

Sofia de Brito Silva

Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de estágio curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Dra. Maria João Sá e pela Professora Doutora Maria Celeste Fernandes Lopes, apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Sofia de Brito Silva

Relatório de Estágio

Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de estágio curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Dra. Maria João Sá e pela Professora Doutora Maria Celeste Fernandes Lopes, apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Agradecimentos

Àqueles que me acompanharam nesta fase do meu percurso académico, em especial à minha família que me apoiou e me motivou sempre para continuar a dar o meu melhor.

Ao Laboratório de Análises Clínicas Dr. Joaquim Chaves Algarve, agradeço a todos os membros da equipa por me terem recebido, pela simpatia e pela disponibilidade que demonstraram ao longo do estágio.

Em especial às minhas orientadoras, Dra. Maria João Sá e Professora Doutora Maria Celeste Lopes, pela amabilidade e disponibilidade proporcionada durante este processo.

Índice

Índice de Figuras	vii
Índice de Tabelas	ix
Abreviaturas	xi
Resumo	xiii
Abstract	xiii
1. Introdução	1
2. Caracterização do laboratório de estágio	2
3. Atividades desenvolvidas	3
3.1. Fase Pré-Analítica:	3
3.1.1. Colheitas	3
3.1.2. Controlo da Fase Pré-Analítica e Triagem	6
3.2. Controlo de Qualidade	8
3.2.1. Controlo de Qualidade Interno	8
3.2.2. Avaliação Externa de Qualidade	9
3.3. Tratamento de Resíduos	9
3.4. Segurança	10
4. Fase Analítica: Atividades desenvolvidas	11
5. Bioquímica	17
5.1. Metabolismo dos Hidratos de Carbono	17
5.1.1. Determinação da Glicose	17
5.1.2. Prova de Tolerância à Glicose Oral	19
5.1.3. Hemoglobina Glicada	20
5.2. Metabolismo Lipídico	21
5.2.1. Colesterol total	21
5.2.2. Lipoproteínas: LDL e HDL	21
5.2.3. Triglicéridos	22
5.2.4. Proteína C-Reativa de Alta Sensibilidade	23
5.3. Função Hepática	23
5.3.1. Aminotransferases	24
5.3.2. Gama-Glutamil Transferase	25
5.3.3. Fosfatase Alcalina	25
5.4. Função Renal	27

5.4.1.	Creatinina.....	27
5.4.2.	Ureia.....	28
5.4.3.	Ácido Úrico.....	28
5.4.4.	Ionograma	29
5.4.4.1.	Sódio	30
5.4.4.2.	Cloreto	31
5.4.4.3.	Potássio.....	31
5.4.5.	Análise Sumária da Urina	32
5.5.	Ferro sérico	35
6.	Hematologia.....	36
6.1.	Anticoagulantes.....	37
6.2.	Hemograma	38
6.2.1.	Hemoglobina	38
6.2.2.	Hematócrito.....	39
6.2.3.	Eritrócitos: Análise Quantitativa e Qualitativa	39
6.2.4.	Plaquetas: Análise Quantitativa e Qualitativa	40
6.2.5.	Leucócitos: Análise Quantitativa e Qualitativa.....	41
6.3.	Esfregaço de Sangue Periférico	44
6.3.1.	Alterações nos Eritrócitos	44
6.3.2.	Alterações nas Plaquetas e Leucócitos	46
6.4.	Anemias.....	47
6.5.	Neoplasias Hematológicas.....	48
6.6.	Coagulação	49
6.7.	Velocidade de Sedimentação	51
6.8.	Grupos Sanguíneos	52
7.	Fase Pós-Analítica	54
8.	Conclusão	55
9.	Referências.....	57
10.	Anexos	61

Índice de Figuras

Figura 1 – BD Vacutainer®, Eclipse™	4
Figura 2 – Ordem de colheita do sangue venoso, com cor das tampas ilustrada.....	5
Figura 3 – ADVIA 1200 – Chemistry System (Siemens).....	11
Figura 4 – Aution Max – Ax 4030 (Menarini diagnostics)	12
Figura 5 – SediMax (Menarini diagnostics)	12
Figura 6 – D-10 Hemoglobin A1c Program (BIO-RAD).....	12
Figura 7 – ADVIA 120 Haematology System (Siemens)	13
Figura 8 – Sysmex Ca-500 (Siemens)	13
Figura 9 – Ves matic 30 (A. Menarini diagnostics)	13
Figura 10 – Carta “DiaClon AB0/Rh ID-Card”	14
Figura 11 – Centrifugadora para cartas dos Grupos Sanguíneos (BIO-RAD).....	14
Figura 12 – VIDAS 30 (bioMérieux diagnostics).....	14
Figura 13 – Tira “NADAL hCG” Exemplo: Teste negativo (1 banda).....	14
Figura 14 – Densichek	15
Figura 15 – VITEK 2 – Compact (bioMérieux diagnostics).....	15
Figura 16 – Ilustração de cristais de oxalato de cálcio.....	33
Figura 17 – Ilustração de Cristais de fosfato de cálcio.....	33
Figura 18 – Ilustração de cristais de ácido úrico	33
Figura 19 – Ilustração de cristais de fosfato triplo ou estruvite.....	33
Figura 20 – Representação esquemática da Hematopoiese.....	37
Figura 21 – Basófilos num esfregaço de sangue periférico (SP)	42
Figura 22 – Situação de eosinofilia num esfregaço de SP.....	42
Figura 23 – Neutrófilo num esfregaço de SP.....	42
Figura 24 – Linfócito num esfregaço de SP.....	43
Figura 25 – Monócito num esfregaço de SP	43
Figura 26 e 27 – Macrocitose; Microcitose e Hipocromia.	45
Figura 28 – Células em Alvo.....	45
Figura 29 – Dacriócitos	45
Figura 30 – Esferócitos	46
Figura 31 – Eliptócitos e Ovalócitos.....	45
Figura 32 – Acantócitos e Equinócitos.....	46

Figura 33 – Agregados plaquetares.....	46
Figura 34 – Linfócito atípico.....	47
Figuras 35 e 36 – Classificação geral de Leucemias e Linfomas.....	48
Figura 37 – Leucemia Linfoide Aguda	49
Figura 38 – Leucemia Linfoide Crónica	49
Figura 39 – Clássico modelo da cascata da coagulação.. ..	50
Figura 40 – Fenómeno de "Rouleaux".	51
Figuras 41 e 42 – “DiaClon AB0/Rh ID-Cards” (resultados)	53

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Valência de Bioquímica Clínica	11
Tabela 2 – Valência de Hematologia	13
Tabela 3 – Valência de Imunologia e Endocrinologia.....	14
Tabela 4 – Valência de Microbiologia.....	15
Tabela 5 – Cristais mais observados no sedimento urinário e significados clínicos.....	33
Tabela 6 – Significados clínicos dos parâmetros da Análise Sumária da Urina.....	34
Tabela 7 – Índices eritrocitários.....	40
Tabela 8 – Classificação dos leucócitos granulócitos	42
Tabela 9 – Classificação dos leucócitos agranulócitos	43
Tabela 10 – Alterações morfológicas eritrocitárias observadas.....	45
Tabela 11 – Classificação das anemias com base no VCM.....	47
Tabela 12 – Sistema AB0: Antígenos e anticorpos presentes nos eritrócitos.....	52

