**

Para além de amostras de sangue venoso e de urina, do PC também provieram alguns exsudatos, nomeadamente faríngeos e vaginais, colhidos com zaragatoas. Evitar a contaminação com a flora circundante é o cuidado principal na sua obtenção, por forma a não enviesar a interpretação do resultado.

#### **c) Amostras colhidas na UA**

A maioria das amostras colhidas na UA era de sangue venoso, de acordo com o Manual de Colheitas do LACFFUC, laboratório para o qual eram transportadas em recipientes apropriados e acompanhadas das respetivas requisições. Raramente, também vinham algumas amostras de urina.

#### **d) Amostras colhidas pelo utente**

Já se a amostra for colhida pelo próprio utente, este terá sempre de ser questionado quanto à forma como procedeu à sua colheita. Caso percebamos que esta não foi realizada de forma correta ou caso a amostra não esteja nas devidas condições, deverá ser rejeitada e repetida a colheita com os cuidados adequados, de modo a evitar resultados falseados. De destacar que o procedimento correto para a sua recolha deverá ser explicado ao utente, quer por via oral, quer escrita, antes deste proceder à sua colheita.

As amostras mais frequentemente colhidas pelo utente foram a primeira urina da manhã, a urina de 24h e as fezes.

Assim, para a recolha da primeira urina da manhã, o jato intermédio de urina deve ser colhido em recipiente estéril após lavagem da zona genital. Esta amostra tanto poderá ser utilizada para análise citobacteriológica da urina como somente para a análise sumária desta. Esta última também poderá ser colhida nas casas-de-banho do laboratório, caso o indivíduo não tenha urinado nas 3 a 4 horas anteriores.

Já para a colheita da urina das 24 horas, o intervalo de tempo durante o qual todas as micções realizadas ao longo desse mesmo dia têm de ser recolhidas, começa a contar a partir do momento em que o indivíduo esvazia a bexiga. Findo esse tempo, obtém um recipiente com toda a urina das 24 horas, cujo volume obtido irá ser importante na expressão dos resultados<sup>4</sup>. Esta urina tem como objetivo a determinação da microalbuminúria, *clearance* da creatinina, amilase urinária e, eventualmente, das catecolaminas.

As fezes eram frequentemente examinadas na análise microbiológica e na deteção de sangue oculto. O utente deve ter o cuidado de colher uma pequena quantidade, não contaminada com urina nem com outro fluido ou material para um recipiente estéril. Para a realização da coprocultura, uma única amostra é suficiente, enquanto para os exames parasitológico de fezes e de sangue oculto, devem ser colhidas três amostras em dias alternados ou consecutivos, respetivamente.

#### **4.1.2. Identificação dos Tubos e Recipientes de Colheita**

Após a colheita ou entrega das amostras na receção, estas são imediatamente identificadas mediante um código interno. Regra geral, todos os tubos e restantes recipientes são identificados manualmente com o número da amostra, sequencial ao longo do dia,

seguido do número do dia atual, concomitantemente com a data completa. As que vêm do Posto de Colheitas, têm adicionalmente as iniciais "PC", as da Unidade de Alcoologia, "UA", as da Unidade de Desabilitação, "UD" e as amostras do estudo de Psicologia possuem um código próprio. Exemplificando, se a amostra tivesse o código 7/2, seria a amostra n.º 7 colhida no dia 2 do respectivo mês; 14/15 PC, corresponderia à amostra n.º 14 colhida no dia 15 mas no Posto de Colheitas e a 5/8 UA seria a amostra n.º 5 colhida no dia 8 na Unidade de Alcoolismo.

#### **4.1.3. Transporte das Amostras**

As amostras do PC e da UA são transportadas refrigeradas e protegidas da luz, num recipiente térmico, até darem entrada no LACFFUC.

#### **4.1.4. Triagem das Amostras**

Após chegada ao laboratório propriamente dito, as amostras seguem para o setor respectivo. Mais concretamente, as amostras microbiológicas são colocadas na seção de Microbiologia aguardando processamento. Os tubos com EDTA são colocados no Spec-Mix<sup>®</sup>, um agitador mecânico na bancada da Hematologia enquanto os de citrato trissódico 1:9, para a determinação da velocidade de sedimentação, são postos num agitador de 360°. Já os de citrato sódico 1:4 são centrifugados a 2500rpm/10min, para conseqüente obtenção do plasma. Os tubos sem anticoagulante, após um repouso de aproximadamente 30 minutos, são centrifugados a 3000rpm/20min, para posterior separação do soro para tubos correspondentes.

### **4.2. Fase Analítica**

A Fase Analítica consiste no processamento da amostra, isto é, na utilização de determinadas técnicas de acordo com certas metodologias, com vista à obtenção de um resultado.

Há alguns anos atrás, estas técnicas eram exclusivamente realizadas manualmente, existindo uma maior contribuição humana nesta fase mas também uma menor rapidez na resposta do serviço prestado. Contudo, algumas técnicas manuais ainda se mantiveram até aos dias de hoje e as que executei no LACFFUC encontram-se esquematizadas na **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Técnicas manuais utilizadas no LACFFUC com a respetiva metodologia, por valência.

Área	Técnica	Metodologia
Hematologia	Esfregaço sangue periférico	Coloração May-Grünwald-Giemsa
	Contagem de Reticulócitos	Coloração com Azul de Metileno
Imunologia	Tipagem dos sistemas AB0 e Rhesus	Hemaglutinação
	Teste de Coombs Indireto	Hemaglutinação
Microbiologia	Urocultura	Exame a fresco e cultural em CPS
	Análise do Exsudato Vaginal	Exame a fresco e cultural em geloses de sangue e Saboraud
	Análise do Exsudato Faríngeo	Exame cultural em gelose de sangue
	Coprocultura	Exame a fresco (se aplicável) e cultural em MacConkey, XLD, Hektöen e caldo GN
	Exame Parasitológico de Fezes	Exame a fresco direto e pós-concentração
	VDRL	Aglutinação com partículas de carvão
	Teste de Paul Bunnell	Aglutinação em Látex

*Legenda:* VDRL – Venereal Disease Research Laboratory, XLD – Xilose-Lisina-Desoxicolato, GN – Gram negativo

Atualmente, esta fase já se encontra muito automatizada, por forma a aumentar a produtividade e a rapidez de resposta, com a minimização de erros e aos menores custos. As metodologias dos aparelhos utilizados e os parâmetros analíticos por eles determinados, de acordo com o manual do fornecedor e por valência (à exceção de Bioquímica, que será abordada com maior detalhe mais adiante) estão resumidos na **Tabela 3**.

**Tabela 3.** Aparelhos usados no LACFFUC com respetiva metodologia e parâmetros, por valência.

Área	Aparelho	Metodologia	Parâmetros
Hematologia	Analisador Max'M Coulter®, da Biomérieux	Princípio Coulter (Impedância Elétrica)	- Contagem de eritrócitos, leucócitos e plaquetas; - Determinação dos índices hematimétricos; - Quantificação da hemoglobina.
		Tecnologia VCS (volume, condutividade, scatter)	- Diferenciação das subpopulações leucocitárias.
	Sedy 12®	Método de Westergren modificado	- Velocidade de Sedimentação.
	Option 4 Plus®	Agregometria Ótica	- Tempo de Pró-Trombina (PTT); - Tempo Parcial de Tromboplastina Ativada (TTPa).



Imunologia	VIDAS <sup>®</sup> , da Biomérieux	<u>Tecnologia ELFA:</u> - por competição	❖ <b>Infeciologia:</b> Ag HBs, Ac anti-HBc IgG/IgM, Ac anti-HBe IgM  ❖ <b>Endocrinologia:</b> T <sub>4</sub> , T <sub>3</sub> , FT <sub>4</sub> e FT <sub>3</sub> , Estradiol, Progesterona, Testosterona Total
		- por sandwich	❖ <b>Infeciologia:</b> Ag HBe, Ac anti-HBs IgG/IgM, Ac anti-HBc IgM, Ac anti-HCV, Ac anti-HIV 1 e 2 e Ag p24, Ac anti-CMV IgG/IgM, Ac anti-TOXO IgG/IgM, Ac anti-RBG  ❖ <b>Endocrinologia:</b> TSH, Ac anti-tiroideus (ATPO, ATG), FSH, LH, PRL, TPSA, FPSA, Ferritina  ❖ <b>Marcadores Tumorais:</b> CA19.9, CA125, CEA

*Legenda:* Ag – Antígeno; Ac – Anticorpo; Ig – Imunoglobulina; HB – Hepatite B; s- superfície; c- core; e – envelope; T<sub>4</sub> – Tiroxina; T<sub>3</sub> – Triiodotironina; FT<sub>4</sub> – T<sub>4</sub> livre; FT<sub>3</sub> – T<sub>3</sub> livre; HCV – Vírus da Hepatite C; HIV – Vírus de Imunodeficiência Humana; CMV – Citomegalovírus; TOXO – Toxoplasma; RBG – Anticorpo do tipo IgG anti Vírus da Rubéola; TSH – Hormona estimulante da Tiróide; ATPO – Anticorpo anti-peroxidase; ATG – Anticorpo anti-tiroglobulina; FSH – Hormona Foliculo-estimulante; LH – Hormona Luteino-estimulante; PRL – Prolactina; TPSA – Antígeno específico da próstata (PSA) total; FPSA – PSA livre; CA – Antígeno Carbohidrato; CEA – Antígeno Carcinoembrionário.

### 4.3. Fase Pós-Analítica

Esta fase consiste na interpretação e validação biopatológica de todos os resultados obtidos. Após a transcrição dos valores das folhas de trabalho para o sistema informático pelas técnicas administrativas, esses dados eram novamente confirmados e os boletins analíticos assinados pela Diretora Técnica ou, na sua ausência, pela Diretora Técnica-Adjunta. Estão assim disponíveis para serem levantados pelo utente, que os poderá entregar ao médico para serem analisados, fechando-se o ciclo.

#### 4.3.1. Armazenamento das Amostras

No fim do dia de trabalho, era necessário proceder ao armazenamento de algumas amostras, nomeadamente as colhidas por métodos invasivos. Este facto reveste-se de especial importância, pois caso ocorra alguma não concordância entre a suspeita médica e o resultado fornecido ou caso o médico peça para voltar a analisar uma amostra específica por algum motivo em concreto, deixa de ser necessária nova deslocação do utente ao laboratório, submetendo-se ao mesmo processo invasivo. Assim, os tubos de soro eram rolhados e congelados a -20°C durante 3 meses aproximadamente, ao invés dos tubos com sangue total, que eram refrigerados de 2 a 8°C e eliminados ao fim de 2 semanas. Já as amostras de urina eram eliminadas no final do dia para um contentor próprio mas as de fezes eram guardadas refrigeradas até ser emitido o resultado das análises microbiológicas.

## II. GESTÃO DA QUALIDADE LABORATORIAL

---

Assegurar que se trabalha com qualidade no laboratório é essencial, pois do resultado obtido depende a decisão do médico, sobretudo quando envolve valores críticos. Deste modo, é crucial que esses dados estejam o mais próximo possível do valor real, garantindo assim que os serviços prestados acrescentem valor à decisão clínica.

O LACFFUC tem uma política de qualidade, na qual se compromete a atingir elevados níveis de qualidade, em termos éticos e técnicos, segundo as boas práticas profissionais. Para tal, implementou:

- O Controlo de Qualidade Interno (CQI), necessário para a monitorização diária da imprecisão dos métodos analíticos e dos equipamentos do laboratório;
- A Avaliação Externa da Qualidade (AEQ), realizado por uma entidade externa, na qual é realizada uma análise retrospectiva do desempenho do laboratório, mais concretamente da inexatidão dos métodos, de forma a promover o desenvolvimento de estratégias para uma melhoria constante.

### I. Controlo de Qualidade Interno

De modo a que os métodos analíticos forneçam resultados rigorosos e reproduzíveis, é essencial que as variáveis analíticas estejam controladas. Na Fase Analítica, é feito o Controlo de Qualidade Interno, de acordo com o Manual de Boas Práticas Laboratoriais. Isto inclui a verificação da linearidade e imprecisão do ensaio e, para tal, é necessária a análise de soluções de concentração conhecida – os controlos internos - com a consequente construção e interpretação das cartas de controlo de qualidade com os valores observados, segundo as regras de *Westgard*<sup>5</sup>.

Regra geral, os controlos são introduzidos no início do dia de trabalho, pois nenhum método deve ser utilizado sem ter sido previamente controlado. O número dos controlos empregados varia consoante o aparelho, entre os 2 e os 3 níveis de controlo, cuja frequência de utilização poderá ser diária, quinzenal ou até mesmo mensal, para o caso específico do VIDAS<sup>®</sup>, em Imunologia.

O nosso papel a nível do CQI passa pela validação técnica dos resultados obtidos nos controlos internos e pela deteção de não conformidades. Caso isso aconteça, será necessário tomar medidas corretivas, tais como a calibração dos reagentes com calibradores

próprios, de modo a transferir exatidão para o método analítico, a verificação do estado dos reagentes ou de outras situações de ordem técnica. A análise com os controlos é de seguida repetida até se encontrarem dentro dos valores de referência contidos nas bulas do fornecedor.

Apesar de o CQI estar exclusivamente focado na Fase Analítica, o controlo da qualidade envolve igualmente as restantes fases laboratoriais, nomeadamente o controlo das variáveis pré-analíticas e pós-analíticas.

Ao nível da Fase Pré-Analítica existe um Manual de Colheitas, onde estão contemplados os procedimentos para uma colheita correta dos vários produtos biológicos analisados, seu transporte e acondicionamento. Visto 70% de todos os erros laboratoriais se registarem nesta fase, torna-se assim necessário o seguimento deste Manual, contribuindo para um maior controlo de algumas variáveis inerentes a este processo<sup>6</sup>.

Para a Fase Pós-Analítica, como a maioria dos erros resulta de lapsos na transcrição de resultados, para os minimizar, é feita uma verificação entre as técnicas administrativas que transcreveram os resultados e a Diretora Técnica, antes de esta assinar o boletim analítico.

## **2. Avaliação Externa da Qualidade**

Para além do Controlo da Qualidade Interno, o LACFFUC ainda participa ativamente no Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ) do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, I.P. e em alguns ensaios de AEQ de um dos seus parceiros, a organização finlandesa *LabQuality Oy*, por forma a avaliar a exatidão dos métodos utilizados com a deteção de erros sistemáticos. Portanto, esta constitui uma forma de monitorizar retrospectivamente a competência do laboratório em dar resultados credíveis, ao mesmo tempo que os compara com outros laboratórios<sup>5</sup>.

Com uma certa periodicidade, chegam aos vários setores do LACFFUC, com a exceção de Microbiologia, amostras desconhecidas fornecidas por essa entidade externa certificada. Estas são analisadas como se de uma amostra real de um utente se tratasse, nas mesmas condições de trabalho. Logo, a grande vantagem de não sabermos o valor real dessas amostras prende-se com facto de não podermos influenciar o resultado obtido e de assegurar que os resultados das amostras que analisamos rotineiramente são de confiança.

Estes valores são posteriormente reportados ao seu provedor, que faz a análise dos resultados e os torna disponíveis aos vários laboratórios participantes. De acordo com as informações daí retiradas, poderá ser necessária a implementação de medidas corretivas e/ou preventivas com vista a uma melhoria dos níveis de desempenho do laboratório.

Resultante dos bons resultados obtidos neste Programa e de modo a ser reconhecido pelos seus pares, o LACFFUC candidatou-se à certificação pela NP: EN: ISO 9001:2008, estando atualmente em vias de obter um Certificado de Qualidade que garante que este laboratório reúne todas as condições para dar resultados credíveis.

Deste modo, ao apostar na qualidade dos serviços prestados, o LACFFUC faculta resultados reprodutíveis e de confiança, sendo a sua credibilidade reconhecida perante os clientes e demais laboratórios.

### III. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

---

As atividades que tive a oportunidade de desenvolver neste estágio abrangeram todas as valências do LACFFUC, designadamente, Hematologia (que inclui também a parte referente à Coagulação), Imunologia, Microbiologia e Bioquímica. Para todas elas, não só me dotaram de uma certa autonomia na execução das várias técnicas e na utilização dos vários equipamentos como também me orientaram a nível da parte interpretativa dos resultados, fornecendo todo o apoio necessário. Sendo assim, irei descrever sucintamente cada área, dando especial enfoque à de Bioquímica.

#### I. Área de Hematologia

A Hematologia engloba o estudo combinado dos elementos figurados do sangue, seus precursores e a avaliação da hemostase. Para a determinação dos parâmetros sanguíneos, o hemograma representa o exame analítico mais completo no *screening* inicial de várias patologias hematológicas e na monitorização de certas terapêuticas. Ao fornecer informações quantitativas e qualitativas sobre as séries eritrocitária, leucocitária e plaquetária, torna-se uma das análises mais solicitadas na prática clínica e, no LACFFUC, esta situação não é exceção. Como este procedimento está totalmente automatizado, o meu papel passou pela interpretação dos resultados das amostras, a partir dos quais foi possível compreender que a grande maioria das alterações se centra na série vermelha, dado o elevado número de anemias evidenciadas, predominantemente microcíticas e hipocrômicas, sugestivo de ferropenia.

Se no hemograma fossem verificadas alterações significativas em qualquer uma das séries sanguíneas ou nos índices hematimétricos, o estudo morfológico do sangue periférico poderia ser necessário, com vista a confirmar alguma situação mais atípica. Quando requerido pelo próprio médico, a contagem manual de reticulócitos também era realizada, de forma a avaliar a taxa de produção de eritrócitos pela medula óssea, o que possibilitava a diferenciação entre certos tipos de anemias.

Já o estudo da velocidade de sedimentação (VS), apesar de pouco específica, era muito utilizada na deteção de processos inflamatórios agudos e na avaliação da progressão de algumas patologias inflamatórias crónicas. Contudo, a sua maior utilidade consistia na monitorização da resposta hepática em alcoólicos crónicos, uma vez que refletia a perda da

sua capacidade de síntese proteica. Uma diminuição da VS resulta de uma redução da produção do fibrinogénio hepático, deixando de existir em quantidade suficiente para se ligar à membrana dos eritrócitos com redução do seu potencial  $\zeta$  (zeta), o que levaria à sua agregação com a formação dos rouleaux<sup>7</sup>.

### **I.1. Coagulação**

Para a avaliação da hemostase eram frequentemente determinados o tempo de pró-trombina (PTT) e o tempo parcial de tromboplastina ativada (TTPa). Ambos medem o tempo que demora a ocorrer a formação do coágulo de fibrina mas enquanto o primeiro avalia a via extrínseca, já o segundo avalia a via intrínseca.

Mensalmente, utentes a fazer terapêutica anticoagulante com derivados cumarínicos iam monitorizar o INR (*International Normalized Ratio*), cuja informação era importante no ajuste da dose desses fármacos, caso fosse necessário. Para além disso, estes dois tempos também eram muito requisitados em indivíduos da UA, encontrando-se elevados na maioria das vezes. Esta situação era indicativa de uma grave lesão hepática, com comprometimento da sua capacidade de síntese proteica, o que se traduzia pela diminuição da produção dos fatores de coagulação que são aí sintetizados e que entram em ambas as vias da cascata de coagulação.

## **2. Área de Imunologia**

Em Imunologia, os marcadores virais, tumorais e hormonais são os principais parâmetros analisados. Como estas determinações são realizadas de forma semi-automática no VIDAS<sup>®</sup>, há pouca intervenção humana, que fica limitada à colocação da amostra correta na barrete certa e à interpretação dos resultados obtidos.

Contudo, ainda executei algumas técnicas manuais, tais como a tipagem sanguínea dos sistemas ABO e Rhesus, pedida grande parte das vezes pelo médico para constar na ficha clínica dos novos utentes ou então em caso de gravidez, se o grupo sanguíneo fosse desconhecido pela utente. Neste último caso, face a um resultado *Rhesus* negativo, o médico poderia ainda pedir a realização do teste de Coombs Indireto. Em caso de sensibilização prévia, este teste permite identificar a presença de anticorpos anti-D do tipo IgG no soro da grávida, que poderiam atravessar a placenta e que, num feto *Rhesus* positivo, se conseguiriam ligar ao antígeno D dos seus eritrócitos, aglutinando-os e desencadeando a doença hemolítica do recém-nascido. Sendo assim, esta prova possibilita que sejam tomadas as medidas necessárias para evitar a ocorrência desta situação.

### 3. Área de Microbiologia

De todas as valências, esta é aquela onde o grau de automatização é menor, daí haver uma maior valorização do trabalho humano. Aqui, procedi à inoculação, nos meios de cultura adequados, dos vários produtos biológicos tais como urina, fezes e exsudatos vaginal e faríngeo, com respetiva realização do exame direto, quando aplicável. De destacar que a grande percentagem das amostras analisadas era de urina, na qual o patógeno mais frequentemente isolado correspondia à *Escherichia coli*. Sempre que a Urocultura fosse positiva, informações relativas à identificação da bactéria, sua quantificação e respetivo antibiograma tinham de ser fornecidas.

Quanto ao Exsudato Vaginal, para além do exame bacteriológico, também era realizada uma análise micológica e parasitológica, ao contrário do Exsudato Faríngeo, no qual o principal objetivo consistia na identificação de *Streptococcus  $\beta$ -hemolíticos*.

A partir das amostras de fezes, era feita a Coprocultura com a pesquisa de bactérias específicas como a *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter*, e ainda o Exame Parasitológico de Fezes, com a procura de parasitas intestinais.

Já o soro era utilizado na deteção quer das reaginas inespecíficas do *Treponema pallidum*, agente etiológico da Sífilis, quer dos anticorpos heterófilos contra o vírus *Epstein-Barr*, através de técnicas de aglutinação. Assim, era realizada a VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) ou o Teste de Paul Bunnell, respetivamente.

### 4. Área de Bioquímica

Em Bioquímica, as principais atividades que realizei vão ser abordadas a seguir com maior detalhe. Corresponderam ao doseamento de vários parâmetros analíticos, à realização de ionogramas, proteínogramas e à análise sumária da urina para a avaliação das várias funções do organismo humano com a deteção de possíveis desequilíbrios, indicadores de patologias. Embora menos frequentemente solicitados, foram igualmente efetuados os testes imunocromatográficos de gravidez e de sangue oculto nas fezes.

## IV. BIOQUÍMICA

---

Foi no início do século XX que a Bioquímica sofreu a sua grande revolução, sendo hoje considerada uma área fundamental do Laboratório de Análises Clínicas. Através da medição de determinados compostos presentes numa amostra biológica - os *biomarcadores* -, as funções dos vários órgãos são indiretamente avaliadas. Como o organismo humano se encontra num constante estado de equilíbrio, qualquer alteração nesses biomarcadores permite alertar para a existência de um determinado processo patológico ou, somente, para algum desequilíbrio transitório que esteja a ocorrer.

Consequentemente, consegue-se inferir sobre o estado geral da saúde dos indivíduos por auxiliar não só o diagnóstico de determinadas patologias mas também a sua monitorização, prognóstico e até mesmo a sua prevenção. No entanto, para apoiar a sua decisão, o médico não deve usar isoladamente as informações destes parâmetros mas considerar simultaneamente outros dados, nomeadamente a história clínica, sinais e sintomas, resultados do exame físico e ainda outros exames complementares, caso sejam necessários.

De seguida, irei abordar alguns biomarcadores usados no LACFFUC para a avaliação de algumas funções fisiológicas e ainda a metodologia e equipamentos onde essa determinação é feita.

### I. Equipamentos e Metodologia

O LACFFUC tem um certo grau de automatização e a parte de Bioquímica não é exceção. Muitos processos que antes eram manuais vêm-se agora realizados de forma automática, com maior eficiência e rapidez, ao mesmo tempo que se reduzem os custos.

Assim, cinco são os aparelhos utilizados nesta valência de Bioquímica, essenciais para a execução das determinações analíticas. São eles:

- *AU 400*<sup>®</sup>, da *Beckman Coulter*, onde se faz a maioria das análises bioquímicas;
- *SpotLyte Na/K/Cl Analyzer*<sup>®</sup>, da *Menarini Diagnostics* onde se fazem os ionogramas;
- *Helena SAS-1 Plus* e *SAS-2*<sup>®</sup>, da *Biosciences Europe*, para fazer proteinogramas;
- *CombiScan 100*<sup>®</sup>, da *Analyticon Diagnostics*, para a análise sumária da urina;
- *VIDAS*<sup>®</sup>, da *Biomérieux*, na quantificação de hormonas e antigénios tumorais.



### **I.1. AU 400®, da Beckman Coulter**

No equipamento AU 400®, representado na **Figura 1**, são executados os doseamentos da grande maioria dos parâmetros bioquímicos, seja em amostras de soro, urina ou sangue total.

Da sua constituição integram três unidades principais, uma correspondente ao compartimento dos reagentes, outra a uma câmara onde tem lugar a reação propriamente dita, com cuvetes de quartzo, e ainda uma terceira referente à área das soluções de lavagem para essas mesmas cuvetes e para o sistema de pipetagem.



**Figura 1.** AU 400®, da Beckman Coulter (Fotografia: LACFFUC).

Apesar deste aparelho processar automaticamente todas as amostras, não deixa de ser necessário compreender o seu funcionamento e as reações que estão a ocorrer no seu interior. De uma forma geral, após mistura e incubação da amostra a 37°C com o(s) reagente(s) apropriado(s) numa determinada cuvette, forma-se um produto ou um imunocomplexo. Uma fonte de luz artificial emite energia radiante que incide na cuvette e é absorvida pelo produto formado, sendo a luz transmitida através dessa solução lida por espectrofotometria entre os 300 e 800 nanómetros (nm) de comprimento de onda. A concentração ou atividade do parâmetro a ser analisado é determinada através da aplicação da Lei de Lambert-Beer, na qual a concentração dessa substância é diretamente proporcional à absorvância, isto é, à quantidade de luz absorvida pela amostra, ou inversamente proporcional ao logaritmo da luz transmitida<sup>8</sup>.

Estas reações baseiam-se em quatro metodologias analíticas, sendo elas colorimétricas, colorimétricas enzimáticas, cinético-enzimáticas e imunoturbidimétricas.

Nas técnicas **colorimétricas**, a reação do reagente com um determinado composto da amostra gera um produto corado - o cromogénio -, que é medido na faixa do visível do espectro eletromagnético. A quantidade de luz absorvida por este produto é diretamente proporcional à intensidade dessa coloração que, por sua vez, é proporcional à concentração do substrato que lhe deu origem.

Já as técnicas **colorimétricas enzimáticas** permitem o doseamento quer de macromoléculas quer de enzimas. Como tal, a reação tanto pode ser iniciada pela enzima presente no reagente que catalisa a degradação do analito ou, então, ser fornecido o substrato para a enzima em análise, respetivamente. A este passo é acoplada uma reação colorimétrica que permite a formação de um produto corado e o seu doseamento, seguindo o mesmo princípio das anteriores. Contudo, não se trata apenas de um processo químico mas também enzimático, o que confere maior especificidade a este método.

Relativamente ainda aos métodos enzimáticos, se pretendermos determinar a atividade enzimática de uma determinada enzima da amostra, as técnicas **cinético-enzimáticas** são as mais utilizadas. Uma variação da absorvância do produto final desta reação - o dinucleótido de nicotinamida e adenina na sua forma oxidada (NAD<sup>+</sup>) ou reduzida (NADH) -, lida a 340nm a dois tempos diferentes, é diretamente proporcional à atividade da enzima.

Já as reações **imunoturbidimétricas** baseiam-se na aglutinação entre os anticorpos dos reagentes e os antígenos respetivos que poderão estar presentes na amostra e vice-versa. A formação destes imunocomplexos traduz-se num aumento da turvação da solução, diminuindo a luz que a consegue atravessar. Assim, a intensidade da luz medida que atinge o detetor é a dispersada pelos complexos antígeno-anticorpo, que será tanto maior quanto maior o número desses imunocomplexos e, consequentemente, quanto maior a concentração do antígeno ou do anticorpo que se está a dosear.

Na **Tabela 4** estão resumidos os parâmetros analíticos que são analisados no AU 400<sup>®</sup> de acordo com a metodologia da reação descrita em cima.

**Tabela 4.** Parâmetros analíticos determinados no AU 400<sup>®</sup>, de acordo com a sua metodologia.

Colorimétrica	Colorimétrica enzimática	Cinético-enzimática	Imunoturbidimétrica
Bilirrubinas (total e direta)	Colesterol (total e das HDL)	GPT	PCR
Proteínas Totais	Triglicéridos	GOT	RF
Albumina	Ureia	LDH	TASO
Creatinina	ALP	CK	HbA1c
Ferro	GGT		Microalbuminúria
Cálcio	Amilase		
Magnésio	Lipase		
Fosfatos	Ácido úrico		
	Glucose*		

\* Exceção: Apesar de a glucose ser doseada por um método enzimático, o produto formado - o NADH -, não é cromogénico. A sua absorvância é determinada na zona do UV, a 340nm.  
 Legenda: HDL – High Density Lipoprotein; ALP – Fosfatase Alcalina; GGT –  $\gamma$ -Glutamil Transferase; GPT – Glutamato-Piruvato Transaminase; GOT – Glutamato-Oxaloacetato Transaminase; LDH – Lactato Desidrogenase; CK – Creatinina Cinase; PCR – Proteína C Reativa; RF – Fator Reumatóide; TASO – Anticorpo anti-estreptolisina O; HbA1c – Hemoglobina Glicada.

### **1.2. SpotLyte Na/K/Cl Analyzer<sup>®</sup>, da Menari Diagnostics**

Ilustrado na **Figura 2**, o *SpotLyte Na/K/Cl Analyzer<sup>®</sup>* permite fazer o doseamento do sódio, potássio e cloreto em amostras de soro, segundo os princípios da Potenciometria.

Como tal, é constituído por três eléctrodos seletivos de iões que convertem a atividade do sódio, potássio e cloreto da amostra em potencial eléctrico, e ainda por um eléctrodo de referência de prata/cloreto de prata, com o qual esse potencial eléctrico é comparado. Através da equação de *Nernst*, essa diferença de potencial é convertida na concentração que o respetivo ião apresenta na amostra<sup>9</sup>.

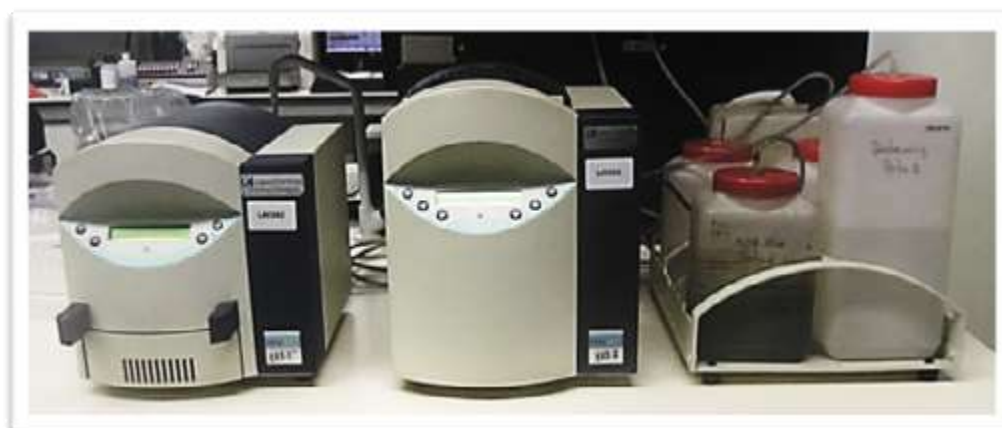


**Figura 2.** *SpotLyte Na/K/Cl Analyzer<sup>®</sup>*, da Menarini Diagnostics (Fotografia: LACFFUC).

### **1.3. Helena SAS-1 Plus e SAS-2<sup>®</sup>, da Biosciences Europe**

Este aparelho recorre à eletroforese em gel de agarose por forma a separar as várias proteínas séricas, de acordo com a sua carga e peso molecular, quando sujeitas a um campo eléctrico. Uma vez separadas, o gel é corado e a intensidade de cada banda é diretamente proporcional à sua concentração<sup>9</sup>.

Na **Figura 3**, podemos observar à esquerda, o aparelho *SAS-1 Plus*, onde se processa a eletroforese; ao centro, o *SAS-2*, onde o gel é corado; e, à direita, os reagentes necessários para o funcionamento de todo este processo.



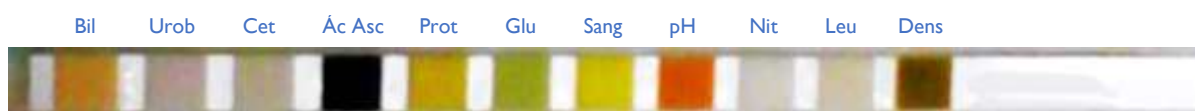
**Figura 3.** *Helena SAS-1 Plus, SAS-2<sup>®</sup>*, da Biosciences Europe (Fotografia: LACFFUC).

Apesar de também permitir a execução de lipidogramas, no período de tempo em que estive no LACFFUC, apenas foram realizados proteinogramas.

#### 1.4. ***CombiScan 100***<sup>®</sup>, da ***Analyticon Diagnostics***

Através da utilização de tiras-reagente, ou seja, tiras de plástico com zonas absorventes impregnadas com determinados reagentes, este aparelho semi-automático permite fazer uma análise qualitativa e semi-quantitativa de alguns elementos da urina, muito útil como *screening* de algumas doenças hepáticas, renais, urinárias e metabólicas.

Numa amostra de urina não centrifugada, essas substâncias, ao entrarem em contacto com os reagentes respetivos, vão originar uma mudança de cor nas zonas absorventes, cuja intensidade é proporcional à concentração do analito. Na **Figura 4**, estão os parâmetros analisados nestas tiras que correspondem, da esquerda para a direita, à bilirrubina, urobilinogénio, corpos cetónicos, ácido ascórbico, proteínas, glucose, sangue, pH, nitritos, leucócitos e densidade urinária.



**Figura 4.** Tira-reagente, 60 segundos após imersão em amostra de urina (Fotografia: LACFFUC).

Apesar de poder ser feita visualmente, no LACFFUC, a interpretação desta coloração é feita no *CombiScan 100*<sup>®</sup>, representado na **Figura 5**. O seu princípio - a refletância - baseia-se na medição da intensidade da luz refletida pela superfície dessas zonas absorventes, cujo comprimento de onda dependerá da cor mudada e será diretamente proporcional à concentração desse analito na urina. Quando atinge o detetor, esse comprimento de onda é processado de modo a obter valores mensuráveis para os vários parâmetros analisados<sup>8</sup>.



**Figura 5.** *CombiScan 100*<sup>®</sup>, da *Analyticon Diagnostics* (Fotografia: LACFFUC).

### **I.5. VIDAS<sup>®</sup>, da Biomérieux**

No VIDAS<sup>®</sup> (Vitek Immuno Diagnostic Assay System), representado na **Figura 6**, métodos imunoenzimáticos com detecção final por fluorescência - os métodos ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) -, permitem a determinação quantitativa de hormonas e antigénios tumorais presentes nas amostras de soro, para além de marcadores virais.



**Figura 6.** VIDAS<sup>®</sup>, da Biomérieux (Fotografia: LACFFUC).

Podemos distinguir dois tipos de ensaios, os **competitivos** e os **não competitivos do tipo "sandwich"**<sup>10</sup>.

No primeiro caso, o antigénio da amostra a analisar compete com um antigénio idêntico, presente em excesso no meio e marcado com um fluorocromo para os anticorpos respetivos, à superfície de uma fase sólida. Se houver pouco antigénio na amostra, a quantidade de antigénio marcado que se liga a esses anticorpos será maior e a fluorescência emitida mais intensa e vice-versa.

No segundo caso, é usado um anticorpo secundário marcado com um fluorocromo que apenas se liga ao antigénio da amostra se este estiver presente e ligado aos anticorpos da fase sólida. Assim, a intensidade da fluorescência é diretamente proporcional à concentração do antigénio da amostra, ao contrário dos métodos competitivos, que é o inverso<sup>10</sup>. Os parâmetros analisados de acordo com estas duas metodologias foram descritos anteriormente na **Tabela 3**, nas páginas 9 e 10.

Estes aparelhos permitem dosear um grande número de analitos, que nos orientam para alterações que possam estar a ocorrer no organismo. Alguns, em conjunto, permitem avaliar determinadas funções do organismo, como as descritas a seguir.