Abreviaturas

ADH	Hormona Antidiurética
AEQ	Avaliação Externa da Qualidade
ALP	Fosfatase Alcalina
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
ATP	Adenosina Trifosfato
CHCM	Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média
CQ	Controlo de Qualidade
CQI	Controlo de Qualidade Interna
DDE/RDW	Índice de Dispersão Eritrocitária / “Red Cell Distribution Width”
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
Hb	Hemoglobina
HbA	Hemoglobina A
HbA1c	Hemoglobina Glicada
HC	Hidratos de carbono
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HDL	“High Density Lipoprotein“ (Lipoproteína de Alta Densidade)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Htc	Hematócrito
HV	Histograma do Volume
IDP/ PDW	Índice de Dispersão Plaquetar
IFCC	“International Federation of Clinical Chemistry” (Federação Internacional de Química Clínica)

INR	“International Normalised Ratio” (Relação Normalizada Internacional)
INSRJ	Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
ISE	Eléttodos Seletivos de Iões
JCS	Joaquim Chaves Saúde
LACJC	Laboratório de Análises Clínicas Joaquim Chaves
LACJCA	Laboratório de Análises Clínicas Joaquim Chaves Algarve
LDL	“Low Density Lipoprotein” (Lipoproteína de Baixa Densidade)
MBPL	Manual de Boas Práticas Laboratoriais
PCR	Proteína C-Reativa
PTGO	Prova de Tolerância à Glicose Oral
RBC	Número dos Eritrócitos
rpm	rotações por minuto
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TP	Tempo de Protrombina
TTPa	Tempo de Tromboplastina Parcial ativada
VCM	Volume Corpuscular Médio
VMP	Volume Médio das Plaquetas
VS	Velocidade de Sedimentação
γ -GT	Gama-Glutamil Transferase

Resumo

Hoje em dia, o laboratório tem um importante papel na saúde da população geral e a decisão médica baseia-se, em grande parte, nos resultados obtidos nas análises clínicas, é por isso importante o rigor, a constante atualização dos conhecimentos, sentido de responsabilidade e a interdisciplinaridade dos profissionais nesta área. No presente relatório é descrito o trabalho que acompanhei no Laboratório de Análises Clínicas Dr. Joaquim Chaves Algarve, onde decorreu o meu estágio curricular integrado no Mestrado de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, descrevendo os pontos fundamentais das fases pré-analítica, analítica e pós-analítica e, referindo em mais detalhe as valências de Bioquímica Clínica e Hematologia, pretendendo-se transmitir sobretudo a aplicabilidade destas áreas na clínica.

Abstract

In current days, the laboratory has an important role in general population's health and medical decision is largely based on clinical analysis results, for this reason it is so important for professionals in this field to have a sense of responsibility, an interdisciplinary approach, to be rigorous when performing tasks and willing to update their knowledge. In this report, the work I've followed at the Clinical Laboratory "Dr. Joaquim Chaves Algarve", where my internship in context of the Master degree in Clinical Analysis of the Faculty of Pharmacy at the University of Coimbra took place, is described including the fundamental points of pre-analytical, analytic and post-analytical phases, referring in further detail the Clinical Biochemistry and Hematology fields, especially aiming to transmit their applicability in clinical practice.

I. Introdução

Os primeiros diagnósticos médicos baseavam-se no que se conseguia ver ou ouvir, o que por vezes podia incluir a examinação de espécimes humanos. Está descrito que na Grécia antiga (300 A.C), Hipócrates defendia um protocolo de diagnóstico que incluía provar urina de pacientes e fazia associação entre a presença de determinados tipos de sedimentos urinários, pus e sangue a estados de doença. Mais tarde a invenção do microscópio, por Hans Janssen em 1590, abriu as portas para a descoberta do “mundo invisível” possibilitando cada vez melhor compreensão da fisiologia e patologia. Foi apenas no final do século XIX que a utilização de técnicas de diagnóstico mais sofisticadas se difundiram e somente no século XX é que o laboratório clínico começou ganhar uma importância significativa como aliado no diagnóstico médico a nível mundial (1). Hoje existem inúmeros parâmetros disponíveis que podem ser analisados em equipamentos sofisticados, o que permite aliar o diagnóstico, acompanhamento de doentes e monitorização de terapias. Atualmente a decisão médica está muito dependente dos resultados das análises clínicas, no entanto as pessoas recorrem a laboratórios de análises também na ausência de sintomas ou doenças, de forma a acompanhar o seu estado de saúde e detetar alterações precocemente.

O estágio curricular teve como objetivo a minha integração num ambiente profissional no laboratório de análises e consolidação dos conhecimentos adquiridos durante o mestrado de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. O estágio teve a duração de 6 meses, e decorreu no *Dr. Joaquim Chaves – Laboratório de Análises Clínicas Algarve, Lda. (LACJCA)*, atualmente localizado em Faro, que pertence ao grupo Joaquim Chaves Saúde (JCS), sob orientação da Dra. Maria João Sá e Prof. Doutora Maria Celeste Lopes. No presente relatório, pretendo descrever de forma geral as atividades desenvolvidas e tarefas que acompanhei ao longo do estágio incidindo sobre as valências disponíveis: Bioquímica Clínica, Hematologia, Microbiologia e Imunologia mas aprofundando e incluindo uma revisão bibliográfica sobre as duas primeiras, pois apesar de estarem todas de certa forma interligadas, são as valências que melhor representam o trabalho de rotina desenvolvido no LACJCA.

2. Caracterização do Laboratório de Estágio

O laboratório Joaquim Chaves Algarve presta serviço de segunda a sábado e serve uma rede de 12 postos de colheitas na região sul do país, contando com serviço de domicílio e recebendo ainda amostras veterinárias. O LACJCA é dirigido pela diretora técnica nominal Dra. Maria João Sá e diretora técnica substituta Dra. Maria de Lurdes Rufino, ambas farmacêuticas especialistas em análises clínicas.

Este laboratório tem convenção com o Serviço Nacional de Saúde e várias Seguradoras de Saúde, prestando serviço de acordo com a prescrição médica ou pedido particular do utente. Permite a realização da maioria das análises de rotina nas valências de Hematologia, Bioquímica, Imunologia e Microbiologia, beneficiando do apoio do Laboratório Dr. Joaquim Chaves localizado em Miraflores - Algés (Oeiras), que realiza análises mais específicas dentro destas áreas, análises de genética, anatomia patológica e hidrológicas. O Laboratório de Análises Clínicas Dr. Joaquim Chaves (LACJC), a primeira empresa do grupo JCS, já com 57 anos de existência, é de referência a nível nacional na qualidade e rigor do diagnóstico, assegurados pelo programa de Controlo de Qualidade Interno, assim como pela participação em programas internacionais de Avaliação Externa de Qualidade, integrando desde Julho de 2012 o LACJCA (2).

As infraestruturas do LACJCA incluem a receção e sala de espera, sala de colheitas, sanitários, dois gabinetes, sala restrita para o pessoal e zona administrativa, armazém, área laboratorial geral (Bioquímica, Hematologia e Imunologia) com subdivisão para Microbiologia, uma sala de lavagem e triagem/conferência de produtos. É utilizado o sistema informático da empresa SLICE, programa eDeia, nas várias zonas de trabalho laboratorial e de validação, área administrativa e receção, o que permite a comunicação de informação entre estas zonas, a transferência e a validação de resultados. Uma plataforma de intranet (Qnet) está disponível para aceder a informações do JCS, como manuais de boas práticas e de colheitas, códigos de ética, formações e gestão de qualidade. Este suporte tem objetivo otimizar o acesso à informação e seu posterior tratamento, permitindo em simultâneo reduzir o número de documentos distribuídos em papel.

A média de utentes por dia é 130, em que a maioria pertence à faixa etária da terceira idade (65 - 80 anos), recorrendo ao laboratório para realizar análises de rotina, para controlo de doenças ou monitorização de tratamentos.