## 2. Avaliação da Função Cardiovascular

As doenças cardiovasculares (DCV) representam a principal causa de morte em Portugal, tal como em muitos outros países industrializados, e são vários os fatores de risco que propiciam o seu desenvolvimento. Um dos seus grandes contribuintes é a aterosclerose, um processo inflamatório crónico que resulta da acumulação de alguns lípidos circulantes no plasma na íntima das artérias, culminando com a formação de placas ateroscleróticas e com consequente estreitamento do lúmen arterial. Adicionalmente, estas placas têm tendência a tornarem-se instáveis e, quando o seu conteúdo é exposto, há uma ativação da coagulação dando origem a trombos, com interrupção do fluxo sanguíneo dessa mesma artéria ou de outros vasos sanguíneos em locais diferentes do organismo. O resultado é uma situação de isquémia, à qual se pode seguir a necrose dos tecidos circundantes, originando um enfarte agudo do miocárdio ou um acidente vascular cerebral<sup>11</sup>.

Por forma a diminuir as elevadas taxas de morbilidade e mortalidade associadas às DCV, os clínicos avaliam o risco cardiovascular global em certos indivíduos que apresentem alguns fatores de risco para o seu desenvolvimento através do perfil lipídico.

O perfil lipídico consiste no doseamento do colesterol total, do colesterol das LDL (*low density lipoproteins*) e das HDL (*high density lipoproteins*) e ainda dos triglicéridos (TAG), sendo dos exames de rotina mais requisitados ao LACFFUC. O principal cuidado a ser tido em consideração por parte do utente é a realização de um jejum de 10 a 12 horas, sobretudo no caso dos TAG, por forma a evitar interferências com os lípidos da dieta.

### 2.1. Colesterol Total

Cerca de 15% do colesterol total provém da dieta, onde é integrado em *quilomicrons* para poder ser absorvido pelas células intestinais, enquanto os restantes 85% são sintetizados endogenamente, maioritariamente no fígado. Este órgão fornece o colesterol necessário às necessidades das células dos tecidos periféricos, cuja capacidade de síntese é limitada, incluindo-o no interior de lipoproteínas, as VLDL (*very low density lipoproteins*), as quais, após metabolização, irão dar origem às LDL.

À exceção das células endócrinas e hepáticas, onde o colesterol é imprescindível na síntese de hormonas esteróides e na produção de sais biliares e lipoproteínas, respetivamente, os tecidos periféricos não têm grande capacidade de o catabolizar. Quando isto acontece, o excesso de colesterol intracelular inibe a biossíntese endógena do próprio e

a expressão dos recetores de LDL à superfície das células. Isto faz com que o colesterol total tenha mais dificuldade em ser captado pelos vários tecidos, aumentando em circulação. Grande parte desse colesterol em excesso acaba por ser transportado para o fígado onde pode ser eliminado na bÍlis. Contudo, se este controlo não for suficiente e se houver um excedente de colesterol circulante, ele acaba por aumentar na circulação sanguínea, nomeadamente o das LDL, com as consequências que isso acarreta<sup>12</sup>.

## **2.2. Colesterol das LDL**

O colesterol das LDL (C-LDL) é atualmente considerado o principal parâmetro responsável pelo desenvolvimento das placas aterogénicas. Não só este colesterol corresponde a cerca de 70% de todo o colesterol em circulação transportado dos hepatócitos às células dos tecidos periféricos como também se encontra no interior de lipoproteínas de pequenas dimensões, o que facilita a sua deposição na íntima das artérias, desencadeando o processo aterogénico.

O valor de C-LDL é calculado pela *fórmula de Friedewald*, na qual se assume que o colesterol das VLDL está presente numa concentração equivalente a um quinto dos TAG circulantes no plasma. Isto é verificado para valores de TAG inferiores a 400mg/dL, caso contrário esta fórmula não poderá ser aplicada, como se compreenderá mais adiante no **Caso Clínico 3**.

### ***Fórmula de Friedewald***

$$C - LDL = \text{Colesterol Total} - \left( \frac{TAG}{5} + C - HDL \right)$$

## **2.3. Colesterol das HDL**

Enquanto a hipercolesterolemia LDL é considerada um fator de risco cardiovascular, um aumento no colesterol das HDL já tem o efeito oposto. O colesterol presente em excesso nos tecidos periféricos é incorporado nas HDL, que o transporta até ao fígado para ser catabolizado. Com a diminuição do colesterol em circulação, menos se acumula na íntima das artérias. Daí que valores mais elevados de C-HDL se possam traduzir em benefícios adicionais<sup>13</sup>. No entanto, tem de haver um equilíbrio, pois se o colesterol presente nestas lipoproteínas estiver em excesso, este também se poderá tornar prejudicial ao organismo, o

que se levou a considerar que os valores ótimos para proteção cardiovascular se encontrem entre os 40 e 75mg/dL<sup>14</sup>.

Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
Coles	210	H	mg / dL	19	200
Trig	174	H	mg / dL	9	150
HDL	56	L	mg / dL	60	180
LDL	119.2	H		0.0	100.0

Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
Coles	205	H	mg / dL	19	200
Trig	241	H	mg / dL	9	150
HDL	37	L	mg / dL	60	180
LDL	119.8	H		0.0	100.0

Figura 7. Comparação de dois perfis lipídicos (Fonte: LACFFUC).

A **Figura 7** apresenta o perfil lipídico de dois utentes. Se compararmos o perfil lipídico destes dois indivíduos, considerando-os com os mesmos fatores de risco cardiovasculares, podemos facilmente verificar que quer os níveis de colesterol total, quer o das LDL, são muito semelhantes. Contudo, o da direita apresenta um risco de desenvolver uma DCV ligeiramente superior ao da esquerda, pelo facto de os seus níveis de C-HDL se encontrarem mais reduzidos, mas também por os níveis de TAG se encontrarem mais aumentados.

#### 2.4. Triglicéridos

Para além do C-LDL, valores elevados de TAG também podem contribuir para o aumento do risco cardiovascular, sobretudo os contidos nas VLDL de menores dimensões<sup>15</sup>.

Os TAG são constituídos por uma molécula de glicerol e três de ácidos gordos necessitando, por isso, de lipoproteínas para circular na corrente sanguínea. São incorporados nos *quilomicrons* se forem provenientes da dieta, ou nas VLDL se forem sintetizados no fígado. Quer os *quilomicrons* quer as VLDL os transportam aos tecidos periféricos, mais especificamente ao tecido adiposo, para serem hidrolisados pela lipoproteína lipase (LPL). Depois, ficam aí armazenados sob a forma de gotículas de gordura até que seja necessário o seu recrutamento para serem submetidos à  $\beta$ -oxidação e assim fornecerem energia às restantes células<sup>16</sup>.

Quando há um aumento na produção das VLDL e diminuição do seu catabolismo, os níveis de TAG aumentam no soro, o que se designa por hipertrigliceridémia. Um aumento dos TAG pode ter causas genéticas, como deficiências nas enzimas que os metabolizam ou dos seus cofatores. Também se pode desenvolver na sequência de outras situações das quais



são exemplo o *stress*, a ingestão de dietas ricas em hidratos de carbono, o consumo exagerado de ácidos gordos saturados e insaturados que irão integrar os TAG, e ainda a *Diabetes mellitus*.

Na **Figura 8** verificamos a presença de um perfil lipídico de um diabético significativamente alterado, com um aumento excessivo do colesterol total, do C-LDL e dos TAG.

Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
Gluc	139	H	mg / dL	74	106
Coles	314	H	mg / dL	19	200
Trig	260	H	mg / dL	9	150
HDL	48	L	mg / dL	60	100
LDL	214.0	H		0.0	100.0

**Figura 8.** Perfil lipídico de um doente diabético (Fonte: LACFFUC).

Para compreendermos esta situação, temos de considerar que, independentemente deste indivíduo se encontrar numa situação de jejum, a glicémia se assemelha a uma pós-prandial. O aumento da glucose na circulação faz com que esta continue a ser captada pelo fígado como substrato da glicólise e o seu excesso seja utilizado na síntese endógena de TAG. Estes irão integrar as VLDL que se dirigem para o tecido adiposo, onde são armazenados.

Ao contrário dos hepatócitos, os tecidos periféricos são dependentes de insulina e, por não conseguirem usar esta hormona para captar a glucose da circulação na obtenção de energia, recorrem a vias alternativas, como à mobilização dos TAG circulantes e dos contidos nos adipócitos. Adicionalmente, a atividade da lipoproteína lipase (LPL), uma enzima estimulada pela insulina envolvida no catabolismo das VLDL, encontra-se diminuída. Estas situações culminam com a elevação dos TAG em circulação, o que é muito comum em diabéticos, nomeadamente com *Diabetes mellitus* do tipo 2<sup>17</sup>.

No entanto, apesar de a LPL existir predominantemente na superfície luminal das células endoteliais do tecido adiposo, também existe noutros tecidos periféricos, como no endotélio do tecido muscular. Esta LPL muscular é menos sensível à quantidade de insulina circulante, continuando a exercer a sua função independentemente dos níveis desta hormona. Assim, dada a grande concentração de VLDL na circulação, formam-se grandes quantidades de IDL e, conseqüentemente, mais colesterol irá integrar as LDL, sendo a taxa deste catabolismo inferior à formação dos TAG<sup>18</sup>.

Assim, facilmente se compreende uma das formas pela qual a *Diabetes* intervém no processo aterogénico, constituindo um fator de risco cardiovascular.

### **3. Avaliação da Função Renal**

Os rins são órgãos vitais por assegurarem a homeostase do organismo humano, não só através da manutenção dos equilíbrios hidro-eletrolítico e ácido-base mas também pela eliminação, através da urina, de produtos do metabolismo proteico e nucleotídico, que se tornariam tóxicos em excesso, assim como de xenobióticos. A juntar a isto, temos a sua função de síntese, visto tratar-se de um importante órgão endócrino, bem como a de conservação de proteínas<sup>19</sup>.

Dada a sua relevância, torna-se crucial a monitorização do seu funcionamento, pois qualquer desregulação pode implicar graves repercussões. Alguns parâmetros são mais específicos da função glomerular e outros da função tubular, o que nos orienta na direção em que poderá estar a ocorrer a lesão.

No LACFFUC, a parte glomerular era avaliada através de compostos azotados não proteicos, da clearance da creatinina, de produtos resultantes do metabolismo nucleotídico e, em casos especiais, da microalbuminúria. Já no estudo da função tubular, a análise sumária da urina assumia relativa importância. Quanto à parte hormonal, sempre que o doseamento da eritropoietina, renina ou 1,25-dihidroxicolecalciferol era requisitado, estas amostras eram enviadas para o Laboratório S. José, pois o seu doseamento não era feito no LACFFUC.

#### **3.1. Avaliação da Função Glomerular**

##### **3.1.1. Compostos Azotados Não Proteicos**

Ao contrário dos lípidos e dos hidratos de carbono, o organismo humano não tem capacidade de armazenamento de proteínas, sejam elas provenientes da dieta ou resultantes da destruição ou renovação dos tecidos. Por isso, têm de ser degradadas e os produtos resultantes desse catabolismo proteico, nomeadamente a ureia e a creatinina, são eliminados por via renal.

##### **a) Ureia**

Sempre que ocorre desaminação oxidativa de proteínas, há formação de amónia, um composto que se torna tóxico para o Sistema Nervoso Central, quando em excesso. De modo a prevenir a sua acumulação na corrente sanguínea, uma parte é eliminada livremente através da urina mas a grande maioria é convertida, no fígado, em ureia e eliminada posteriormente pelos rins, apesar de uma pequena percentagem poder também ser excretada nas fezes.

Por ter baixo peso molecular, é livremente filtrada no glomérulo renal, apesar de 40 a 70% da ureia filtrada ser reabsorvida nos túbulos proximais e coletores renais. Daí que um comprometimento da função renal, mais concretamente a nível glomerular, faça com que este processo de filtração não seja tão eficaz, contribuindo para o aumento do seu valor sérico<sup>20</sup>.

No entanto, a ureia não deve ser utilizada isoladamente como marcador da função glomerular, pois também se pode encontrar elevada noutras situações, sem que haja um envolvimento renal primário. Dietas ricas em proteínas, um catabolismo proteico excessivo, uma situação de desidratação que resulta na diminuição do volume de plasma e que inflaciona a concentração de ureia são causas extra-renais que podem explicar o aumento da ureia sérica e do azoto ureico. Por outro lado, se a causa for renal, podemos considerar que um aumento da ureia, não acompanhado pelo aumento da creatinina possa ser o resultado de uma urémia pré-renal e, para ser confirmado, seria necessário determinar a taxa de filtração glomerular<sup>19</sup>.

Assim, vários fatores podem culminar na situação apresentada na **Figura 9**, isto é, num aumento isolado da ureia sérica. Por isso, são necessários outros elementos para uma correta interpretação dos resultados, como a concentração da creatinina e a sua *clearance*.

Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
Gluc	94		mg / dL	74	106
Ureia	53	H	mg / dL	17	43
Creat	0.78		mg / dL	0.66	1.25
Ac.Ur	6.9		mg / dL	2.6	7.2
Az.Ur	24.8	H	mg / dL	7.9	20.1
GOT	21		U / L	3	35
GPT	20		U / L	3	45
GGT	112	H	U / L	5	55

**Figura 9.** Urémia (Fonte: LACFFUC).

### b) Creatinina

Da desidratação não-enzimática da creatina e da fosfocreatina resulta a creatinina, um produto de degradação que facilmente é eliminado através da urina. Como a maioria da creatinina é produzida no músculo esquelético, os seus níveis séricos e, conseqüentemente, urinários são apenas proporcionais à massa muscular, não sendo influenciados pela dieta. No entanto, na interpretação dos resultados laboratoriais, tem de haver uma distinção entre os valores do sexo masculino e feminino, pois dado que a massa muscular dos homens é mais elevada que a das mulheres, a sua creatinina sérica também irá ser superior<sup>21</sup>.

Tal como a ureia, a creatinina é livremente filtrada no glomérulo renal, com a diferença de não ser reabsorvida nos túbulos renais. Apesar de não ser tão sensível como a ureia, é um importante marcador da função glomerular, aumentando quando esta se encontra comprometida.

### ***b1) Clearance da Creatinina***

Como a taxa de excreção da creatinina não apresenta grande variação diária e não é influenciada pela dieta, a não ser que haja uma grande lesão muscular ou alteração da função renal, esta pode ser usada como marcador da taxa de filtração glomerular (TFG), através do cálculo da sua clearance. Apesar de não ser ideal, a clearance da creatinina, isto é, o volume de plasma do qual esta substância é completamente depurado pelo rim, por unidade de tempo, é a mais utilizada para avaliar a TFG e, assim, monitorizar se o processo de eliminação renal está a ocorrer adequadamente.

Caso haja uma lesão, seja ela pré-renal, renal ou pós-renal, este valor vai diminuir e os produtos de degradação que deveriam ser eliminados, passam a acumular na corrente sanguínea. Para além disso, reflete a extensão e a gravidade dessa lesão, sendo estas inversamente proporcionais à TFG<sup>22</sup>.

Para tal, paralelamente ao valor da creatinina sérica, precisamos de fazer o seu doseamento no volume total de urina de 24h (ou a outro tempo determinado) para aplicar a fórmula seguinte. Deve-se ter em consideração que, como uma pequena quantidade ainda pode ser secretada pelos túbulos renais, poderá haver uma sobrestimação da TFG.

#### ***Clearance da Creatinina***

$$Cl Cr (mg/24h) = \frac{[Creatinina\ urina]}{[Creatinina\ soro]} \times Diurese$$

Apesar de mais correta, a determinação por esta via não era muito pedida no LACFFUC, pois envolve a recolha da urina de 24h, o que não é prático. Através da utilização da seguinte fórmula - a fórmula de Cockcroft-Gault -, a TFG é estimada apenas com base na creatinina sérica e de dados adicionais como a idade, peso e sexo. Como se considera que a massa muscular das mulheres é, em média, 15% inferior à dos homens, o valor da *clearance* da creatinina tem de ser multiplicado por 0,85 no sexo feminino.

#### ***Fórmula de Cockcroft – Gault***

$$Cl Cr estimada (mL/min) = \frac{[140 - idade (anos)] \times peso (Kg)}{72 \times [Cr soro (mg/dL)]} \times [0,85 (se mulher)]$$

Se considerarmos que o valor da creatinina sérica ( $Cr = 0,78$  mg/dL) da **Figura 9**, da página 28, pertence a uma mulher, de 50 anos, com 65 Kg, a *clearance* da creatinina daria o seguinte valor:

$$Cl\ Cr\ estimada = \frac{[140 - 50] \times 65}{72 \times 0,78} \times 0,85 = 88,54\ mL/min$$

Este valor evidencia uma ligeira diminuição da TFG, pois é inferior a 90mL/min, o que indica uma ligeira lesão renal sem comprometimento da sua função, o que suporta a hipótese de urémia pré-renal.

### 3.1.2. Ácido Úrico

Da oxidação das purinas, precursores das bases que entram na síntese dos ácidos nucleicos, resulta o ácido úrico que, tal como os compostos anteriores, é livremente filtrado, apesar de também poder ser reabsorvido e secretado nos túbulos renais.

Um aumento isolado da sua concentração sérica, ou seja, com a ureia e creatinina dentro dos valores normais, está associado a uma hiperuricémia. Em alguns indivíduos com predisposição genética, o ácido úrico em excesso pode precipitar nos túbulos renais, formando cálculos que obstruem a passagem da urina, e nas articulações, desencadeando uma patologia designada por gota<sup>23</sup>.

No entanto, se o seu valor se encontrar elevado, juntamente com a ureia e/ou creatinina, pode significar uma disfunção renal que deve ser investigada.

### 3.1.3. Microalbuminúria

De modo a averiguar se o rim está a cumprir a sua função de conservação das proteínas sanguíneas, por forma a manter a pressão oncótica, torna-se importante saber se a função glomerular está intacta ou se, pelo contrário, há perda de proteínas pela urina.