3. Atividades Desenvolvidas

3.1. Fase Pré-Analítica:

É importante atribuir o devido valor a todos os procedimentos que compõem a fase pré-analítica, pois é nesta fase em que ocorrem a maior parte dos erros em laboratórios de análises clínicas. Estes erros incluem, entre outros a má preparação do utente, o próprio ato da colheita, ocorrência de hemólise ou formação de coágulos, errada identificação das amostras, volume insuficiente e condições de transporte/armazenamento (3; 4). Um erro que se cometa aqui, se não for detetado, será prolongado por todo o processo de análise, o que culmina na entrega de resultados errados.

Em qualquer laboratório, a prioridade é dar um resultado autêntico de modo a oferecer informação clinicamente útil para quando é necessário tomar decisões médicas, desejando-se elevada precisão e reprodutibilidade nos resultados. É este o serviço que se presta, portanto qualquer erro que venha a comprometer os resultados é considerado grave, não só se prestará um mau serviço como se poderá colocar a saúde de um ser humano em risco. Serão mencionados procedimentos seguidos nos LACJC realizados com o objetivo da eliminação ou diminuição da frequência de erros que tendem a suceder na fase pré-analítica.

Na receção do laboratório são abertos os processos dos utentes, registadas as análises requisitadas e informações do utente no sistema informático do laboratório, sendo gerado o nº do processo e um código de barras com número identificativo do mesmo, com as iniciais identificativas do posto onde é feita a colheita. Este conjunto de letras e algarismos será usado em todas as amostras relativas ao utente. Nestes registos, acompanhando a identificação do utente está a lista de análises pedidas com informação para auxiliar o técnico sobre respetivas amostras biológicas a colher (quais os tubos de colheita a usar). Estes processos contêm também a data e hora de entrada da requisição e a data prevista de entrega dos resultados.

3.1.1. Colheitas

Na sala de colheitas, os técnicos do laboratório confirmam as informações presentes no registo, solicitando que o utente pronuncie o seu nome completo, e anotando na ficha individual do utente informações clínicas relevantes, incluindo qual o motivo dos pedidos de análise (rotina, monitorização de terapêutica, suspeitas de certas patologias etc.), se sofre de alguma doença, nomeadamente diabetes/doenças crónicas, no caso de mulher grávida, qual o

tempo de gestação (semanas), e medicação tomada nos 3 últimos dias (perguntando sempre se toma anticoagulante oral). Anota-se igualmente circunstâncias que surjam durante o processo de colheita (ex. ocorrência de vômito, colheita difícil, recusa de efetuar alguma análise) ou produtos biológicos em falta. Salvo exceções, as colheitas de sangue devem ser realizadas em estado de jejum de pelo menos 8h, por isso deve-se procurar saber se esta condição de facto se aplica. Caso não se trate de colheita de sangue, deve ser referido o local/zona do corpo onde foi efetuada a colheita do produto para exame microbiológico ou de biologia molecular. As fichas de cada utente devem ser acompanhadas pela assinatura do técnico responsável e hora da colheita.

As colheitas de sangue no Laboratório Joaquim Chaves são executadas preferencialmente com o sistema de vácuo *BD Vacutainer*[®], este sistema é o “gold standard” atual pois melhora a qualidade da amostra, a produtividade e fluxo de trabalho no laboratório. Devido às agulhas *BD Eclipse*[™] (Figura 1), o técnico é protegido de potenciais acidentes com agulhas contaminadas no local da punção, imediatamente após remoção da agulha da



Figura 1 - *BD Vacutainer*[®], *Eclipse*[™] (retirado de <http://www.medicaexpo.com/> acedido a 20-02-2016).

veia (momento em que 61% dos ferimentos acontecem) (5). Os tubos de vácuo, de material plástico resistente a químicos e a rutura, estão preparados para receber as amostras, e podem ser diferenciados pelas cores das suas tampas (ilustradas na Figura 2), o que facilita a identificação correta do tipo de tubo a usar, para além de auxiliar na divisão pelos vários sectores do laboratório onde as amostras serão processadas. Por vezes recorre-se ao uso do tradicional conjunto agulha e seringa, útil nomeadamente em colheitas mais difíceis como em crianças e doentes oncológicos, sendo neste caso é colhido o sangue venoso e posteriormente transferido para os tubos, que podem ser de menores volumes (tubos pediátricos).

Dependendo da amostra biológica e respetivos testes solicitados, requer-se o uso de diferentes recipientes, conservantes e aditivos adequados que são utilizados de modo a obter uma amostra devidamente preparada para ser analisada. O técnico deve confirmar se foram recolhidas amostras para todos os recipientes que constam na requisição do utente para que não haja necessidade de repetições de colheita, o que é especialmente inoportuno quando se tem de recorrer a uma técnica invasiva.

Quando se pretende obter amostras de sangue total ou plasma são usados anticoagulantes que impedem a iniciação da cascata de coagulação. A escolha do anticoagulante a usar é importante e depende das análises pedidas.

O anticoagulante EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético) preserva a morfologia e componentes celulares do sangue, por isso é o anticoagulante de eleição para estudos hematológicos e para isolamento de DNA genómico (6).

A Heparina possui propriedades quelantes mínimas e concentração relativamente baixa de catiões, não interferindo significativamente no equilíbrio hídrico. No laboratório existem tubos de heparina de lítio e de sódio e são usados nomeadamente para análises genéticas, gasometria e determinação de iões como cobre e magnésio (6).

Para estudos de coagulação é usado citrato de sódio, pois os efeitos deste anticoagulante são revertidos pela adição de Ca^+ (6).

Para obter soro, o que se pretende é que haja formação de coágulo, logo não é adicionado qualquer tipo de anticoagulante aos tubos. Os tubos usados contêm gel separador e ativador de coágulo. Existe uma vasta gama de análises que podem ser efetuadas no soro nos ramos da bioquímica, imunologia e endocrinologia.

Após punção venosa, a ordem de colheita para os múltiplos tubos deve ser a apresentada neste esquema:

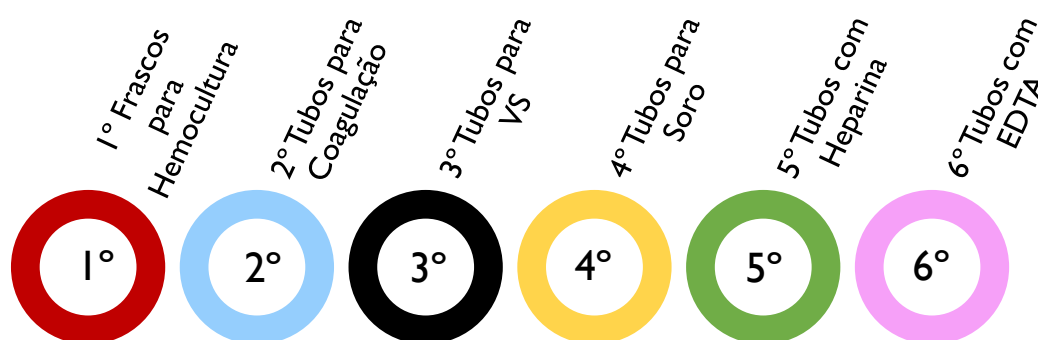


Figura 2 - Ordem de colheita do sangue venoso, com cor das tampas ilustrada.

Após enchimento de cada tubo, estes devem ser homogeneizados por inversões sucessivas (5 a 10 vezes) para correta mistura dos componentes adicionados, um passo importante, que evita formação de coágulos e consequentemente repetições de colheitas. A ordem de colheita é importante para diminuir o risco de potenciais contaminações, por microrganismos e pelos aditivos presentes nos diferentes tubos (4).

Para colheitas como exsudatos vaginais, uretrais, faríngeos, nasais, oculares e auriculares, são usadas zaragoas, quando para posterior realização de exame microbiológico são colocadas num meio de transporte (Stuart). Existem vários kits utilizados, como para pesquisa de Clamídia e teste respiratório para pesquisa de *Helicobacter pylori*. Existem tubos de colheita específicos para pesquisa de sangue oculto nas fezes, coletores para exames parasitológicos, e coproculturas. Para além destes, existem recipientes para colheita de urina e contentores para urina 24h. Os recipientes usados para colheita de urina asséptica são estéreis, existindo conjuntos de coletor/tubo a vácuo com ácido (HCl), usado como conservante. Para que não existam contaminações pela flora normal, a colheita deve ser feita após desinfeção da zona genital e ser recolhido o jato intermédio. Estão também disponíveis frascos para hemocultura Hemoline Diph-F (biomerieux) para aeróbios, frascos estéreis que contêm um meio de cultura nutritivo adequado. Os frascos permitem fazer avaliação qualitativa da presença de bactérias na corrente sanguínea (bacteriemia) e a recuperação de microrganismos (bactérias e leveduras).

Certas análises requerem dietas especiais e/ou procedimentos necessários para a realização da colheita pelo próprio utente, nestes casos, os técnicos devem explicar claramente esses procedimentos ou alimentos a evitar, fornecendo adicionalmente folhetos informativos que contêm as instruções que podem ser consultadas em casa.

Quando existem pedidos não rotineiros ou menos frequentes o técnico deve procurar saber ao certo como deve proceder perante o pedido, assim, é recomendável a consulta do manual de colheitas do laboratório antes de proceder à colheita do produto biológico, evitando assim erros que podem prejudicar a qualidade dos resultados ou necessidade de repetições.

3.1.2. Controlo da Fase Pré-Analítica e Triagem

Aquando da chegada das malas de refrigeração à secção de triagem, contendo as amostras biológicas das colheitas provenientes dos diferentes postos, é medida a temperatura e anotada no registo das temperaturas, não devem ser inferiores a 2°C e superiores a 10°C.

As amostras que assim o exigem são centrifugadas. No caso dos tubos para obter soro, posteriormente a verificar ocorrência da retração do coágulo (ocorre cerca de 1h após colheita) centrifugam-se a 3000 rotações por minuto (rpm) durante 15 minutos. Tubos com citrato de sódio para avaliar parâmetros da coagulação, em que se pretende obter plasma, devem-se centrifugar a 2000 rpm por 10 minutos. Caso seja necessário centrifugar

urinas, para testes de gravidez ou observação de sedimento (manualmente), programa-se 1800 rpm durante 10 minutos.

As amostras são separadas por posto e produto e, após estarem todas registadas no sistema informático, dá-se entrada das amostras na área laboratorial, com auxílio do leitor de códigos de barras, sendo igualmente registadas as informações mencionadas na ficha individual do utente.

São conferidos os dados presentes nas requisições (nome completo, idade e análises pedidas) que devem estar em total conformidade com os do processo do utente, registados no sistema informático. Nesta fase procede-se ainda ao registo de amostras não conformes, amostras em falta e regista-se a entrada de produtos biológicos atrasados.

Conforme as prescrições, caso existam pedidos de testes que não são realizados no laboratório de Faro, separam-se as amostras correspondentes que são enviadas para o laboratório do JCS em Miraflores. Deve ter-se sempre atenção aos requisitos necessários para o processamento dos produtos, por exemplo: tapar tubos com folha de alumínio quando é suscetível alteração pela luz (como bilirrubinas e catecolaminas), e proceder-se ao congelamento imediato de certas amostras (como fibrinogénio e vitamina D).

3.2. Controlo de Qualidade (CQ)

Todos os dias existe uma série de tarefas e procedimentos realizados de forma a assegurar a qualidade dos resultados, estes procedimentos abrangem as fases pré-analítica, analítica e pós-analítica. O Manual de Boas Práticas Laboratoriais (MBPL) do Ministério da Saúde permitiu uniformizar a implementação de qualidade em todos os laboratórios, obrigando o registo escrito de todos os procedimentos implementados, sendo dirigido a todo o pessoal do laboratório, sem exceções. Não são impostos métodos específicos para a cumprimento do controlo de qualidade, tarefa que compete ao diretor técnico de cada estabelecimento, sendo permitida a escolha do método adequado pelas recomendações das sociedades científicas nacionais ou internacionais, podendo ainda ser estabelecidos métodos validados pela própria direção técnica quando o procedimento permite a transferibilidade de resultados (7).

O LACJCA, estando em total conformidade com MBPL e certificado pela *Bureau Veritas Certification*, cumprindo os requisitos da norma NP EN ISO 9001:2015, dispõe todos os procedimentos operativos e métodos em uso escritos (em constante adaptação), datados e validados. Para cada sector e equipamento existem ainda manuais disponíveis para consulta nos respetivos locais de atividade.

O CQ apresenta duas subcategorias, o Controlo de Qualidade Interno e a Avaliação Externa de Qualidade.

3.2.1. Controlo de Qualidade Interno (CQI)

O Controlo de Qualidade Interno (CQI) permite monitorizar e avaliar os processos analíticos, possibilitando detetar anomalias nos métodos e equipamentos usados no dia-a-dia laboratorial, a avaliação dos erros e corrigi-los (7; 8).

A direção técnica do laboratório responsabiliza-se pela elaboração e validação do plano de CQI diário e de manutenção (planos diários, semanais e mensais). Estes planos são mantidos na área laboratorial, neles estão identificadas as rotinas de controlo e manutenção implementadas, a sua periodicidade e critérios para avaliar resultados do controlo.

As amostras usadas como controlo possuem uma concentração conhecida de analitos a testar, numa matriz similar à dos pacientes como soro, plasma ou urina. No entanto, para garantir estabilidade de certos analitos (uma característica essencial numa amostra para realização de QC) é necessária a adição de aditivos e estabilizadores. Outras características essenciais nas amostras controlo são a reprodutibilidade e comportamento

analítico comparável ao das amostras biológicas a analisar, sendo testadas da mesma forma que se tratam as amostras dos utentes (8).

Usam-se controlos de dois ou três níveis, um nível “normal” (dentro dos valores definidos como normais para determinado analito, na população geral), e um ou dois “anormais” (baixo e/ou alto), isto é, contêm concentrações superiores ou inferiores aos valores considerados fisiológicos para o analito em questão. Quando se obtém um resultado que está dentro dos limites aceites, de um desvio padrão relativo à concentração conhecida do analito presente nas amostras do CQ, assume-se que o sistema de análise está estável e a funcionar como esperado (8).

Esta análise de amostras controlo possibilita deteção de erros que afetem tanto os próprios controlos e como as amostras de utentes, tais como a deterioração de reagentes ou configurações de calibração incorretas. Todavia, o CQI não é infalível na previsão de erros analíticos, este não tem impacto quando existem interferentes imprevisíveis em amostras isoladas, como são o caso a presença de coágulos, hemólise, bolhas, ou de substâncias interferentes (8). Prevê-se portanto que os técnicos estejam constantemente alerta para o surgimento destas situações antes de iniciar e durante o processamento de cada amostra, procedendo-se ao registo e resolução adequada destas situações, sempre que detetadas.