Há sempre proteínas de baixo peso molecular a serem filtradas que são depois reabsorvidas pelas células tubulares renais, enquanto outras são produzidas pelas células tubulares distais, como a de Tamm-Horsfall, e aparecem na urina sem qualquer significado patológico. No entanto, de todas as proteínas produzidas, a que vai ser usada como biomarcador de previsão de alterações glomerulares será a albumina, mais vulgarmente

designada por microalbuminúria (MAU). Como esta proteína tem um baixo peso molecular e é ligeiramente maior que o poro dos capilares glomerulares, qualquer alteração da sua permeabilidade possibilita a filtração da albumina e sua eliminação urinária<sup>19</sup>.

A avaliação da MAU não se trata mais do que a deteção de pequenas quantidades de albumina na urina por métodos mais sensíveis que aqueles usados para a sua determinação sérica. No LACFFUC, esta análise é frequentemente efetuada na monitorização da função renal de doentes diabéticos, dado o elevado risco de complicações vasculares, mas também de doentes cuja terapêutica inclui fármacos nefrotóxicos<sup>24</sup>.

Para se poder interpretar corretamente o seu valor precisamos saber o volume de urina excretada na urina das 24h, pois o aparelho apenas fornece o valor da MAU por litro de urina. Como demonstrado na **Figura 10**, a partir do valor do equipamento (MAU = 4,1 mg/L) e da diurese das 24h (1,3 L), por simples cálculo ( $4,1 \text{ mg/L} \times 1,3\text{L}$ ), obtemos o valor da MAU diária.

Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais
MAU	4.1		mg / L	0.5 19.0

**Figura 10.** Valor da MAU em mg/L, obtida pelo equipamento laboratorial (Fonte: LACFFUC).

Neste caso, com o valor de 5,33mg/dia, nem se pode considerar que haja microalbuminúria, pois a sua excreção diária é inferior a 30mg/dia. Neste doente, o risco de complicações renais encontra-se reduzido.

### **3.2. Avaliação da Função Tubular**

No LACFFUC, poucos são os testes realizados para a avaliação da função tubular, ficando reduzidos à determinação da densidade e do pH urinários através das tiras-reagente.

#### **a) Densidade Urinária**

Permite avaliar se o rim tem a capacidade de concentrar a urina e conservar a água, pois só o consegue fazer estando o rim funcional e com perfusão adequada. Portanto, as urinas hipostenúricas são um sinal de alerta, pois podem significar um processo patológico subjacente que estará a comprometer a função tubular renal e que deverá ser avaliado. Todavia, outras causas podem ser responsáveis pela diminuição da densidade urinária tais como a poliúria, a toma de diuréticos ou o aumento da diurese no caso da Diabetes, quer seja ela *mellitus* ou *insipidus*. Para distinguir se a causa será de origem tubular, o utente

deverá realizar o teste de concentração da urina, no qual a densidade urinária avaliada ao fim de 24h após restrição hídrica e de certos tipos de alimentos se manterá inalterada.

#### b) pH

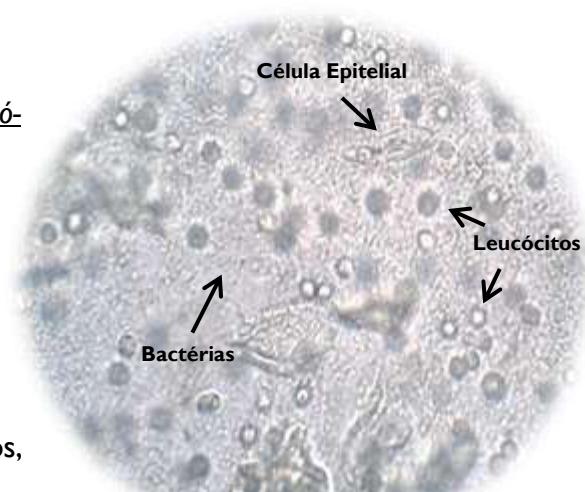
O pH da urina geralmente é ácido, resultante da eliminação do excesso de hidrogênio que é produzido diariamente nos vários processos metabólicos, através das células tubulares renais e ducto coletor. Um aumento do pH, tendo em conta toda a situação clínica do doente, pode ser sugestiva de alterações na secreção do hidrogênio nos túbulos renais. No entanto, um aumento ou diminuição não traz grande valor de diagnóstico, pois são muitas as variáveis que afetam este parâmetro<sup>19</sup>.

### 3.3. Sedimento Urinário

A análise do sedimento urinário permite comprovar algumas das indicações dadas pelas tiras-reagentes no que diz respeito à presença de leucócitos, eritrócitos e proteínas. Neste último caso, quando há proteinúria significativa, a presença de cilindros, na sua maioria hialinos, pode ser o resultado de lesão glomerular. Quanto mais cilindros existirem, maior será a extensão da lesão renal e mais nefrônios estarão envolvidos<sup>25</sup>.

Contudo, o sedimento urinário também permite obter novas informações que podem ser indicativas de danos renais. Por exemplo, é comum a urina apresentar células epiteliais, como resultado do *turnover* celular do trato urinário inferior mas se for observada a existência de células epiteliais tubulares renais, células pequenas e redondas, de núcleo central, devem também ser reportadas, pois são indicativas de lesões no trato urinário superior. O mesmo acontece quando se visualizam cristais de certos aminoácidos, pois pode ser indicativo de que eles não estão a ser reabsorvidos nas células tubulares renais onde acabam por precipitar, aparecendo na urina<sup>19</sup>.

Já se forem encontradas bactérias e leucócitos em grande quantidade, uma infecção urinária estar-se-á a desenvolver, como ilustrada na **Figura 11**. A maioria das infecções urinárias resulta de cistites, mas se não for devidamente tratada, as bactérias poderão ascender e danificar os nefrônios, comprometendo a função renal.



**Figura 11.** Infecção urinária (Fotografia: LACFFUC).

#### 4. Avaliação da Função Hepática

O fígado desempenha funções essenciais no organismo, participando na maioria dos processos metabólicos que envolvem os hidratos de carbono, proteínas, lípidos e lipoproteínas, e armazenando alguns produtos desse metabolismo assim como outros compostos provenientes da dieta, tal como o ferro e algumas vitaminas. Temos também de destacar a sua contribuição na síntese da maioria das proteínas plasmáticas, que entram na corrente sanguínea via veia hepática, e como o grande responsável pela destoxificação de xenobióticos, eliminados através do sistema biliar. Outros produtos endógenos também por ele excretados incluem os sais biliares, que facilitam a absorção dos lípidos e de vitaminas lipossolúveis no intestino delgado, e a bilirrubina, um produto que resulta do catabolismo do grupo Heme após a destruição dos eritrócitos no sistema reticulo-endotelial<sup>26</sup>.

Dada a sua importância e considerando que a maioria das doenças hepáticas permanece assintomática até este órgão estar gravemente lesado, é necessário que esta função seja monitorizada. No LACFFUC, as amostras que provinham da UA tomavam especial atenção, pois como é no fígado que ocorre o metabolismo do etanol, é também nele que primeiro se manifestam as consequências nefastas que advêm do seu consumo excessivo, que serão abordadas com maior detalhe mais adiante, no **Caso Clínico I**.

Para procedermos a esta monitorização, baseamo-nos em marcadores que nos orientam para a origem de uma possível lesão, diferenciando se é a nível hepatocelular, afetando a capacidade funcional dos hepatócitos, ou a nível dos canalículos biliares, alterando o perfil de excreção da bilirrubina. Assim, o diagnóstico de doença hepática resulta da interpretação conjunta de todos estes parâmetros.

##### 4.1. Marcadores de lesão hepatocelular

Visto que muitos dos processos metabólicos hepáticos envolve enzimas, um aumento da sua atividade sérica refletirá uma lesão da membrana dos hepatócitos, o que se revela útil na avaliação e monitorização de uma doença hepática. Quer a GOT (glutamato-oxaloacetato transaminase) quer a GPT (glutamato-piruvato transaminase), designadas genericamente por transaminases, correspondem a duas enzimas que fazem parte das células parenquimatosas hepáticas em grande quantidade, úteis como marcadores de lesão hepatocelular dado que a sua atividade sérica aumenta rapidamente quando uma situação destas se verifica.



#### 4.1.1. GPT

No LACFFUC ainda é utilizada a designação antiga GPT, apesar desta enzima ser atualmente mais conhecida por alanina aminotransferase ou ALT, por catalisar a transferência de um grupo amina da alanina para o  $\alpha$ -cetoglutarato, originando piruvato, substrato da gluconeogénese. Independentemente da sua atividade sérica poder estar ligeiramente aumentada após lesão renal ou dos músculos cardíaco e esquelético, os valores séricos de GPT refletem sobretudo uma necrose hepatocelular, pois é nos hepatócitos que se encontra em maior concentração<sup>20</sup>. Contudo, para uma correta interpretação dos resultados, tem de ter em consideração a atividade sérica da GOT.

#### 4.1.2. GOT

Ao contrário da enzima anterior, a GOT revela-se um marcador mais sensível de uma lesão hepatocelular, pois a sua atividade citoplasmática hepática é cerca do dobro da GPT. Por isso, a GOT é a primeira a elevar-se poucas horas após

Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
Gluc	78		mg / dL	74	106
Creat	0.97		mg / dL	0.66	1.25
GOT	41	H	U / L	3	35
GPT	29		U / L	3	45

Figura 12. Aumento isolada GOT (Fonte: LACFFUC).

a ocorrência dessa lesão. Na **Figura 12** observamos um aumento isolado da GOT, o que poderá ser compatível com uma lesão hepatocelular inicial. No entanto, esta situação pode até nem estar relacionada com o fígado mas sim refletir uma lesão muscular esquelética ou cardíaca. De facto, a GOT também está presente nesses tecidos em quantidades semelhantes à dos hepatócitos, onde catalisa a reação inversa à que ocorre no fígado, com a transferência de um grupo amina do oxaloacetato para o aspartato, iniciando a *pool* de aminoácidos para a construção de tecido muscular<sup>26</sup>. Além disso, esta situação ainda podia ser devido a uma hemólise ligeira. Para as distinguir, poder-se-ia fazer o doseamento da creatinina cinase (CK), cujo aumento está relacionado com lesão muscular.

Uma vez excluída a causa extra-hepática, uma ferramenta que nos ajuda na distinção da etiologia da necrose hepatocelular é o Quociente de De Ritis, isto é, a divisão entre a atividade da GOT e da GPT. Esta razão é geralmente inferior a 1 em hepatites virais agudas, pois, apesar de a GOT ser a primeira a aumentar na circulação, ao fim de 24 a 48h, a GPT ultrapassa-a ao ser eliminada mais lentamente dado o seu tempo de semi-vida ( $t_{1/2}$ ) de 36h ser superior às 18h da GOT. Há certas situações em que o quociente GOT/GPT é superior a 1, nomeadamente quando envolve a mitocôndria em resultado da necrose extensiva dos hepatócitos, da qual se liberta a GOT mitocondrial, cujo  $t_{1/2}$  é de 87h, maior que o da GPT. São exemplo a hepatite alcoólica, a hepatite fulminante, a cirrose e neoplasias hepáticas<sup>27</sup>.

## **4.2. Marcadores de lesão canalicular**

À semelhança das transaminases, os marcadores enzimáticos de lesão canalicular - a fosfatase alcalina (ALP) e a  $\gamma$ -glutamil transferase (GGT) -, por não se localizarem exclusivamente nas membranas dos canaliculos e canais biliares, precisam ser interpretados em conjunto. Um valor elevado de ambas as enzimas muito provavelmente será indicativo de uma obstrução à passagem da bilirrubina para o intestino delgado, que irá aumentar no soro.

### **4.2.1. ALP**

Apesar de a sua função ainda não estar completamente elucidada, pensa-se que a ALP hepática seja responsável pela desfosforilação, a um pH alcalino, da fosforilcolina a colina, por forma a que esta seja incorporada na biliar<sup>28</sup>.

Quando há uma obstrução no sistema biliar, seja ela intra ou pós-hepática, os sais biliares, por não conseguirem ser excretados, acabam por ficar retidos e vão solubilizar não só a membrana canalicular, libertando a ALP, mas também a membrana celular dos hepatócitos. Assim, facilmente se compreende que tanto a ALP como as transaminases aumentem na circulação sanguínea, sendo o aumento destas últimas sempre inferior ao dos marcadores de lesão canalicular, e que, quanto maior for o grau de colestase, maior o valor sérico destas enzimas. Apesar da sua ampla distribuição por vários tecidos do organismo, nomeadamente, no tecido ósseo, renal, intestinal e, inclusive, placentário, a atividade sérica da ALP tem maioritariamente origem hepática e óssea<sup>29</sup>. Portanto, é necessário um marcador adicional, como a GGT, para diferenciar se o seu aumento é de causa hepatobiliar ou osteogénica.

### **4.2.2. GGT**

Também ela presente em vários tecidos por forma a permitir o transporte transmembranar de aminoácidos e péptidos, a atividade sérica da GGT é maioritariamente de origem hepática.

Caso a atividade sérica de ambas as enzimas, GGT e a ALP, esteja elevada, uma lesão a nível biliar é o cenário mais provável mas caso haja apenas um aumento isolado da ALP, deve ser considerada uma origem extra-hepática, que tem de ser explorada consoante o contexto clínico do utente. Por outro lado, um aumento da GGT não acompanhado pela ALP poderá ser um marcador do consumo excessivo de álcool, uma vez que o etanol induz a transcrição da GGT hepática microssómica, que acaba por se elevar na circulação sanguínea de 60 a 70% dos alcoólicos crónicos<sup>30</sup>.

### 4.2.3. Bilirrubina

O padrão de excreção da bilirrubina é alterado sempre que se verifica uma lesão no sistema hepatobiliar que impeça a sua normal conjugação nos hepatócitos e a sua eliminação na bÍlis, afetando este fluxo unidirecional. Os valores séricos da bilirrubina total e das suas partes individuais, a conjugada e a não conjugada, assim como a bilirrubina e o urobilinogénio urinários auxiliam-nos na diferenciação da causa dessa alteração.

Uma hiperbilirrubinémia de origem pré-hepática, geralmente devido a hemólise, e de origem hepática, por alteração no transporte ou na conjugação da bilirrubina nos hepatócitos, são caracterizadas pelo grande aumento sérico da bilirrubina indireta em relação à bilirrubina direta, a qual pode estar em níveis normais ou inclusive ligeiramente aumentados, caso a sua clearance hepática seja inferior à taxa de conjugação.

A forma de as distinguir seria pelas transaminases, que estariam aumentadas numa lesão hepatocelular. Para além do soro, informações adicionais poderiam ser obtidas em amostras de urina através da determinação da bilirrubina e urobilinogénio urinários pelas tiras-reagente. De facto, a bilirrubina é metabolizada a urobilinogénio no intestino, sendo uma parte reabsorvida pela veia-porta hepática, entrando assim na circulação sanguínea e acabando por ser filtrada nos rins. Considerando que não se trata de uma doença crónica, ambas as situações poderiam apresentar positividade para o urobilinogénio urinário, pois este processo continua a acontecer. Contudo, enquanto na hiperbilirrubinémia de origem pré-hepática a bilirrubina urinária seria negativa, pois a maioria da bilirrubina circulante é a indireta, que por ser lipossolúvel e estar ligada à albumina, não consegue ser filtrada no glomérulo renal, já se a causa for de origem hepática, verificar-se-ia o oposto, o que está ilustrado na **Figura 13**<sup>26</sup>.



**Figura 13.** Tiras-reagente positivas para a bilirrubina e urobilinogénio (Fotografia: LACFFUC).

Se a causa for pós-hepática, por defeito nos transportadores da bilirrubina conjugada para os ductos dos canalículos biliares ou por obstrução à sua passagem para o sistema biliar, ela irá registar um aumento significativo no sangue em relação à bilirrubina indireta. Como consequência, aparecerá na urina, pois esta já é passível de ser filtrada, mas como a bilirrubina não segue o seu percurso para o intestino delgado, não se forma urobilinogénio, que não é reabsorvido, logo, não será detetado na urina pelas tiras-reagente<sup>31</sup>. E, claro, a atividade sérica da ALP e da GGT irá aumentar.

Apesar destes marcadores serem os mais utilizados por rotina na monitorização da função hepática, há outros que são usados para avaliar a gravidade da lesão hepatocelular, relacionados com a capacidade de síntese hepática e com os produtos do metabolismo.

### **4.3. Marcadores de Síntese Hepática**

É necessário que os hepatócitos se encontrem funcionais para sintetizarem a maioria das proteínas plasmáticas, à exceção das imunoglobulinas. Logo, quando a sua capacidade de síntese começa a ser afetada, é sinal de uma grave lesão com extensa destruição do tecido hepático, envolvendo mais de 80% desse órgão<sup>26</sup>.

#### **4.3.1. Proteínas Plasmáticas Totais**

Devido à elevada capacidade de regeneração hepática e ao prolongado tempo de semi-vida de algumas destas proteínas, a diminuição da concentração sérica das proteínas totais só é verificada num estadio mais avançado da doença hepatocelular.

##### **a) Albumina**

Dentro das proteínas totais, a mais afetada pela diminuição da função hepática é a albumina, a proteína plasmática mais abundante, por ser produzida em maior quantidade pelo fígado. A sua concentração sérica correlaciona-se com a gravidade da lesão hepática, o que era evidente em alguns doentes alcoólicos crónicos da UA, pois muito provavelmente já teriam um fígado cirrótico<sup>32</sup>.

#### **4.3.2. Proteinograma**

Apesar de não ser requisitado com muita frequência, a separação eletroforética das proteínas plasmáticas fornece uma visão geral do equilíbrio entre as várias proteínas plasmáticas. Uma forma para avaliar esse equilíbrio entre a albumina e as globulinas é através da razão albumina/globulina ou “ratio A/G”, que deve ser superior ou igual a 1, o que não acontece na cirrose. Na **Figura 14**, podemos observar um proteinograma onde são evidenciadas cinco bandas diferentes correspondentes à albumina,  $\alpha 1$ -,  $\alpha 2$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -globulinas. Verificamos uma ligeira diminuição da proporção da albumina em relação às proteínas plasmáticas totais mas, neste caso, não está relacionado com a função hepática mas sim com o aumento das globulinas, mais especificamente da fração da  $\gamma$ -globulina, na sequência de uma doença autoimune. Apesar de ser uma proteína de fase aguda negativa, a sua síntese também está diminuída em processos inflamatórios crónicos. Já na cirrose, para além da albumina reduzida, verificar-se-ia uma fração  $\gamma$  policlonal sem depressão entre as  $\beta$  e as  $\gamma$ -globulinas<sup>33</sup>.