3.2.2. Avaliação Externa de Qualidade (AEQ)

O LACJCA participa no Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade, tendo um protocolo estabelecido com o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSRJ), que consiste numa avaliação da qualidade dos resultados fornecidos pelo laboratório. Este controlo é realizado anualmente e abrange todas as áreas laboratoriais, os resultados são reportados dentro dos prazos definidos, o que resulta na emissão de um relatório pelo INSRJ, o qual deve ser reportado aos técnicos envolvidos e ser ponderada a necessidade de ações de formação na sequencia de falhas nas respostas.

3.3. Tratamento de Resíduos

Outra das preocupações em qualquer laboratório de análises clínicas é a forma como se procede à eliminação dos resíduos, em especial quando estes representam risco biológico. Desta forma, o laboratório segue as normas definidas na legislação, definidas pela necessidade da organização e gestão de resíduos hospitalares, tendo em conta o quão importante é a criação de condições para proteção da saúde dos trabalhadores no sector,

bem como da população em geral e preservação ambiental no que respeita ao tratamento de resíduos (9).

Os resíduos hospitalares são diferenciados em quatro grupos, em que são considerados resíduos não perigosos os do grupo I (resíduos equiparados a urbanos) e do grupo II (resíduos hospitalares não perigosos), os quais não necessitam de tratamento especial. São considerados resíduos perigosos os dos grupos III (resíduos hospitalares de risco biológico – contaminados ou suspeitos de contaminação) e IV (resíduos hospitalares específicos – de inceneração obrigatória) (9).

Os contentores que contêm resíduos perigosos do grupo III, pretos com tampa amarela, estão devidamente sinalizados com símbolo de risco biológico e são usados sacos transparentes ou de cores claras. No caso destes resíduos, poderá proceder-se à incineração ou outro pré-tratamento que permita a posterior eliminação como resíduo urbano (9).

Materiais cortantes (como agulhas), considerados resíduos do grupo IV são acondicionados em contentores amarelos pequenos, imperfuráveis e também assinalados com risco biológico, estes resíduos são encaminhados para incineração.

É prestado serviço ao laboratório por uma empresa que se encarrega da recolha e transporte dos resíduos específicos.

3.4. Segurança

No laboratório, devem ser obedecidas as normas e princípios estabelecidos na legislação relativas à segurança num laboratório de análises clínicas, conforme o indicado no MBPL, o “Manual de Segurança Biológica em Laboratórios” da Organização Mundial da Saúde – 3ª edição, 2004; “Regulamento Geral de Higiene e Segurança do trabalho” (Decreto de lei nº.243/86 de 20 de Agosto – I série A); “Sinalização segurança e de saúde no trabalho” (Portaria nº1456-A/95 de 11 de Dezembro), “Prevenção de Feridas provocadas por Dispositivos Medico-perfurantes” (Decreto de Lei 121/2013, 22 agosto). “Exposição a Agentes Químicos” (decreto de Lei nº 84/97 de 16 de Abril- I série A). Muitas destas normas são importantes tanto para a segurança dos próprios técnicos de laboratório como para os utentes e meio ambiente.

4. Fase Analítica: Atividades desenvolvidas

Diariamente, após realização do controlo de qualidade e dada entrada das amostras, estas estão prontas a ser processadas, sendo distribuídas pelos diversos sectores e vários equipamentos existentes no laboratório (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Para cada sector são impressas listas correspondentes ao serviço do dia, contendo a identificação de cada amostra por ordem alfabética e numérica, com os testes a executar especificados e notas previamente inseridas no sistema informático relativas à amostra e ao utente (tais como a presença de soro hemolisado ou lipémico e informações que constem na ficha individual do utente).

A maioria dos sistemas analíticos estão ligados a computadores, havendo transferência de dados em tempo real entre os aparelhos de análise e os computadores inseridos no sistema informático.

Tabela 1 – Valência de Bioquímica Clínica (fotografias do LACJCA).


Sistemas Analíticos	Metodologias e Parâmetros Determinadas
<p data-bbox="363 987 627 1021">Bioquímica Geral</p> 	<p data-bbox="794 947 1046 981"><u>Espectrofotometria</u></p> <p data-bbox="794 1003 1007 1037">Amostra: Soro</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="802 1059 1447 1149">⇒ Glucose, Ferro, Proteína C Reativa de alta sensibilidade (PCR); <li data-bbox="802 1171 1447 1317">⇒ Ficha Lipídica: Triglicéridos, Colesterol Total, Lipoproteína de Alta Densidade (HDL), Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL); <li data-bbox="802 1339 1447 1597">⇒ Avaliação da função hepática: Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransaminase (AST), Gama-Glutamiltransferase (γ-GT) e Fosfatase Alcalina (ALP); <li data-bbox="802 1619 1447 1709">⇒ Avaliação da função renal: Ácido Úrico, Creatinina e Ureia. <p data-bbox="802 1731 1023 1765">Amostra: Urina</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="802 1787 1182 1821">⇒ Ácido Úrico e Creatinina. <p data-bbox="802 1843 1437 1877"><u>Potenciometria indireta, com elétrodos seletivos</u></p> <p data-bbox="802 1899 1015 1933">Amostra: Soro</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="802 1955 1150 1989">⇒ Ionograma: Na^+, K^+, Cl^-.

Figura 3 - ADVIA 1200- Chemistry System (Siemens).

Tabela I - Valência de Bioquímica Clínica (Continuação).**Urinalise - Urina tipo II**
(tiras refrativas Uriflet S 9UB)**Figura 4** - Aution Max – Ax 4030 (Menarini diagnostics).**Amostra:** UrinaTira de reagentes lidas por espectrofotometria

- ⇒ Exame físico: pH, densidade, cor e turvação (três últimas detetadas por refração, reflexão e dispersão da luz);
- ⇒ Exame bioquímico: determinação qualitativa ou semi-quantitativa das proteínas, glicose, corpos cetônicos, pigmentos biliares, hemoglobina, urobilinogenio, nitritos e esterase leucocitária.

Urinalise - Urina tipo II
(Sedimento Urinário)**Figura 5** - SediMax (Menarini diagnostics).**Amostra:** UrinaMicroscopia Automatizada (com centrífuga incorporada)

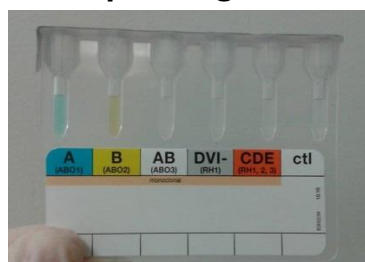
- ⇒ Obtenção de imagens (15 campos). Permite a contagem do total de eritrócitos, leucócitos, células epiteliais, cilindros, bactérias, cristais e leveduras.

Hemoglobina Glicada**Figura 6** - D-10 Hemoglobin A1c Program (BIO-RAD).**Amostra:** Sangue total (com EDTA)Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) por troca iônica (troca de cátions)

- ⇒ Percentagem de Hemoglobina Glicada (HbA1c) no sangue total.

Tabela 2 - Valência de Hematologia (fotografias do LACJCA).

Sistemas Analíticos	Metodologias e Parâmetros Determinadas
<p>Hemograma e estudo de plaquetas</p>  <p>Figura 7- ADVIA 120 Haematology System (Siemens).</p>	<p>Amostra: Sangue total (com EDTA)</p> <p><u>Ensaio Colorimétrico</u></p> <p>⇒ Hemoglobina.</p> <p><u>Dispersão de luz - Citometria de fluxo</u></p> <p>⇒ Análise qualitativa e quantitativa de eritrócitos, plaquetas, leucócitos e suas subpopulações (linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos).</p>
<p>Coagulação</p>  <p>Figura 8 - Sysmex Ca-500 (Siemens).</p>	<p>Amostra: Plasma (com Citrato de Sódio)</p> <p><u>Dispersão de Luz - Turbidimetria</u></p> <p>⇒ Tempo de Protrombina (TP) e Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa).</p>
<p>Velocidade de Sedimentação (VS)</p>  <p>Figura 9 - Ves matic 30 (A. Menarini diagnostics).</p>	<p>Amostra: Sangue total (com Citrato de Sódio)</p> <p>Método de Westergren modificado, com sistema ótico - eletrônico de luz visível</p> <p>⇒ Determinação automática da velocidade de sedimentação dos eritrócitos. Tempo de sedimentação da 1ª hora (28 minutos), 12 minutos em programa de ciclo rápido. Tempo de sedimentação da 2ª hora (45 min) e 15 min em ciclo rápido.</p>

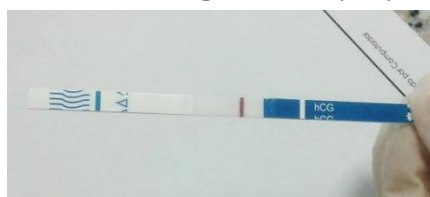
Tabela 2 - Valência de Hematologia (Continuação).**Grupos sanguíneos****Figura 10** - Carta “DiaClon AB0/Rh ID-Card”.**Amostra:** Sangue total (com EDTA)Reação antigénio-anticorpo

⇒ Determinação de grupos sanguíneos, AB0 e sistema Rh (positivo ou negativo).

**Figura 11** - Centrifugadora para cartas dos Grupos Sanguíneos (BIO-RAD).**Tabela 3 - Valência de Imunologia e Endocrinologia (fotografias do LACJCA).****Sistema Analítico****Parâmetros Determinadas****Imunologia e Endocrinologia****Figura 12** - VIDAS 30 (bioMérieux diagnostics).**Amostra:** Soro

Método Imunoenzimático sandwich com detecção final com fluorescência - ELFA (“Enzyme Linked Fluorescent Assay”)

⇒ Determinação de anticorpos e antígenos específicos: β hCG (gonadotrofina coriônica humana), Toxoplasmose (IgG e IgM), Rubéola (IgG e IgM).

Testes de gravidez (tira)**Figura 13** - Tira “NADAL hCG” Exemplo: Teste negativo (1 banda).**Amostra:** Urina

Imunoensaio cromatográfico “two-site immunoassay”

⇒ Detecção de β hCG.

Tabela 4 - Valencia de Microbiologia (fotografias do LACJCA).

Metodologia	Testes realizados
<p><u>Métodos manuais</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Sementeira em meios de cultura e isolamento adequados; ⇒ Observação microscópica a fresco entre lâmina e lamela; ⇒ Observação microscópica de lâminas coradas com Coloração de Gram e Ziehl-Nielsen (para pesquisa de ácido álcool resistentes); ⇒ Testes rápidos de identificação: Oxidase, Catalase, Classe de Lancefield (<i>Streptococcus sp.</i>). 	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Urocultura (em conjunto com observação do sedimento aliado ou não a tiras de teste, dependendo do pedido); ⇒ Pesquisa microbiológica específica ou não específica em exsudados (vaginais, uretrais, faríngeos, nasais, auriculares, purulentos), expetoração e outros produtos como raspados, unhas e cabelos; ⇒ Espermograma: observação entre lâmina e lamela para avaliar a mobilidade, presença de células, leucócitos e eritrócitos. E ainda verificação dos seguintes parâmetros: aspeto; tempo de liquefação; viscosidade; pH e volume.

Métodos Automatizados**Figura 14 - Densichek.**

⇒ Determinação da densidade do inóculo (escala Mc Farland) para antibiogramas.

**Figura 15 - VITEK 2 – Compact** (bioMérieux diagnostics).

⇒ Antibiogramas e identificação de bactérias (bacilos de Gram negativo e cocos de Gram positivo).

Para além dos equipamentos descritos nas Tabelas 1, 2, 3 e 4. O laboratório está equipado com uma câmara de segurança biológica, centrífugadora, vórtex, microscópio ótico, contador manual de células sanguíneas, todos indispensáveis para a eficácia do trabalho laboratorial.

Para garantir a qualidade do funcionamento dos equipamentos existem planos de manutenção a cargo de entidades externas, que emitem um documento que evidencia o cumprimento das ações preestabelecidas e uma apreciação à aptidão do equipamento para retomar ao serviço com ou sem restrições.

Apesar da interdisciplinaridade do estágio, nos próximos capítulos são aprofundadas as valências de Hematologia e Bioquímica, visto que são as duas áreas laboratoriais que abrangem a maior quantidade de análises realizadas no LACJCA, logo, os testes mais pedidos rotineiramente. Assim, em conjunto, podem fornecer um grande número de informações importantes clinicamente.

5. Bioquímica

Nesta secção pretende-se fazer um apanhado dos testes realizados na valência de Bioquímica Clínica no LACJCA, utilidade e significado clínico dos diversos parâmetros, referindo os princípios de funcionamento das metodologias utilizadas para as diferentes determinações analíticas disponíveis.

Dependendo das análises, na secção de bioquímica podem ser realizadas determinações em soro, plasma, líquido cefalorraquidiano ou urina. No entanto, para parâmetros gerais executados no LACJCA, no equipamento ADVIA 1200 é utilizado principalmente soro, sendo apenas dois parâmetros determinados na urina. Os valores de referência utilizados no laboratório estão listados no Anexo II.

5.1. Metabolismo dos Hidratos de Carbono

5.1.1. Determinação da Glicose

Como descrito na Tabela I, o aparelho usado para determinar a maior parte dos parâmetros no sector da Bioquímica é o ADVIA 1200, sendo a maioria dos testes determinados por espectrofotometria, incluindo a glicose.

A espectrofotometria tem como base a medição da intensidade de um feixe de luz emitido dentro de determinado comprimento de onda. Quando um feixe de luz incide numa cuvete que contém a amostra a analisar, é absorvida uma porção da energia e emitida a luz não absorvida, que é transmitida ao detetor, onde o sinal de energia luminosa é convertido em energia elétrica, este valor é registado no computador incorporado. De acordo com a Lei de Beer, é possível estabelecer uma relação diretamente proporcional entre a quantidade de luz absorvida e a concentração de um analito, no presente caso a glicose (10).

A determinação da glicémia (concentração de glicose no sangue) é um dos testes de rotina mais efetuados na bioquímica clínica, e é feita no soro através do método Glicose Hexoquinase II (ver Anexo I). Na urina a glicose é detetada na tira de reagentes (discutida em 5.4.5) (11; 12).

A glicose é a principal fonte para produção energia no organismo, sendo também importante precursora de diversos constituintes (11).

Em condições fisiológicas, a glicémia é mantida entre um intervalo de 70-100 mg/dL em jejum e 70-140 mg/dL duas horas após refeição (13), isto acontece pela ação da insulina, glucagina e adrenalina. Estes analitos são libertados na corrente sanguínea pela influência de

várias condições a que o organismo está sujeito, tais como jejum, uma refeição ou exercício físico intenso (11).

A glicose existente no nosso organismo deriva principalmente da digestão de hidratos de carbono (HC) provenientes da dieta, se a ingestão calórica for superior à energia consumida, ocorre regulação dos níveis de glicose através da sua conversão em formas de reserva, como formação de glicogénio (glicogénese) que é armazenada no fígado e músculo, e em triglicéridos que serão armazenados no tecido adiposo. Quando o consumo de energia excede a ingestão calórica, ocorrem os fenómenos denominados glicogenólise e gliconeogénese, que permitem, respetivamente, a reposição da glicémia através da conversão das reservas de HC (glicogénio), ou a síntese endógena a partir de fontes não glucídicas como aminoácidos, ácido láctico e glicerol (proveniente de triglicéridos) (11).