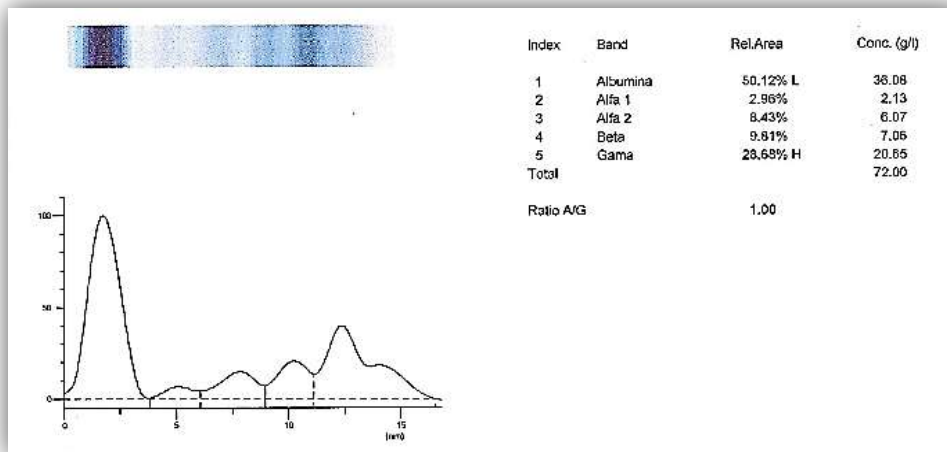


Figura 14. Proteinograma revelando alteração na albumina e nas  $\gamma$ -globulinas (Fonte: LACFFUC).

### 4.3.3. Tempo de Pró-Trombina

Também é muito comum o tempo de pró-trombina se encontrar elevado na doença hepática grave, devido à diminuição da síntese dos fatores de coagulação, de que resulta o aumento da propensão para hemorragias. Esta situação é agravada pela diminuição da produção de sais biliares que permitem a absorção intestinal da vitamina K, essencial à síntese hepática dos fatores II, VII, IX e X da cascata de coagulação<sup>31</sup>.

## 4.4. Marcadores de Alterações no Metabolismo de:

### 4.4.1. Ureia

Quando há uma extensa lesão no fígado, a conversão da amónia em ureia começa a ficar comprometida. Enquanto a concentração de ureia diminui, a de amónia aumenta e, se atingir o Sistema Nervoso Central, poderá originar encefalopatia hepática<sup>31</sup>.

### 4.4.2. Hidratos de Carbono

Numa situação de jejum, o fígado é o principal órgão responsável pela manutenção da glicose plasmática em níveis controlados, através da estimulação da glicogenólise e da gluconeogénese. No entanto, uma falência hepática pode comprometer estas funções, resultando numa hipoglicémia grave que deverá ser revertida de imediato<sup>26</sup>.

### 4.4.3. Lípidos

O fígado é a maior fonte de colesterol circulante, porque nele são produzidas todas as lipoproteínas, à exceção dos *quilomicrons*, mas também é o grande responsável pela sua remoção da circulação, metabolizando-os. Numa falência hepática crónica, há uma diminuição do CT e C-HDL, por diminuição da sua síntese, e um aumento do C-LDL e TAG contidos nas VLDL, por diminuição do seu catabolismo<sup>26</sup>.

## 5. Avaliação da Função Pancreática

Quando nos referimos à função pancreática temos de considerar as suas duas componentes, a exócrina e a endócrina. Enquanto a função exócrina envolve a síntese das enzimas digestivas, constituintes do suco pancreático por forma a auxiliar a degradação e absorção das proteínas, lípidos e hidratos de carbono da dieta, a endócrina está mais relacionada com a produção de hormonas que regulam a homeostase da glucose sanguínea e que controlam a função do pâncreas exócrino.

A Diabetes *mellitus*, a disfunção mais comum do pâncreas endócrino, será abordada a seguir, no capítulo referente aos distúrbios hormonais. Quanto à parte exócrina, o doseamento de algumas enzimas permite detetar lesões pancreáticas, e, no LACFFUC, a sua avaliação era feita mediante determinação da amilase e da lipase séricas.

### 5.1. Amilase

Dado que a razão entre a atividade da amilase do suco pancreático e a do plasma é de 10000:1, qualquer lesão no pâncreas faz aumentar a sua atividade sérica em questão de horas, tratando-se, por isso, de um biomarcador pancreático muito sensível. Todavia, não é específico deste órgão e a sua interpretação deve ser feita criteriosamente.

Por exemplo, o diagnóstico de pancreatite só deve ser feito quando o valor da amilase sérica for 3 a 5 vezes superior aos valores de referência, juntamente com os sintomas clínicos<sup>34</sup>. De facto, a amilase tem sido o parâmetro mais usado no diagnóstico desta patologia, chegando a atingir valores 10 a 20 vezes o valor de referência, o que não se correlaciona com a sua gravidade. No entanto, estes valores voltam ao normal ao fim de 3 a 5 dias, resultante da sua rápida eliminação renal<sup>35</sup>.

### 5.2. Lipase

Já a lipase é um marcador mais específico do pâncreas, aumentado gradualmente ao longo dos 5 a 7 dias após a lesão. Como se mantém elevada durante mais tempo, é usada para confirmar uma situação de pancreatite, caso a amilase já tenha voltado aos seus valores normais<sup>34</sup>.

No LACFFUC, rara foi a amostra em que se determinou quer a amilase quer a lipase, daí não ter explorado mais esta função.

## 6. Avaliação de disfunções hormonais

Considerando que as patologias endócrinas mais comuns no LACFFUC e a nível nacional estão relacionadas com a Diabetes *mellitus* e com a função tiroideia, estas serão destacadas neste relatório.

### 6.1. Diabetes mellitus

Ao contrário da pancreatite, a Diabetes *mellitus* (DM) é das patologias mais observada na rotina diária do LACFFUC, o que é explicado cerca de um terço da população portuguesa ser diabético ou ter elevada probabilidade de o ser no futuro<sup>36</sup>. O contributo do laboratório clínico ao nível da DM relaciona-se quer com o seu diagnóstico quer com a sua monitorização, fundamentais para que o clínico possa proceder às intervenções necessárias para reduzir a morbilidade e mortalidade associadas a esta patologia.

#### 6.1.1. Diagnóstico da DM

Esta disfunção do pâncreas endócrino caracteriza-se por uma hiperglicémia crónica devido a uma ausência na produção de insulina (no caso da DM do tipo 1) ou a uma resistência da sua utilização pelos tecidos periféricos (no caso da DM do tipo 2). Por isso, o critério fundamental para o seu diagnóstico consiste no doseamento da glucose sérica.

##### a) Glicémia

Segundo a Norma da Direção-Geral de Saúde (DGS)<sup>37</sup>, o diagnóstico de DM é feito quando se verifica um dos seguintes critérios:

- ❖ Glicémia em jejum  $\geq 126\text{mg/dL}$ ;
- ❖ Sintomas clássicos da Diabetes e Glicémia ocasional  $\geq 200\text{mg/dL}$ ;
- ❖ Glicémia  $\geq 200\text{mg/dL}$  às 2h, na Prova de Tolerância Oral à Glucose;
- ❖ HbA1c  $\geq 6,5\%$ .

Destes quatro parâmetros, o mais frequentemente usado no diagnóstico de DM é a glicémia após um jejum de, pelo menos, 8h, por ser muito requisitado nas análises laboratoriais de rotina e, assim, mais prática a sua deteção. Porém, se este valor for superior ou igual a  $110\text{mg/dL}$  mas inferior a  $126\text{mg/dL}$ , apesar de não terem sido atingidos os níveis para serem considerados diabéticos, estes indivíduos encontram-se com risco acrescido para o seu desenvolvimento. Assim, sempre que esta situação de anomalia da glicémia em jejum seja verificada, é recomendada a realização da PTOG às 0h e às 2h por forma a diagnosticar a DM em algumas pessoas que, só pelos valores da glicémia em jejum, não seria possível<sup>38</sup>.

## b) Prova de Tolerância Oral à Glucose

A Prova de Tolerância Oral à Glucose (PTOG) consiste na ingestão por parte do utente de uma solução com 75g glucose em menos de 5 minutos, com colheita de sangue venoso imediatamente antes e 2h após a sua administração, para determinação da glicémia<sup>39</sup>. Por forma a diminuir alguns interferentes que possam alterar os valores obtidos, é importante a realização de um jejum de 8h e, durante a prova, não ingerir qualquer tipo de alimento nem fazer atividades físicas mais intensas. Se às 2h, a glicémia for igual ou superior a 200mg/dL, esse indivíduo é reclassificado como diabético mas se estiver entre 140 e os 200mg/dL, considera-se apenas que tem uma tolerância diminuída à glucose.

Por vezes, as grávidas também necessitam fazer este exame, pois, apesar de não serem diabéticas, podem desenvolver uma certa intolerância à glucose durante a gravidez designada por Diabetes Gestacional (DG), o que pode resultar em consequências nefastas para o feto. Se, durante a primeira consulta de gravidez, a glicémia em jejum for inferior a 92mg/dL terá de ser realizada a PTOG entre as 24 e as 28 semanas de gestação. No entanto, grávidas com valores superiores ou iguais a 92mg/dL mas inferiores a 126mg/dL não necessitam de a realizar, porque já lhes foi diagnosticada Diabetes Gestacional, nem as que tiverem uma glicémia em jejum maior que 126mg/dL, porque já tinham previamente DM não diagnosticada<sup>40</sup>.

Esta prova é realizada da mesma forma que a descrita anteriormente mas exige uma determinação adicional da glicémia 1h após a administração de 75g de glucose. Um exemplo de uma PTOG realizada no laboratório a uma grávida está representado na **Tabela 5**.

**Tabela 5.** PTOG às 0, 1 e 2h para diagnóstico de DG (Fonte: LACFFUC).

Tempo	Resultados da Utente					Critério de Diagnóstico de DG <sup>41</sup>
0 min	Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	Glicémia $\geq$ 92mg/dL
	Gluc	73	L	mg / dL	74 106	
60 min	Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	Glicémia $\geq$ 180mg/dL
	Gluc	148	H	mg / dL	74 106	
120 min	Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	Glicémia $\geq$ 153mg/L
	Gluc	122	H	mg / dL	74 106	

Neste caso, esta grávida não tinha Diabetes Gestacional, logo a probabilidade de no futuro vir a desenvolver DM tipo 2, também se encontrava reduzida.



### 6.1.2. Monitorização da DM

Uma vez estabelecido o diagnóstico de Diabetes, tem de haver uma monitorização, por forma a evitar a ocorrência de complicações macro e microvasculares das quais são exemplo a nefropatia, neuropatia e retinopatia. Para além da glicémia em jejum, um parâmetro muito importante a determinar é a hemoglobina glicada.

#### a) Hemoglobina glicada

Apesar de a Norma da DGS referir a hemoglobina glicada (HbA1c) como parâmetro de diagnóstico, esta é mais usada por rotina na avaliação retrospectiva do controlo glicémico de pessoas já diagnosticadas com DM.

Como resulta de uma reação lenta, não-enzimática e irreversível entre a glucose e os resíduos livres terminais da valina da hemoglobina dos eritrócitos a uma velocidade proporcional à glicémia, o grau de glicação é função da concentração de glucose a que os eritrócitos estiveram expostos durante a sua vida média. Assim, a sua concentração fornece o histórico dos níveis de glucose médios dos 90 a 120 dias precedentes ao seu doseamento, o que faz com que a periodicidade da sua determinação seja trimestral ou, caso os valores estejam dentro dos valores ideais, isto é, inferiores ou iguais a 6,5%, este controlo apenas é realizado semestralmente<sup>42</sup>.

Não sofrendo o efeito de alterações da dieta ou de exercício físico, a sua grande utilidade clínica passa pela identificação dos casos em que não foi feito um controlo rigoroso. Uma situação muito característica está ilustrada na **Figura 15**.

Id Amostra 0011 - 2/1					Id Amostra 0002 - 2/1				
Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais
Gluc	82		mg / dL	74 106	HB	17.9		g / dL	-999999.9 999999.9
Creat	0.84		mg / dL	0.66 1.25	A1C	1.0875		g / dL	-999.9999 999.9999
					HBA1C	7.7	H	%	4.0 6.2

**Figura 15.** Glicémia e HbA1c de um diabético (Fonte: LACFFUC).

Apesar do valor da glicémia em jejum, 82mg/dL, se encontrar dentro dos valores normais, podemos facilmente constatar que a HbA1c está elevada, com o valor de 7,7%. Há doentes que fazem uma dieta mais rigorosa nos dias antecedentes à realização deste tipo de análises de modo a transparecer o cumprimento rigoroso das recomendações médicas. Contudo, o valor de HbA1c expõe a constante situação de hiperglicémia que realmente ocorreu, tendo este doente elevada probabilidade de desenvolver complicações crónicas na sequência desta DM mal controlada<sup>38</sup>.

Não tão rigorosa, a análise sumária da urina também fornece indícios de um mau controlo glicémico, através da glicosúria e da cetonúria.

### b) Glicosúria

A glicose, apesar de livremente filtrada, é também reabsorvida por um sistema de transporte próprio das células tubulares renais, fazendo com que volte à circulação sanguínea e não apareça na urina. Considerando que a função e perfusão renais estão normais, quando os níveis séricos de glicose se elevam acima dos 180mg/dL, esses transportadores renais ficam saturados e não conseguem reabsorver o excesso de glicose que é eliminada na urina e detetada nas tiras-reagente<sup>41</sup>.

### c) Cetonúria

Quando o organismo não consegue usar a glucose como fonte maioritária de energia, recorre a fontes alternativas, como os ácidos gordos armazenados no tecido adiposo. Da sua  $\beta$ -oxidação hepática formam-se compostos fortemente energéticos, os corpos cetónicos acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona.

Quando a taxa de formação destes corpos cetónicos é superior à sua utilização pelos tecidos periféricos, estes começam a acumular no sangue e podem ser eliminados por via renal, originando cetonúria. Esta situação é mais frequente nos diabéticos do tipo I, porque uma diminuição da insulina promove o aumento do glucagon, hormona hipoglicemiante, que promove essa lipólise e a  $\beta$ -oxidação. Como na DM tipo 2 existe insulina, a libertação de glucagon não é tão estimulada e esta situação é atenuada<sup>43</sup>.

Apesar de a cetonúria não ser exclusiva de uma situação de diabetes, quando está presente nestes doentes, permite detetar uma DM descompensada. Exemplo disto está ilustrado na **Figura 16**. Usando a tira-reagente com todos os parâmetros normais como termo de comparação, a tira-reagente do indivíduo em causa apresenta positividade para as cetonas. Mas se repararmos bem, também há uma mudança de cor na zona das proteínas, indicativo da proteinúria, o que significa a existência de complicações renais.



Figura 16. Tiras-reagentes positivas para cetonas e proteínas (Fotografia: LACFFUC).

## **6.2. Doenças da Tiróide**

Outra função muito frequentemente avaliada no LACFFUC é a tiroideia, dado o seu grande envolvimento no controlo de vários processos metabólicos do organismo, na promoção do crescimento e desenvolvimento de vários tecidos e na estimulação da termogénese e maturação sexual<sup>44</sup>.

As hormonas que desencadeiam estas ações são a tiroxina (**T<sub>4</sub>**) e a triiodotironina (**T<sub>3</sub>**), produzidas na tiróide como resposta ao estímulo da hormona estimuladora da tiróide ou **TSH** hipofisária, que por sua vez está sob o controlo da tireotrofina ou **TRH** hipotalâmica. Este processo encontra-se muito bem controlado por mecanismos de *feedback* negativo e qualquer aumento ou diminuição das hormonas tiroideias se traduz, respetivamente, numa inibição ou estimulação da TRH e TSH, até os seus valores séricos normalizarem<sup>45</sup>.

Sempre que haja uma alteração que comprometa a manutenção deste equilíbrio, nomeadamente quando o utente apresenta um quadro clínico sugestivo de hipo ou hipertiroidismo, a função tiroideia deve ser avaliada através do doseamento da TSH e da fração livre da T<sub>4</sub>, a **FT<sub>4</sub>**. Normalmente, são as frações livres as monitorizadas, de modo a eliminar a interferência dos fatores que afetam as suas proteínas de transporte. Por isso, temos de saber interpretar os resultados obtidos a partir destes dois parâmetros, por forma a compreender a situação clínica do doente.

### **6.2.1. Hipotiroidismo**

O hipotiroidismo primário, a forma mais comum de hipotiroidismo, pode ser definido como uma deficiência na secreção das hormonas tiroideias, traduzindo-se por níveis séricos reduzidos de FT<sub>4</sub> e aumentados de TSH, devido ao *feedback* negativo. No entanto, no LACFFUC, nem sempre verifiquei esta situação.

Por vezes, a FT<sub>4</sub> ainda estava dentro dos valores de referência mas a TSH já se encontrava ligeiramente elevada, o que é sugestivo de um hipotiroidismo subclínico. Para confirmar esta hipótese, o médico deveria pedir a repetição destes parâmetros dentro de 2 a 12 semanas e, consoante o resultado obtido, faria o diagnóstico de hipotiroidismo ou hipotiroidismo subclínico, instituindo a terapêutica consoante o caso. Se a terapêutica não fosse necessária, o doente teria de aguardar 6 a 12 meses para fazer novas determinações

desses parâmetros de modo a verificar evolução ou não das concentrações dessas hormonas<sup>46</sup>.

Muitas vezes, eram também doseados os anticorpos anti-tiroideus, por forma a avaliar se o hipotiroidismo primário tinha uma causa autoimune subjacente.

#### **a) Hipotiroidismo Autoimune**

Esta causa autoimune é facilmente detetada pelo doseamento dos anticorpos anti-tireoperoxidase (ATPO), presentes em 80 a 99% dos indivíduos com hipotiroidismo autoimune. Caso a atividade da tireoperoxidase esteja comprometida, esta enzima não consegue catalisar a iodinação dos resíduos de tirosina da tireoglobulina, essencial à síntese das hormonas tiroideias<sup>44</sup>.

Os anticorpos anti-tireoglobulina (ATG), apesar de doseados em conjunto com os ATPO, pouca informação adicional acrescentam ao diagnóstico de um hipotiroidismo autoimune, estando mais relacionados com a monitorização do carcinoma diferenciado da tiróide.