A doença mais frequente no que diz respeito ao metabolismo dos HC, e a qual se diagnostica através do doseamento de glicose é a Diabetes *Mellitus* (DM), que se manifesta analiticamente por níveis altos de glicose no sangue, devido à sua inadequada utilização pelo organismo. A DM classifica-se em tipo 1 e tipo 2, existindo no entanto outros tipos específicos consequentes de patologias subjacentes. As suas manifestações devem-se, de forma geral, à deficiente produção ou ação da insulina, que em condições normais é produzida em resposta aos níveis elevados de glicose na corrente sanguínea (por exemplo após refeição), com intuito de promover a entrada de glicose nas células, normalizando assim a glicémia (11).

Segundo a norma da direção geral de saúde “Diagnóstico e Classificação da Diabetes *Mellitus*”, um indivíduo é considerado diabético quando os valores da glicémia em jejum são iguais ou superiores a 126 mg/dL (ou $\geq 7,0$ mmol/L); ou quando se manifestam os sintomas clássicos acompanhados por glicemia ocasional ≥ 200 mg/dL (ou $\geq 11,1$ mmol/L); ou quando Glicemia ≥ 200 mg/dL (ou $\geq 11,1$ mmol/L) às 2 horas, na Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO) com 75 g de glicose; ou quando Hemoglobina glicada A1c (HbA1c) $\geq 6,5\%$ (14).

Para confirmação do diagnóstico numa pessoa assintomática, deve ser realizada uma segunda análise, após uma ou duas semanas, não bastando a obtenção de um único valor anormal de glicémia em jejum ou hemoglobina glicada A1c (14).

Existe ainda um estado pré-diabético, denominado hiperglicémia intermédia, em que se considera que o indivíduo tem um maior risco para desenvolver diabetes. Este risco verifica-se quando há anomalia da glicemia de jejum, ≥ 110 e <126 mg/dL (ou $\geq 6,1$ e $<7,0$

mmol/L) ou quando há tolerância diminuída à glicose: glicemia às 2 horas na PTGO ≥ 140 e <200 mg/dL (ou $\geq 7,8$ e $<11,1$ mmol/L) (14).

A determinação de glicose no sangue pode dar outras informações. Apesar de menos comum que a hiperglicemia, existem alguns casos de hipoglicémia. Em geral, a hipoglicémia resulta de uma diminuída taxa de produção de glicose ou um aumento da taxa da sua utilização. Os sintomas associados à hipoglicémia são comuns, tais como tremores, suores, fome, pulsação rápida e náuseas, mas as doenças hipoglicémicas são raras e podem ser bastante perigosas já que, em condições fisiológicas, o cérebro é dependente de glicose para produção de energia e caso se atinjam valores de glicémia muito baixos (< 20 ou 30 mg/dL), pode haver disfunção severa a nível do sistema nervoso central (11).

Os níveis baixos de glicose no sangue podem ocorrer transientemente, sem que haja manifestação de sintomas ou doenças subjacentes. Pode haver hipoglicémia idiopática, porém existem diversas situações em que as causas são conhecidas, uma delas é comum em diabéticos, quando há *overdose* de insulina. Existem ainda casos de hipoglicémia neonatal, em que as causas mais comuns são a prematuridade, diabetes materno, diabetes gestacional e toxemia materna. Quando a hipoglicémia é detetada numa fase inicial da infância pode ter origem em erros metabólicos ou hormonais (11).

Na urina, a glicose é apenas detetada quando os valores de glicemia ultrapassam o limiar renal (cerca de 180 mg/dL), não sendo um teste sensível ou específico para avaliar estados de hiperglicémia (11), existem também disfunções renais que podem levar ao escape de glicose na urina, não associada à sua elevada concentração plasmática.

5.1.2. Prova de Tolerância à Glicose Oral

Para a realização da PTGO, é necessário jejum de 8-12 horas. Esta prova tem duração de duas horas, fazendo-se colheita de sangue venoso em jejum às “0 horas” e após duas horas da administração de uma solução glicosada pré-preparada que contém 75 g de glicose (adultos e crianças com mais de 42 kg), quando é necessário realizar este teste em crianças (com peso até 42 kg, inclusive) é calculada a concentração a administrar de acordo com o peso, administrando-se $1,75$ g de glicose por quilograma de peso corporal (mínimo 10 g e máximo 75 g).

Apesar de ser um método usado para diagnóstico do estado de hiperglicemia intermédia, é também realizado em todas as grávidas (não diabéticas), às 24-28 semanas de gestação caso na primeira consulta da gravidez já não tivesse sido diagnosticada Diabetes Gestacional, que segundo a norma da DGS se verifica quando a glicémia em jejum é igual ou

superior a 92 mg/dl e <126 mg/dl (ou $\geq 5,1$ e <7,0 mmol/l). Nestes casos a PTGO realiza-se com 3 colheitas de sangue venoso, uma em jejum, as outras duas à 1ª hora e 2ª hora após ingestão da solução de 75 g de glicose. É confirmado o diagnóstico de Diabetes Gestacional quando se conferem um ou mais valores (14):

1. Às 0 horas, glicemia ≥ 92 mg/dl (ou $\geq 5,1$ mmol/l);
2. À 1 hora, glicemia ≥ 180 mg/dl (ou $\geq 10,0$ mmol/l);
3. Às 2 horas, glicemia ≥ 153 mg/dl (ou $\geq 8,5$ mmol/l).

A Diabetes Gestacional é de severidade variável, muitas vezes é assintomática e não apresenta riscos de saúde para a grávida, no entanto está associada a um aumento da incidência de mortalidade e morbidade neonatal, sendo por isso importante detetar e tratar/controlar. Está ainda demonstrado que mulheres que apresentam Diabetes Gestacional têm um risco significativamente superior de vir a desenvolver DM futuramente, predominantemente tipo 2 (11).

5.1.3. Hemoglobina Glicada

A determinação *in vitro* da HbA1c, pelo equipamento D-10 Hemoglobin A1c Program, permite obter um cromograma pelo método HPLC por troca iónica (catiões), esta técnica possibilita separar a HbA1c das outras frações de hemoglobina presentes na amostra, que migram numa coluna de cromatografia de acordo com diferenças de carga e, após separação, passam por um fotómetro numa célula de fluxo em que são medidas alterações na absorvância a 415 nm (15). No cromograma, entre outros, obtém-se um pico correspondente à fração A1c, de hemoglobina glicada presente no sangue, este valor é dado em concentração (mmol/mol), percentagem e é também calculada a glicémia média estimada. Num adulto normal a hemoglobina A (HbA) equivale a 97% da hemoglobina total. Ao aplicar campo elétrico, as glicohemoglobinas (HbA1) migram mais rapidamente do que a HbA, das hemoglobinas glicadas a fração A1c é maioritária (80%) (11).

A formação de hemoglobina glicada resulta de uma reação (glicação, que ocorre de forma lenta e irreversível) entre a glicose e os grupos amina livres presentes na hemoglobina dos eritrócitos, a sua concentração é diretamente proporcional à concentração de glicose no sangue. Como os eritrócitos têm uma vida média de 120 dias em circulação, a determinação da percentagem de HbA1c é usada na rotina para monitorizar o controlo glicémico a longo prazo nos diabéticos e deve ser feita, pelo menos, semestralmente. Os resultados são utilizados para medir ainda o risco de desenvolvimento de complicações

associadas à DM, como nefropatia e retinopatia diabética, pois estas estão associadas à glicação de proteínas. Considerando-se maior risco para estas complicações quando os níveis de A1c são superiores a 7% (11;16).