### **6.2.2. Hipertiroidismo**

Trata-se de uma condição hipermetabólica resultante de uma produção excessiva de hormonas da tiróide. Se a concentração de  $FT_4$  for superior aos valores de referência e a de TSH inferior, estamos perante uma situação de hipertiroidismo primário.

À semelhança do caso descrito anteriormente, também o hipertiroidismo pode ser subclínico se a TSH se encontrar reduzida mas a  $FT_4$  normal. Todavia, neste caso, a determinação adicional da  $T_3$  traz valor ao diagnóstico de hipertiroidismo, pois não só um aumento da função tiroideia eleva o seu valor sérico mas também a elevada conversão periférica de  $T_4$  em  $T_3$ <sup>47</sup>.

Também existem casos específicos de hipertiroidismo autoimune que podem utilizar os ATPO como um dos parâmetros para o seu diagnóstico, mas esse não era o principal intuito da sua utilização.

## 7. Diversos

Os seguintes parâmetros, por se encontrarem alterados em diversas situações mas não se enquadrarem em nenhuma função em particular, foram incluídos nesta categoria à parte. Têm relevância na clínica, pois fornecem informações adicionais sobre certas alterações no organismo, devendo ser interpretados mediante o contexto clínico do utente.

### 7.1. Proteína C Reativa

Por ser produzida maioritariamente no fígado como resposta à interleucina-6 libertada na sequência de uma lesão tecidular, esta proteína de fase aguda é um dos indicadores mais sensíveis da inflamação, podendo ser detetada poucas horas após o início desse estímulo. Tem um papel importante na resposta imunitária, pois tem a capacidade de ativar a via clássica do complemento, responsável pela lise dos microrganismos invasores, ligando-se ainda a fragmentos dos tecidos danificados, permitindo a sua opsonização e eliminação da circulação. Por isso, é usada na deteção e monitorização de processos inflamatórios agudos e crónicos, quando os seus valores ultrapassam os 10mg/L<sup>48</sup>.

Nos últimos anos tem sido estudado o seu papel como um fator de risco independente da doença coronária arterial, pois sendo a aterosclerose um processo inflamatório crónico, esta proteína estará a ser sintetizada. Porém, como é produzida em quantidades inferiores às de um processo inflamatório, foi necessário o desenvolvimento de métodos mais sensíveis que a doseassem, sendo, por isso, designada por PCR de alta sensibilidade<sup>49</sup>.

### 7.2. Creatinina Cinase

A atividade da CK é maioritariamente expressa em tecidos com elevadas necessidades energéticas como o cerebral e o muscular, pois catalisa a desfosforilação reversível da fosfocreatina, um composto fortemente energético, em creatina com produção de ATP, fornecendo uma rápida mobilização da energia às ATPases<sup>50</sup>.

Sempre que haja uma destruição celular no tecido cerebral ou nos músculos esquelético e cardíaco, a sua atividade aumenta na corrente sanguínea. No entanto, a CK total não permite diferenciar o local onde esta lesão está a ocorrer. Uma forma de o identificar passa pelo doseamento das suas isoenzimas, tendo em conta os sintomas do utente. Assim, a CK-MM é mais específica de uma lesão muscular esquelética, a CK-MB de uma lesão muscular cardíaca e a CK-BB de uma lesão a nível cerebral<sup>51</sup>. No entanto, no LACFFUC, estas isoenzimas não eram determinadas nem a CK total era doseada com muita frequência.

### 7.3. Lactato Desidrogenase

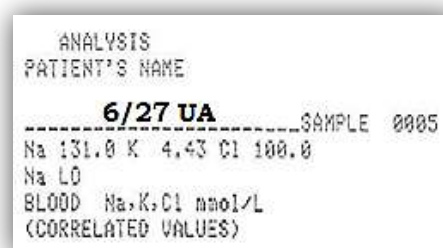
De distribuição ampla pelos vários tecidos do organismo, a lactato desidrogenase (LDH) é uma oxiredutase que participa na glicólise anaeróbia com a redução do piruvato em lactato, sempre que haja uma deficiente oxigenação destas células por forma a manter a produção de ATP<sup>52</sup>. Portanto, quando se verifica um aumento da sua atividade sérica, significa que há células a serem lesadas, o que pode ser indicativo de exercício físico intenso, isquemia cardíaca, hepatite, hemólise, sendo estas as causas mais comuns<sup>39</sup>.

Por ser um marcador inespecífico da lesão celular, a sua interpretação tem de ter em conta o contexto clínico do doente. Apesar de não determinadas no LACFFUC, as suas 5 isoenzimas poderiam orientar a origem que culminou com o seu aumento<sup>51</sup>.

### 7.4. Ionograma

A determinação laboratorial do sódio, potássio e cloretos no soro fornece indicações sobre a alteração do equilíbrio hidro-eletrolítico, devendo sempre ser interpretada em função da situação clínica do doente. Todavia, na maioria dos casos, não tínhamos acesso a essa informação, e a sua interpretação era baseada nos resultados obtidos nas restantes valências.

Por exemplo, pouca informação conhecemos acerca do utente cujo ionograma está na **Figura 17**, a não ser que provém da UA. Verifica-se hiponatrémia, pois a concentração de sódio é inferior a 135mmol/L, enquanto os restantes iões



ANALYSIS  
PATIENT'S NAME  
6/27 UA SAMPLE 0005  
Na 131.0 K 4.43 Cl 100.0  
Na LO  
BLOOD Na,K,Cl mmol/L  
(CORRELATED VALUES)

**Figura 17.** Ionograma de um alcoólico (Fonte: LACFFUC).

estão dentro dos valores de referência. Para analisar este caso, a osmolaridade do plasma deveria ser determinada para auxiliar na distinção das causas subjacentes à hiponatrémia. Para tal, seria necessário determinar as concentrações de glucose e ureia que, para além do sódio, são os principais compostos osmoticamente ativos do plasma. Como o sódio contribui em cerca de metade para esta osmolaridade, é frequente que a hiponatrémia seja hipo-osmótica, quer seja por aumento do volume extracelular que dilui o sódio aí existente quer por perda deste ião a nível renal ou extra-renal. No entanto, o sódio pode também diminuir por aumento de certos solutos no fluido extracelular, como a glucose, resultando numa hiperosmolaridade. Já se o plasma for iso-osmótico, esta situação poder-se-á tratar de uma pseudohiponatrémia, o que pode ocorrer na sequência de uma hipertrigliceridémia, comum em alcoólicos. Assim, um aumento dos TAG em circulação diminui a proporção da fase aquosa do plasma, onde está dissolvido o sódio, resultando numa falsa redução da sua concentração no sangue total<sup>53</sup>.

### **7.5. $\beta$ -hCG**

Apesar de poder ser usada como marcador tumoral, a principal utilização desta hormona no LACFFUC consistia na deteção de uma possível gravidez. Produzida pelas células sinciotrofoblásticas da placenta, a fração  $\beta$  da gonadotrofina coriónica humana ( $\beta$ -hCG) é estruturalmente semelhante à LH, substituindo-a na estimulação do corpo lúteo para produção de progesterona e estradiol, essenciais à manutenção do endométrio numa fase inicial da gravidez<sup>54</sup>.

Apesar de também poder ser detetada no soro, no período de tempo em que estive no LACFFUC, a sua presença apenas foi avaliada na urina segundo métodos imunocromatográficos, Por forma a evitar falsos negativos, era aconselhável a utilização da primeira urina da manhã, por este analito se encontrar mais concentrado.

### **7.6. Sangue Oculto nas Fezes**

Muito requisitado no *screening* de cancro coloretal, a pesquisa de sangue oculto nas fezes é frequentemente realizada em indivíduos de idade superior a 50 anos. Como o aparecimento de pequenas hemorragias intestinais é das manifestações mais precoces deste tipo de cancro, este teste revela-se numa ferramenta de rastreio muito importante com a vantagem de não ser um método invasivo, sendo assim preferível à colonoscopia numa fase inicial. No entanto, pode ser também realizada na sequência de suspeita por parte do clínico de outras lesões no trato gastrointestinal, das quais as úlceras peptídicas, a doença inflamatória intestinal e a anemia de etiologia desconhecida são exemplo.

O objetivo deste teste consiste em detetar o grupo Heme da hemoglobina presente nos eritrócitos. Visto que este sangue não é visível nas fezes, usa-se a designação “oculto”. Por isso, um dos primeiros cuidados quando se fazia esta análise consistia em observar se havia a presença de sangue vivo nas fezes, pois este sangue era um resultado de uma lesão mais a nível do reto ou ânus. Como tal, a amostra teria de ser rejeitada, pois não era esse o local onde se pretendia determinar a existência de uma lesão<sup>55</sup>. Como o sangue pode ser libertado em pequena quantidade de forma não contínua, era sempre pedido ao utente que colhesse 3 amostras de fezes em 3 dias consecutivos, para aumentar a probabilidade de deteção do sangue. Para além disso, a quantidade da amostra biológica usada no método imunocromatográfico tinha de ser aleatoriamente colhida em vários locais das fezes, por forma a ser representativa da amostra, aumentando a sensibilidade do método.

## V. CASOS CLÍNICOS

Por fim, irei apresentar alguns casos clínicos relacionados com a área de Bioquímica que considere mais relevantes. Correspondem a situações verídicas que ocorreram durante o período de tempo que estagiei no LACFFUC.

### CASO CLÍNICO I

Visto que o LACFFUC estabeleceu um protocolo com o IDT de Coimbra, de onde provinham várias amostras, poderá ser interessante analisar o perfil de um alcoólico crónico. Assim, na **Figura 18**, encontram-se os resultados do doseamento sérico de vários parâmetros bioquímicos correspondentes a um indivíduo nesta situação.

Em primeiro lugar, podemos observar que o parâmetro que se destaca é a GGT. O seu valor é tão elevado que ultrapassa o limite de linearidade da curva de calibração, dado pelo Aparelho AU 400® com a indicação “Fp”, o que significa que deixou de obedecer à Lei de Lambert-Beer. Como tal, foi necessário diluir a amostra e dosear novamente esta enzima, agora dentro da região linear da curva de calibração, para que a absorvância lida fosse proporcional à

Id Amostra 0019 - 4/10 UA				
Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais
Gluc	77		mg / dL	74 106
Ureia	8	L	mg / dL	17 43
Creat	0.79		mg / dL	0.66 1.25
Ac.Ur	3.0		mg / dL	2.6 7.2
Az.Ur	3.7	L	mg / dL	7.9 20.1
Bil T	8.8	H	mg / dL	0.3 1.2
Bil D	4.7	H	mg / dL	0.0 0.2
Bil I	4.1	H	mg / dL	0.3 1.0
GOT	242	H	U / L	3 35
GPT	55	H	U / L	3 45
ALP	222	H	U / L	30 120
GGT	3119	Fp	U / L	5 55
Coles	171		mg / dL	19 200
Trig	255	H	mg / dL	9 150
HDL	20	L	mg / dL	60 180
LDL	100.0			0.0 100.0

**Figura 18.** Perfil bioquímico de um alcoólico crónico (Fonte: LACFFUC).

sua concentração, garantindo um resultado mais exato. Este aumento exorbitante da sua atividade sérica, 57 vezes o valor de referência superior, e desproporcional à atividade da ALP, deriva sobretudo da indução, por parte do etanol, da transcrição da GGT microsómica nos hepatócitos. Tendo em conta que a GGT entra num dos passos iniciais da síntese da glutatona, um composto antioxidante que se conjuga com o etanol e seus metabolitos para facilitar a sua excreção do organismo, esta condição revela-se muito importante na reposição da glutatona eliminada<sup>31</sup>.



Apesar de mais moderado, verificamos também um aumento das transaminases, maioritariamente da GOT, que se correlaciona com o *stress* oxidativo que é gerado pelo metabolismo hepático do etanol. Esta substância pode ser oxidada a acetaldeído por várias vias mas, quando se faz uma ingestão excessiva e prolongada de álcool, a isoforma CYP2E1 do citocromo P450 microsomal é fortemente estimulada. A reação envolve o consumo de oxigénio com conseqüente formação das suas espécies reativas (ROS) que estão envolvidas em danos mitocondriais e na peroxidação lipídica da membrana celular, resultando na perda da sua integridade. Por isso, a atividade sérica da GOT é ligeiramente superior à da GPT, não só porque foi libertada a GOT mitocondrial, logo mais GOT estará na corrente sanguínea, mas também porque o seu tempo de semi-vida é de 87h, superior ao da GPT. Daí que nesta situação o quociente de *De Ritis* seja normalmente superior a 2<sup>56</sup>.

Na seqüência da lesão dos hepatócitos, é normal os tecidos circunvizinhos, como os canalículos biliares, ficarem afetados, o que altera o perfil de excreção da bilirrubina. Como podemos verificar, a bilirrubina indireta está significativamente elevada mas a direta também, o que significa que os hepatócitos ainda não perderam a capacidade de a conjugar, apenas não consegue ser excretada de forma adequada. Como a bilirrubina total é superior a 3mg/dL, o doente muito provavelmente estará icterico, pois a albumina não é suficiente para complexar toda a bilirrubina indireta circulante, que acaba por se acumular nos tecidos e conferir uma tonalidade amarelada à pele e mucosas<sup>57</sup>.

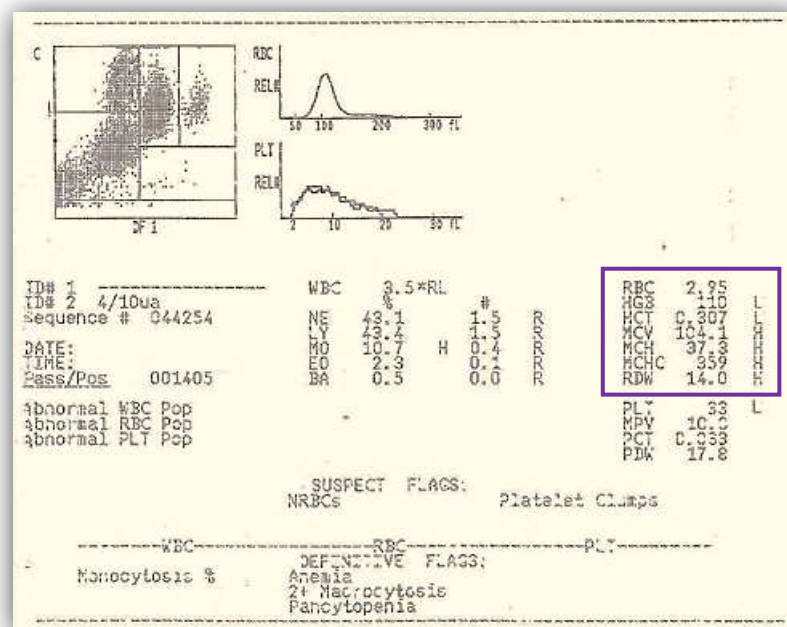
Por outro lado, os níveis de ureia sérica e de azoto ureico já se encontram reduzidos, refletindo um grau avançado de lesão hepática, pois o ciclo da ureia começa a estar comprometido, conduzindo, conseqüentemente, a um aumento sérico da amónia. Numa situação destas, a amonémia deveria ser controlada, visto poder originar encefalopatia hepática, mas no LACFFUC esta determinação não é feita.

Apesar de não terem sido determinadas e, dado o grau avançado de hepatopatia, seria expectável que as proteínas plasmáticas totais, em especial a albumina, estivessem diminuídas, em virtude de a capacidade de síntese proteica começar a ficar afetada. Na mesma situação se incluem o fibrinogénio e outros fatores de coagulação hepáticos que, por verem a sua síntese diminuída, originarão tempos de coagulação (PTT e TTPa) mais elevados que o normal<sup>29</sup>.

Outra observação que podemos retirar dos resultados do doente passa pela elevação dos TAG. Ora, sendo o etanol oxidado a acetaldeído e este a acetato, é normal que se

formem espécies redutoras ao longo destas reações, de que é exemplo o NADH. No jejum, a  $\beta$ -oxidação dos ácidos gordos, que se deveria processar na mitocôndria dos hepatócitos, está inibida pelo aumento considerável do NADH formado na oxidação do acetaldeído, gerando uma supressão da atividade das desidrogenases mitocondriais envolvidas neste processo. Simultaneamente a lipogénese está a ser estimulada, pois o acetato formado é convertido em acetil-CoA, que é usado na síntese endógena de TAG. Estes lípidos, ao serem acumulados no fígado, originam esteatose hepática, vulgarmente designada por “fígado gordo”, confirmada por biópsia ou ecografia abdominal. Quando há necrose dos hepatócitos, os TAG aí armazenados são libertados na circulação sanguínea e a sua concentração aumenta<sup>58</sup>.

Esses lípidos podem ser depois incorporados na membrana dos eritrócitos circulantes, que aumentam de tamanho, como se demonstra pelo Volume Corpuscular Médio (VCM) superior a 96fL no hemograma deste doente, na **Figura 19**. Para além de macrocítica, esta anemia é também ligeiramente hiperocrômica, pois a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) é superior a 35pg, o que poderá ser uma consequência do aumento, não do conteúdo em hemoglobina, mas da espessura da membrana do eritrócito<sup>59</sup>.



**Figura 19.** Hemograma de um alcoólico crônico (Fonte: LACFFUC).

De uma forma geral, verifica-se uma pancitopenia, com anemia, neutropenia e ainda trombocitopenia acentuada, possivelmente relacionadas com os efeitos hematotóxicos exercidos pelo acetaldeído ao atingir a medula óssea<sup>60</sup>. Estamos, portanto, na presença de uma **Hepatite Alcoólica** na sequência de um consumo excessivo e prolongado de álcool, que já estará a avançar para uma cirrose alcoólica, dada a diminuição da função hepática.

## CASO CLÍNICO 2

Uma amostra de sangue venoso proveniente da UA, pertencente a um indivíduo do sexo masculino, vinha acompanhada por uma requisição médica para a determinação de vários parâmetros bioquímicos e imunológicos. Os resultados bioquímicos estão representados na **Figura 20**.

Começamos por verificar que todos os parâmetros se encontram dentro dos valores de referência, à exceção dos hepáticos. Sendo este indivíduo alcoólico, é normal que a GGT sérica esteja aumentada, como foi explicado anteriormente. Contudo, ao contrário do caso anterior, não é este o valor que se destaca. Na verdade, são as transaminases que apresentam níveis significativamente elevados, sobretudo a GPT, para a qual o aparelho apresentou o aviso “Fp”. Por isso, mais uma vez, por ter sido

Id Amostra 0008 - 3/7 ua					
Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
Gluc	93		mg / dL	74	106
Ureia	32		mg / dL	17	43
Creat	1.16		mg / dL	0.66	1.25
Ac.Ur	4.9		mg / dL	2.6	7.2
Az.Ur	15.0		mg / dL	7.9	20.1
Bil T	0.9		mg / dL	0.3	1.2
Bil D	0.2		mg / dL	0.0	0.2
Bil I	0.7		mg / dL	0.3	1.0
Alb	3.9		g / dL	3.5	5.2
GGT	345	H	U / L	3	35
GPT	582	Fp	U / L	3	45
ALP	94		U / L	30	120
GGT	162	H	U / L	5	55
Coles	115		mg / dL	19	200
Trig	63		mg / dL	9	150
HDL	56	L	mg / dL	60	180
LDL	46.4			0.0	100.0

**Figura 20.** Resultados bioquímicos de um indivíduo da UA, com destaque para a GPT (Fonte: LACFFUC).

ultrapassado o limiar de linearidade da curva de calibração, foi necessário diluir a amostra, com nova determinação da atividade enzimática da GPT, que se situou na mesma gama de valores prévia à diluição.

Dada a ordem de grandeza do aumento das transaminases, cerca de 12 vezes maior que o limite de referência superior, suspeitou-se de uma hepatite de origem viral, a causa de hepatite mais comum<sup>57</sup>. Para comprovar esta situação, seria necessário avaliar os marcadores serológicos para os vírus das hepatites A, B e C, correspondendo a mais de 90% de todos os casos de hepatite vírica a nível mundial<sup>31</sup>. Como a requisição solicitava o doseamento do antígeno HBs, dos anticorpos anti-HBs e anti-HBc para avaliação da Hepatite B e dos anticorpos anti-HCV para a Hepatite C, estas determinações foram realizadas e analisadas.

Os resultados dos marcadores da Hepatite B (não mostrados) foram todos negativos, o que se conclui que este indivíduo nunca entrou em contacto com este vírus nem contra



### **CASO CLÍNICO 3**

Ao LACFFUC chegou novamente uma amostra de sangue venoso da UA, agora pertencente a uma mulher. Como protocolado, foi centrifugada a 3000rpm/20min para obtenção de soro mas em vez de este se encontrar límpido e ligeiramente amarelado, apresentava-se opaco, extremamente viscoso e com uma coloração creme, indicativo de lipémia. Na **Figura 22** estão representados, da esquerda para a direita, o tubo com o sangue coagulado da utente após centrifugação e remoção do soro, que foi colocado no tubo do meio e, por último, um soro normal, não lipémico, como termo de comparação.



**Figura 22.** Comparação entre Soro Lipémico e Soro Não Lipémico (Fotografia: LACFFUC).

Um soro nestas condições pressupõe a presença das lipoproteínas de maiores dimensões, nomeadamente, de *quilomicrons* e/ou de VLDL de tamanho médio a grande, já que são sobretudo estas lipoproteínas que conferem turbidez ao soro como resultado de uma maior dispersão da luz que nelas incide, resultando neste aspeto leitoso.

Assim, facilmente se compreende que todos os parâmetros determinados neste soro por métodos espectrofotométricos possam ser influenciados pela ação deste interferente, sendo necessária a interpretação criteriosa dos resultados obtidos, ilustrados na **Figura 23**. Apesar da razão GOT/GPT ser superior a 2 e de a GGT ter uma atividade sérica elevada, sugerindo um quadro compatível com uma hepatite alcoólica, a ordem de grandeza apresentada pelas transaminases não é muito comum, levando a pensar que os valores obtidos possam estar sobrestimados pela lipémia. Como na espectrofotometria de absorção no ultravioleta-visível consideramos que a diferença entre a intensidade da radiação emitida e a que chega ao detetor é absorvida pelo parâmetro em análise, quando a lipémia está presente, a luz que incide na amostra não só é absorvida pelo analito em causa, mas também

é dispersa em várias direções pelas lipoproteínas, diminuindo a intensidade da luz que atinge o detetor. Assim, este vai assumir que toda a radiação não transmitida através da amostra foi absorvida pelo analito em estudo, sobrestimando o seu valor, o que impede a obtenção de resultados exatos. Para além disso, a intensidade da luz dispersa pelas lipoproteínas é influenciada pelo comprimento de onda da radiação incidente, sendo maior aos 300nm e decrescendo à medida que se avança para os 700nm<sup>65</sup>.

Deste modo, os parâmetros determinados por métodos na zona do ultravioleta, que fazem uso da absorvância da forma reduzida ou oxidada do NAD a 340nm para estimar a sua concentração, serão dos mais afetados pela lipémia. Exemplos são a GPT e a GOT, cujos valores poderão ser dos mais sobrestimados, o que explica a razão da não concordância com o quadro clínico referido anteriormente.

Id Amostra 0016 - 2/24 ua				
Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais
Gluc	88		mg / dL	74 106
Ureia	18		mg / dL	17 43
Creat	0.82		mg / dL	0.66 1.25
Ac.Ur	7.6	H	mg / dL	2.6 7.2
Az.Ur	8.4		mg / dL	7.9 20.1
Bil T	1.2		mg / dL	0.3 1.2
Bil D	0.6	H	mg / dL	0.0 0.2
Bil I	0.6		mg / dL	0.3 1.0
Alb	3.0	L	g / dL	3.5 5.2
GOT	775	H	U / L	3 35
GPT	292	H	U / L	3 45
ALP	170	H	U / L	30 120
GGT	1176	H	U / L	5 55
Coles	305	H	mg / dL	19 200
Trig	1351	Fp	mg / dL	9 150
HDL	9	L	mg / dL	60 180
LDL	25.8	F		0.0 100.0

**Figura 23.** Parâmetros Bioquímicos da Amostra Lipêmica, com destaque para os TAG (Fonte: LACFFUC).

Visto serem os TAG os principais componentes das lipoproteínas responsáveis pela lipémia, integrando cerca de 90% dos *quilomicrons* e 45 a 65% das VLDL, não é de estranhar o seu valor elevado. Também o colesterol total se encontra aumentado, pois integra igualmente essas lipoproteínas mas em menor percentagem. Já o colesterol das HDL e das LDL apresentam valores anómalos, muito reduzidos. Por isso, e por ter aparecido o sinal de aviso “Fp” para os TAG, foi necessário proceder novamente à determinação do perfil lipídico, agora na amostra de soro diluída, por forma a não afetar mais a exatidão dos resultados fornecidos à utente. Esses resultados encontram-se na **Figura 24**.

Id Amostra 0021 - 2/24UA 1/5				
Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais
Coles	292	H	mg / dL	19 200
Trig	1435	pH	mg / dL	9 150
HDL	19	L	mg / dL	60 180
LDL	-14.0	pL		0.0 100.0

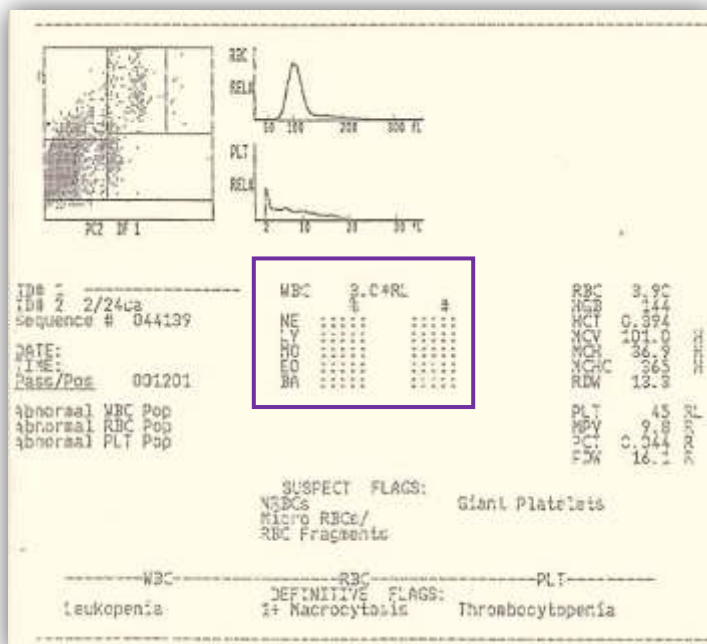
**Figura 24.** Perfil Lipídico após diluição 1:5 (Fonte: LACFFUC).

A concentração dos vários analitos está relativamente coincidente com aquelas obtidas previamente à diluição, com a exceção do C-LDL, que inclusive registou um valor negativo. Para que esta situação

não se verifique, convencionou-se que, a partir de valores de TAG superiores a 400mg/dL, a concentração de C-LDL não deve ser estimada pela fórmula de *Friedewald* mas sim determinada pelos métodos analíticos laboratoriais, de modo a fração TAG/5 refletir o colesterol contido nas VLDL residuais<sup>31</sup>. Se a requisição médica desta utente mencionasse este parâmetro, uma amostra do seu soro teria de ser enviada para o Laboratório S. José para ser feito o seu doseamento, pois não é realizado no LACFFUC.

Para além dos parâmetros bioquímicos, a lipémia pode também afetar os ensaios imunológicos e hematológicos. Como podemos observar no hemograma da **Figura 25**, o *Max'M Coulter*<sup>®</sup> não executou a fórmula leucocitária, que teve de ser feita manualmente, uma vez que os lípidos, por serem maus condutores de corrente elétrica, alteram a condutividade da corrente usada na distinção das subpopulações leucocitárias pela Tecnologia VCS.

Para além disso, como a hemoglobina é medida por fotometria, as lipoproteínas podem dispersar a radiação no mesmo comprimento de onda absorvido pela hemoglobina, o que inflaciona o seu valor. Como consequência, as constantes hematimétricas HCM e CHCM, calculadas a partir a concentração de hemoglobina, também irão estar elevadas, o que é verificado no hemograma.



**Figura 25.** Hemograma de um indivíduo com amostra lipémica (Fonte: LACFFUC).

Como a lipémia interfere no resultado dos vários parâmetros laboratoriais doseados, revelou-se importante acrescentar, no boletim analítico desta utente, o comentário “Amostra lipémica”, por forma a alertar o médico para a interpretação dos resultados laboratoriais com especial cuidado. Apesar de poder ter origem patológica e ocorrer na sequência de uma esteatose hepática, esta hipertrigliceridémia poderá ter resultado do não cumprimento das 12h de jejum aconselhadas antes da colheita da amostra, o que evitaria toda esta situação<sup>66</sup>.

## CASO CLÍNICO 4

Uma amostra de urina de 24h para a determinação da microalbuminúria chegou ao LACFFUC vinda do PC. Pertencia a uma mulher de 74 anos.

Na **Figura 26** podemos observar que o valor obtido da MAU - 680,5 mg/L - é seguido pelo sinal de aviso “Fp”, sendo necessário proceder, mais uma vez, à diluição da amostra. Após esta diluição, obteve-se o resultado 975,3 mg/L, agora dentro do limite de linearidade da curva de calibração, que foi de imediato convertido para a quantidade de albumina excretada por dia.

Id Amostra UE005 - 1/27 PC					
Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
MAU	680.5	Fp	mg / L	0.5	19.0

Id Amostra UE006 - 1/27 PC					
Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
MAU	975.3	pH	ng / L	0.5	19.0

Figura 26. MAU antes e após a diluição da amostra (Fonte: LACFFUC).

Contemplando a diurese de 2,35L das 24h da utente, a MAU por ela excretada em 24h foi de 2292mg (975,3mg/L x 2,35L/24h). Dado o valor significativamente elevado da MAU, superior a 300mg/24h, nem podemos sequer considerar a presença de microalbuminúria, tratando-se já de proteinúria. Considerando que a albumina - a proteína mais abundante no sangue - se encontra em grande quantidade na urina, pode ser indicativo de um grande aumento da permeabilidade glomerular com perda da integridade da membrana basal do glomérulo renal, possibilitando que proteínas de elevado peso molecular a consigam atravessar, o que não acontece numa situação normal<sup>67</sup>. Para compreendermos o mecanismo subjacente a esta lesão, temos de averiguar a etiologia desta proteinúria.

No dia anterior, esta utente deslocou-se ao PC onde lhe foi colhido sangue venoso e onde entregou um frasco com uma amostra de urina, em virtude de ter apresentado uma requisição que incluía a determinação de alguns parâmetros bioquímicos e a análise sumária da urina.

Na **Figura 27** encontram-se os valores dos parâmetros séricos doseados.

Tanto o ionograma (não representado)

como as análises bioquímicas estavam dentro do seu intervalo de referência, com exceção

Id Amostra 0009 - 1/27PC					
Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
Gluc	147	H	mg / dL	74	106
Creat	0.89		mg / dL	0.66	1.25
Ac.Ur	6.3		mg / dL	2.6	7.2
GOT	14		U / L	3	35
GPT	11		U / L	3	45
Coles	152		mg / dL	19	200
Trig	82		mg / dL	9	150
HDL	61		mg / dL	60	180
LDL	74.6			0.0	100.0

Figura 27. Análises Bioquímicas de um diabético (Fonte: LACFFUC).



da glucose, que registava um valor elevado, de 147mg/dL, o que confirma que esta utente é diabética. Estes doentes têm frequentemente de monitorizar a MAU, pois permite uma deteção precoce de possíveis complicações microvasculares que se possam estar a desenvolver, por forma a poderem ser revertidas a tempo<sup>68</sup>.

Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais
HB	12.5		g / dL	-999999.9 999999.9
A1C	0.6231		g / dL	-999.9999 999.9999
HBA1C	6.7	H	%	4.0 6.2

Figura 28. Hemoglobina Glicada de um diabético (Fonte: LACFFUC).

Na **Figura 28** consta a hemoglobina glicada desta utente, que não reflete a ordem de grandeza da MAU, pois apresenta o valor 6,7%, muito próximo dos desejáveis 6,5%, indicativo de um certo controlo glicémico ao longo dos 3 meses anteriores.

Quanto à análise sumária da urina, expressa na **Figura 29**, esta acusou a presença de proteínas, como expectável. No entanto, o sedimento urinário não apresentou cilindros que se poderiam formar na sequência da proteinúria nem a presença de bactérias que pudessem, por via ascendente, atingir o rim e alterar a membrana glomerular, excluindo-se assim a causa infecciosa como explicativa da proteinúria.

URINALYSIS		CombiScan100	
No:	1	14:42	
Pat. ID:	1/27pc		
BIL	neg		
UBG	norm		
KET	neg		
ASC	neg		
GLU	norm		
*PRO	0.3	g/l	+
ERY	neg		
pH	5		
NIT	neg		
LEU	neg		
SG	1.020		

Figura 29. Proteínas positivas na urina (Fonte: LACFFUC).

Como foram encontradas proteínas em grande quantidade na urina desta doente diabética, trata-se de um caso de **Nefropatia Diabética**, num estadio avançado. Se verificarmos o histórico desta utente, na última vez que procedeu ao doseamento da MAU no LACFFUC, em Setembro de 2012, já apresentava microalbuminúria, que registava o valor de 233mg/24h, tendo-se agravado nos 3 anos seguintes.

Esta situação muito provavelmente foi desencadeada por um mau controlo glicémico, pois a hiperglicémia constante é o principal estímulo da produção de mediadores inflamatórios responsáveis por alterações estruturais e funcionais na membrana basal do glomérulo renal, o que contribui para o declínio da função renal que poderá precipitar em Insuficiência Renal Crónica<sup>69</sup>. Daí que, com a deteção da presença de microalbuminúria, seja necessário um controlo mais rigoroso da glicémia e de outros fatores agravantes como a hipertensão arterial. Por isso, como houve progressão desta situação, a doente encontra-se em risco acrescido de desenvolver doenças cardiovasculares assim como retinopatia e neuropatia diabéticas<sup>69</sup>.

## CASO CLÍNICO 5

Este caso pretende fazer uma comparação da sensibilidade de dois parâmetros analíticos, pouco específicos, mas frequentemente usados na prática clínica na deteção e monitorização de processos de inflamatórios. São eles a VS e a PCR.

Numa amostra de sangue de um alcoólico crónico da UA, a VS apresentava o valor de 11mmHg/h, ainda dentro do intervalo de referência, enquanto a concentração da PCR se encontrava 4,5 vezes acima do limite superior de referência, com 45,3mg/L. Os restantes parâmetros bioquímicos determinados estão na **Figura 30**.

Duas semanas mais tarde, este utente voltou novamente a fazer análises, tendo a sua VS registado um aumento significativo de 11 para 98mmHg/h, enquanto a concentração da PCR diminuiu para 12,3mg/dL.

Id Amostra 0016 - 1/10 UA					
Teste	Resultado	Aviso	Unidades	Valores Normais	
Gluc	143	H	mg / dL	74	106
Ureia	11	L	mg / dL	17	43
Creat	1.03		mg / dL	0.66	1.25
Ac.Ur	11.7	H	mg / dL	2.6	7.2
Az.Ur	5.1	L	mg / dL	7.9	20.1
Bil T	1.1		mg / dL	0.3	1.2
Bil D	0.4	H	mg / dL	0.0	0.2
Bil I	0.7		mg / dL	0.3	1.0
Prot	6.3	L	g / dL	6.6	8.3
Alb	3.0	L	g / dL	3.5	5.2
GGT	152	H	U / L	3	35
GPT	19		U / L	3	45
ALP	298	H	U / L	30	120
GGT	2094	Fp	U / L	5	55
Coles	185		mg / dL	19	200
Trig	114		mg / dL	9	150
HDL	49	L	mg / dL	60	180
LDL	113.2	H		0.0	100.0
PCR	45.3	H	mg / L	0.1	1.0

**Figura 30.** Parâmetros bioquímicos de um alcoólico crónico, evidenciando PCR elevada (Fonte: LACFFUC).

Esta situação ilustra a falta de sensibilidade da VS como um marcador de um processo inflamatório agudo face à PCR, que aumenta mais precocemente. De facto, sendo a PCR uma proteína de fase aguda importante na defesa do organismo, é normal que aumente nas 4 a 6 h após o estímulo de citocinas inflamatórias e que regresse ao normal 3 a 7 dias após a sua resolução. Já a VS é um marcador indireto da resposta inflamatória sistémica, porque resulta da ligação das proteínas sintetizadas na sequência deste estímulo, como o fibrinogénio, à membrana dos eritrócitos, o que reduz o seu potencial  $\zeta$  (zeta). Isto facilita a formação dos rouleaux, que aumentam a viscosidade do sangue e dificultam o transporte de possíveis microrganismos nele presentes, até aos órgãos vitais. Como tal, a VS aumenta mais tardiamente, atingindo o pico ao fim de uma semana, quando a PCR já se encontra em fase descendente, regressando ao normal ao fim de algumas semanas. Por isso, vários estudos sugerem a utilização da PCR na deteção de processos inflamatórios agudos, restringindo o uso da VS na monitorização de patologias inflamatórias crónicas, como as doenças reumáticas<sup>70</sup>.

## CONCLUSÃO

Apesar deste relatório incidir mais sobre Bioquímica, a interpretação da situação clínica do utente necessita da integração de conhecimentos obtidos nas várias valências. Por isso, sendo as Análises Clínicas uma área multidisciplinar, a passagem pelas várias valências do laboratório revestiu-se de especial importância na promoção de uma formação mais especializada e multifacetada a nível da execução e interpretação das análises nestes setores. Isto proporcionou-me uma visão mais integrada do funcionamento de um laboratório clínico, com a aquisição de competências técnico-científicas que serão muito úteis no futuro.

Ao longo do Mestrado em Análises Clínicas tive algumas aulas no LACFFUC que, por si só, me permitiram contactar com algumas técnicas laboratoriais aí efetuadas, mas só o estágio curricular possibilitou a consolidação dos conhecimentos previamente adquiridos através da sua aplicação na rotina laboratorial diária, bem como a aquisição de autonomia na realização do trabalho quotidiano.

Para um primeiro contato com a realidade de um laboratório de Análises Clínicas, o LACFFUC superou as minhas expectativas, não só pelo profissionalismo demonstrado por toda a equipa no exercício das suas funções, resultado de vários anos de experiência na área, como também pelo ambiente acolhedor com que me receberam. No entanto, é um laboratório que lida com poucas amostras diárias e, como tal, apresenta algumas condicionantes de natureza económica que o levam a rentabilizar os seus recursos ao máximo, não chegando a realizar determinadas análises que, por serem pouco requisitadas, acabam por ser enviadas para o Laboratório S. José.

A meu ver, a maior adversidade não só deste laboratório como dos restantes laboratórios privados é, dado o sigilo médico-utente, não se ter acesso ao historial clínico do utente nem à medicação que este está a tomar, uma vez que auxiliaria a interpretação dos resultados, sobretudo em algumas situações mais dúbias. Daí ser necessário realizar, por parte do técnico responsável pela colheita e pela receção da amostra, determinadas questões gerais que poderão ser úteis em possíveis dúvidas que se apresentem.

Em conclusão, este estágio curricular permitiu aprofundar os meus conhecimentos nas várias valências laboratoriais, desenvolvendo competências pessoais e profissionais que confirmam que esta é a área onde pretendo exercer a minha prática profissional.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BURKE, M. D. - **Laboratory Medicine in the 21st century**. American Journal of Clinical Pathology. ISSN 00029173. 114:6 (2000) 841–846. doi: 10.1309/TH8P-ICAL-9K3G-VFTM.
2. CARREIRO-LEWANDOWSKI, E. - **Basic Principles and Practices**. In: BISHOP, M. L.; FODY, E. P.; SCHOEFF, L. E. (Eds.) - Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations. 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 3–32.
3. LIPPI, G. *et al.* - **Prenalytical quality improvement: From dream to reality**. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. ISSN 14346621. 49:7 (2011) 1113–1126. doi: 10.1515/CCLM.2011.600.
4. S. YOUNG, D.; BERMES, E. W.; HAVERSTICK, D. M. - **Specimen Collection and Other PreAnalytical Variables**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th. ed. St. Louis, Missouri: 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 42–62.
5. KLEE, G. G.; WESTGARD, J. O. - **Quality Management**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 249–262.
6. GREEN, S. F. - **The cost of poor blood specimen quality and errors in preanalytical processes**. Clinical Biochemistry. ISSN 0009-9120. 46:13-14 (2013) 1175–1179. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.06.001.
7. BOCHEN, K. *et al.* - **Erythrocyte sedimentation rate – an old marker with new applications**. Journal of Pre-Clinical and Clinical Research. 5:2 (2011) 50–55.
8. KRICKA, L. J.; PARK, J. Y. - **Optical Techniques**. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Ed.) - Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 63–83.
9. DREES, J. C.; WU, A. H. B. - **Analytical Techniques**. In: BISHOP, M. L.; P. FODY, E.; SCHOEFF, L. E. (Eds.) - Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations. 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 130–165.
10. ORTON, S. - **ImmunoAssays**. In: BISHOP, M. L.; P. FODY, E.; SCHOEFF, L. E. (Ed.) - Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations. 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 185–201.
11. PACKARD, R. R. S.; LIBBY, P. - **Inflammation in atherosclerosis: From vascular biology to biomarker discovery and risk prediction**. Clinical Chemistry. ISSN 00099147. 54:1 (2008) 24–38. doi: 10.1373/clinchem.2007.097360.
12. NADER RIFAI, G. RUSSELL WARNICK, A. T. R. - **Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiovascular Risk Factors**. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Ed.) - Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 402–430.

13. SALA, F.; CATAPANO, A. L.; NORATA, G. D. - **High density lipoproteins and atherosclerosis: Emerging aspects.** *Journal of Geriatric Cardiology.* ISSN 16715411. 9:4 (2012) 401–407. doi: 10.3724/SP.J.1263.2011.12282.
14. SETHI, A. A.; WARNICK, G. R.; REMALEY, A. T. - **Lipids and Lipoproteins.** In: BISHOP, M. L.; P. FODY, E.; SCHOEFF, L. E. (Ed.) - *Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations.* 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 328–355.
15. LIU, J.; FOONT, J.; WANDS, J. R. - **Effects of blood triglycerides on cardiovascular and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of 61 prospective studies.** *Lipids in health and disease.* ISSN 1476-511X. 12:1 (2013) 159. doi: 10.1186/1476-511X-12-159.
16. HARCHAOUI, K. E. L. *et al.* - **Triglycerides and cardiovascular risk.** *Current cardiology reviews.* ISSN 1573403X. 5:3 (2009) 216–222. doi: 10.2174/157340309788970315.
17. CHO, Y. S. *et al.* - **Association of lipoprotein lipase (LPL) single nucleotide polymorphisms with type 2 diabetes mellitus.** *Experimental & molecular medicine.* ISSN 1226-3613. 40:5 (2008) 523–532. doi: 10.3858/emm.2008.40.5.523.
18. VOSHOL, P. J. *et al.* - **In Muscle-Specific Lipoprotein Lipase - Overexpressing Mice, Muscle Triglyceride Content is Increased Without Inhibition of Insulin-Stimulated Whole-Body and Muscle-Specific Glucose Uptake.** *Diabetes.* 50:11 (2001) 2585–2590. doi:10.2337/diabetes.50.11.2585
19. DELANEY, M. P.; PRICE, C. P.; LAMB, E. J. - **Kidney Function and Disease.** In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Ed.) - *Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry.* 6th. ed. [S.l.]: Elsevier Saunders, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 631–654.
20. HARVEY, R.; FERRIER, D. - **Amino Acids: Disposal of Nitrogen.** In: HARVEY, R.; FERRIER, D. (Ed.) - *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry.* 5th. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011. ISBN 978-1-60831-412-6. p. 245–260.
21. BAXMANN, A. C. *et al.* - **Influence of muscle mass and physical activity on serum and urinary creatinine and serum cystatin C.** *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* ISSN 1555-905X. 3:2 (2008) 348–354. doi: 10.2215/CJN.02870707.
22. ARNESON, W.; BRICKELL, J. - **Assessment of Renal Function.** In: ARNESON, W.; BRICKELL, J. (Ed.) - *Clinical Chemistry - A Laboratory Perspective.* Philadelphia: F. A. Davis Company, 2007. ISBN 978-0-8036-1498-7. p. 201–232.
23. EDWARDS, N. L. - **The role of hyperuricemia and gout in kidney and cardiovascular disease.** *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* ISSN 08911150. 75:5 (2008) 13–16. doi: 10.3949/ccjm.75.Suppl\_5.S13.
24. WEIR, M. R. - **Microalbuminuria and Cardiovascular Disease.** *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* 2:3 (2007) 581–590. doi: 10.2215/CJN.03190906.
25. PERAZELLA, M. A. *et al.* - **Diagnostic value of urine microscopy for differential diagnosis of acute kidney injury in hospitalized patients.** *Clinical Journal of the*

American Society of Nephrology. ISSN 1555-905X. 3:6 (2008) 1615–1619. doi: 10.2215/CJN.02860608.

26. DUFOUR, R.; D. ROBERT DUFOUR - **The Liver: Function and Chemical Pathology**. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Ed.) - Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 586–600.
27. BOTROS, M.; SIKARIS, K. A. - **The De Ritis Ratio: The Test of Time**. The Clinical Biochemistry Reviews. 34:3 (2013) 117–130.
28. LI, Z.; VANCE, D. E. - **Thematic review series: glycerolipids. Phosphatidylcholine and choline homeostasis**. Journal of Lipid Research. 49:6 (2008) 1187–1194. doi: 10.1194/jlr.R700019-JLR200.
29. XU, J. M. C. X. - **Liver Function**. In: BISHOP, M. L.; P. FODY, E.; SCHOEFF, L. E. (Ed.) - Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations. 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 516–540.
30. PORTUGAL. Direção-Geral da Saúde. - **Prescrição da Gama-glutamyltransferase (GGT)**. DGS, 069/2011 (2011) 1–10.
31. PINCUS, M. R. *et al.* - **Evaluation of Liver Function**. In: MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Ed.) - Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22nd. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-4377-0974-2. p. 296–311.
32. ARNESON, W.; BRICKELL, J. - **Assessment of Liver Function**. In: ARNESON, W.; BRICKELL, J. (Ed.) - Clinical Chemistry - A Laboratory Perspective. Philadelphia: F. A. Davis Company, 2007. ISBN 978-0-8036-1498-7. p. 233–266.
33. HORITA, T. J.; KASRAVI, B. - **Understanding and Interpreting Serum Protein Electrophoresis**. American Family Physician. 71:1 (2005) 105–112.
34. HILL, P. G. - **Gastrointestinal Diseases**. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 696–710.
35. GOMEZ, D. *et al.* - **Retrospective study of patients with acute pancreatitis: is serum amylase still required?** British Medical Journal Open. 2:5 (2012) 1–6. doi: 10.1136/bmjopen-2012-001471.
36. GARDETE-CORREIA, L. *et al.* - **First diabetes prevalence study in Portugal: PREVADIAB study**. Diabetic Medicine. ISSN 07423071. 27:8 (2010) 879–881. doi: 10.1111/j.1464-5491.2010.03017.x.
37. PORTUGAL. Direção-Geral da Saúde. - **Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus**. DGS, 002/2011 (2011) 1–13.
38. PORTUGAL. Direção-Geral da Saúde. - **Prescrição e Determinação da Hemoglobina Glicada A1c**. DGS, 033/2011 (2011) 1–10.

39. BRICKELL, J.; VICKI, F.; ARNESON, W. - **Diabetes and Other Carbohydrate Disorders**. In: ARNESON, W.; BRICKELL, J. (Eds.) - *Clinical Chemistry - A Laboratory Perspective*. Philadelphia: F. A. Davis Company, 2007. ISBN 978-0-8036-1498-7. p. 147–178.
40. PORTUGAL. Direção-Geral da Saúde. - **Diagnóstico e conduta na Diabetes Gestacional**. DGS, 007/2011 (2011) 1–7.
41. FREEMAN, V. S. - **Carbohydrates**. In: BISHOP, M. L.; P. FODY, E.; SCHOEFF, L. E. (Ed.) - *Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations*. 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 309–327.
42. NATHAN, D. M.; TURGEON, H.; REGAN, S. - **Relationship between glycated haemoglobin levels and mean glucose levels over time**. *Diabetologia*. 50:11 (2007) 2239–2244. doi: 10.1007/s00125-007-0803-0.
43. HARVEY, R.; FERRIER, D. - **Fatty Acid and Triacylglycerol Metabolism**. In: HARVEY, R.; FERRIER, D. (Eds.) - *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. 5th. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011a. ISBN 978-1-60831-412-6. p. 181–200.
44. DEMERS, L. M. - **Thyroid Disorders**. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6th. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 766–779.
45. GROTZKE, M. - **The Thyroid Gland**. In: BISHOP, M. L.; P. FODY, E.; SCHOEFF, L. E. (Eds.) - *Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations*. 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 490–500.
46. JONES, D. D.; MAY, K. E.; GERACI, S. A. - **Subclinical Thyroid Disease**. *The American Journal of Medicine*. ISSN 0002-9343. 123:6 (2009) 502–504. doi: 10.1016/j.amjmed.2009.12.023.
47. BIONDI, B. *et al.* - **Subclinical hyperthyroidism: clinical features and treatment options**. *European Journal of Endocrinology*. 152:1 (2005) 1–9. doi: 10.1530/eje.1.01809.
48. GORMAN, L. S. - **Assessment of Cardiovascular Disorders**. In: ARNESON, W.; BRICKELL, J. (Ed.) - *Clinical Chemistry - A Laboratory Perspective*. Philadelphia: F. A. Davis Company, 2007. ISBN 978-0-8036-1498-7. p. 267–300.
49. CHIASERA, J. M. - **Cardiac Function**. In: BISHOP, M. L.; P. FODY, E.; SCHOEFF, L. E. (Eds.) - *Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations*. 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 541–556.
50. WALLIMANN, T.; TOKARSKA-SCHLATTNER, M.; SCHLATTNER, U. - **The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine**. *Amino Acids*. 40:5 (2011) 1271–1296. doi: 10.1007/s00726-011-0877-3.
51. JOHNSON-DAVIS, K.; MCMILLIN, G. A. - **Enzymes**. In: BISHOP, M. L.; FODY, E. P.; SCHOEFF, L. E. (Eds.) - *Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations*. 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 281–308.

52. HARVEY, R.; FERRIER, D. - **Glycolysis**. In: HARVEY, R.; FERRIER, D. (Eds.) - Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry. 5th. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011b. ISBN 978-1-60831-412-6. p. 91–108.
53. LIAMIS, G. L. *et al.* - **Mechanims of Hyponatremia in Alcohol Patients**. Alcohol and Alcoholism. 35:6 (2000) 612–616.
54. COLE, L. A. - **New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin**. Reproductive Biology and Endocrinology. 7:8 (2009) 1–37. doi: 10.1186/1477-7827-7-8.
55. GRAZZINI, G. *et al.* - **Immunochemical faecal occult blood test: number of samples and positivity cutoff. What is the best strategy for colorectal cancer screening?** British Journal of Cancer. 100:2 (2009) 259–265. doi: 10.1038/sj.bjc.6604864.
56. SETSHEDI, M.; WANDS, J. R.; MONTE, S. M. D. La - **Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease**. Oxidative medicine and cellular longevity. ISSN 1942-0900. 3:3 (2010) 178–185. doi: 10.4161/oxim.3.3.3.
57. DUFOUR, D. R. - **Liver Disease**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 675–695.
58. NAGATA, K.; SUZUKI, H.; SAKAGUCHI, S. - **Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis**. The Journal of Toxicological Sciences. ISSN 0388-1350. 32:5 (2007) 453–468. doi: 10.2131/jts.32.453.
59. TORRUELLAS, C.; FRENCH, S. W.; MEDICI, V. - **Diagnosis of alcoholic liver disease**. World Journal of Gastroenterology. 20:33 (2014) 11684–11699. doi: 10.3748/wjg.v20.i33.11684.
60. PARMAR, K.; D'ANDREA, A. D. - **Stressed out: Endogenous aldehydes damage hematopoietic stem cells**. Cell Stem Cell. ISSN 19345909. 11:5 (2012) 583–584. doi: 10.1016/j.stem.2012.10.007.
61. CONTRERAS, A. M. *et al.* - **Very low hepatitis C antibody levels predict false-positive results and avoid supplemental testing**. Transfusion. ISSN 00411132. 48:12 (2008) 2540–2548. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.01886.x.
62. PORTUGAL. Direção-Geral da Saúde. - **Prescrição para Estudo Laboratorial da Infecção pelo Vírus da Hepatite C**. DGS, 059/2011 (2012) 1–19.
63. CHEVALIEZ, S. - **Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection**. Clinical Microbiology and Infection. ISSN 1198743X. 17:2 (2011) 116–121. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03418.x.
64. SIU, L. *et al.* - **Hepatitis C virus and Alcohol**. Seminars in Liver Disease. 29:2 (2009) 188–199. doi: 10.1055/s-0029-1214374.
65. NIKOLAC, N. - **Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management**. Biochemia Medica. 24:1 (2014) 57–67.



66. VAN DE WIEL, A. - **The effect of alcohol on postprandial and fasting triglycerides.** International Journal of Vascular Medicine. ISSN 20902824. 2012:862504 (2012) 1–4. doi: 10.1155/2012/862504.
67. KARA L. LYNCH, A. H. B. W. - **Renal Function.** In: BISHOP, M. L.; FODY, E. P.; SCHOEFF, L. E. (Eds.) - Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations. 6th. ed. [S.l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. ISBN 978-0-7817-9045-1. p. 557–577.
68. PERKINS, B. A. *et al.* - **Microalbuminuria and the Risk for Early Progressive Renal Function Decline in Type I Diabetes.** Journal of the American Society of Nephrology. 18:4 (2007) 1353–1361. doi: 10.1681/ASN.2006080872.
69. SCHENA, F. P.; GESUALDO, L. - **Pathogenetic Mechanisms of Diabetic Nephropathy.** Journal of the American Society of Nephrology. 16:3 suppl 1 (2005) S30–S33. doi: 10.1681/ASN.2004110970.
70. JEREMIAH, Z. A.; LEONARD, I.; EZINMA, A. C. - **Discordantly Elevated Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) and Depressed C-Reactive Protein (CRP) Values in Early Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis Patients in Maiduguri, Nigeria.** Open Journal of Blood Diseases. 3:2 (2013) 74–77.