Deve-se ter em conta que os valores de HbA1c podem ser alterados quando existem por exemplo hemoglobinopatias subjacentes, síndromes hemolíticas ou policitemia (16).

5.2. Metabolismo Lipídico

Os lípidos são essenciais em vários processos do organismo, são constituintes de hormonas, servem como fonte de energia, são componentes estruturais da membrana plasmática e auxiliam processos digestivos. No entanto, estão também associados a patologias comuns como doença cardiovascular, enfarte de miocárdio, acidentes vasculares cerebrais e doença vascular periférica (17).

A determinação de concentração de lípidos plasmáticos, essencialmente as determinações de colesterol total e as lipoproteínas LDL e HDL, são muito pedidos na rotina.

5.2.1. Colesterol total

O colesterol existente no organismo é proveniente da dieta (presente somente em produtos animais) e/ou da síntese endógena principalmente a nível do fígado e intestino. A determinação da concentração plasmática tem como principal finalidade o diagnóstico ou seguimento do tratamento de doenças que envolvem excesso de colesterol no sangue e perturbações do metabolismo de lipoproteínas (dislipidémias) (12;17).

Para o doseamento do colesterol total no ADVIA 1200, é utilizado um método enzimático-colorimétrico (descrito no Anexo 1) (12).

5.2.2. Lipoproteínas: LDL e HDL

O colesterol é transportado na corrente sanguínea dentro de lipoproteínas, que são complexos macromoleculares, entre outros constituintes acomodam o colesterol esterificado e têm na sua superfície apolipoproteínas específicas. Existem vários tipos de lipoproteínas, diferenciando-se pelas suas diferentes proporções de lípidos e proteínas, e categorizam-se de acordo com a densidade. As principais lipoproteínas medidas no laboratório são as de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL). Estas determinações são especialmente importantes na avaliação de risco cardiovascular (SCORE - *Systematic Coronary Risk Evaluation*) (17;18).

As LDL são consideradas aterogênicas porque a entrada de colesterol nas células ocorre principalmente devido à sua captação através dos seus recetores de superfície (neste caso apolipoproteína B100). Apesar da importância do colesterol na biogénese de todas as membranas celulares, a existência de mecanismos de homeostasia são essenciais, visto que o seu excesso torna-se tóxico e altera as propriedades biofísicas das membranas. Como a maioria das células do corpo não consegue catabolizar o colesterol totalmente, este pode ser armazenado no espaço intracelular em “bolhas” lipídicas ou transportado pela via de transporte reverso de colesterol (17).

Quando há excesso de colesterol nas células é inibida a expressão do recetor de LDL e induzida a síntese de proteínas envolvidas na via do transporte reverso, que é mediado pelas HDL. Estas lipoproteínas têm na sua superfície maioritariamente apolipoproteínas A-I e permitem a remoção do colesterol das células periféricas retomando-o ao fígado, onde é convertido em sais biliares ou diretamente excretado na bÍlis. Para além desta importante característica, as HDL têm propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticoagulantes, que em conjunto são benéficas para combater a formação de placas ateroscleróticas (17).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crónica e compreende todos os processos que resultam na formação e acumulação de placas (ateromas) no espaço sub-endotelial de artérias, estas placas são constituídas sobretudo de lípidos e células esponjosas (macrófagos que acumularam excesso de colesterol). Com o passar do tempo estas alterações acentuam-se havendo estreitamento das artérias. Para além disso, há tendência para ocorrer rutura das placas ateroscleróticas, com consequente formação de trombos, podendo resultar em obstruções dos vasos e no bloqueio do fluxo sanguíneo, o que culmina em episódios de isquemia (transitórios ou não) e necrose caso o fluxo não seja reestabelecido rapidamente (quando compromete as coronárias, denomina-se enfarte do miocárdio) (17).

O doseamento *in vitro* de LDL e de HDL é feito de forma direta pelo método de eliminação por catalase com reações de ponto final enzimático-colorimétricas, escritas no Anexo I (12).

5.2.3. Triglicéridos

A determinação plasmática de triglicéridos (triacilgliceróis) é muitas vezes realizada em conjunto com os outros lípidos na rotina, mas tem também importância no seguimento de indivíduos diabéticos.

Os triglicéridos são constituídos de três ácidos gordos e glicerol e são excelentes reservas de energia. Cerca de 90% dos lípidos ingeridos na dieta são triglicéridos e, após absorção intestinal são transportados na corrente sanguínea por quilomicrons juntamente com os fosfolípidos e colesterol exógenos. Estas lipoproteínas são as menos densas e contêm maioritariamente os recetores de superfície apolipoproteína B48 e apolipoproteína C-II (17).

O doseamento dos triglicéridos é também feito por reação enzimático-colorimétrica (anexada) (12).

5.2.4. Proteína C-Reativa de Alta Sensibilidade

Não sendo exclusivamente usada na avaliação de problemas no metabolismo lipídico, a proteína c-reativa (PCR) pode ser usada como marcador de doenças cardiovasculares, esta associação é frequentemente devida à inflamação vascular, não estando clara a sua própria participação na aterogénese. A PCR é a proteína de fase aguda mais sensível, um aumento na sua concentração plasmática deve-se a uma resposta inflamatória ou à ocorrência de danos tecidulares. Este é, portanto, um parâmetro inespecífico, ainda assim em conjunto com outras determinações analíticas pode ser útil para diagnóstico ou exclusão de diversos processos patológicos incluindo enfarte do miocárdio e outros como infeções, doenças autoimunes e tumores (17).

Como a PCR está habitualmente presente no plasma em baixas concentrações, são necessárias metodologias altamente sensíveis para a sua quantificação. No laboratório é usada imunoturbidometria intensificada por látex (partículas de látex revestidas com anti-PCR) sendo que a concentração da PCR é função da intensidade da dispersão de luz originada por agregados de látex, a turbidez resultante é medida a 571 nm (12;17).

5.3. Função Hepática

O fígado possui funções digestivas, excretoras e de desintoxicação, armazena e transforma nutrientes e é responsável pela síntese de novas moléculas. A avaliação de alterações hepáticas é por isto importante, tendo repercussões em vários níveis do organismo.

As mais comuns alterações hepáticas são hepatites virais ou não virais (inflamação do fígado) e cirrose (que implica a morte de hepatócitos com substituição por tecido fibroso). Apesar do fígado possuir poder regenerativo, se as lesões hepáticas forem muito extensas a proliferação de hepatócitos pode não ser suficiente para substituir as porções lesadas (19).

Os principais parâmetros laboratoriais que podem ser usados para avaliar o funcionamento do fígado são as enzimas descritas a seguir. Estas são habitualmente pedidas na rotina e normalmente requisitadas em conjunto, o que facilita a realização de diagnóstico diferencial.

5.3.1. Aminotransferases

As aminotransferases, Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST), são enzimas que catalisam a interconversão de aminoácidos pela transferência de grupos amina, alanina e aspartato respetivamente. Estas enzimas têm atividade em vários órgãos incluindo no coração, rins, músculo-esquelético, pâncreas e no fígado. A ALT encontra-se principalmente a nível hepático e renal (com atividades de 2850 e 1200 no fígado e rins respetivamente, em relação ao soro como unidade) e a AST tem uma maior atividade no coração, seguida pelo fígado (com atividades de 7800 e 7100, respetivamente). No entanto, a determinação quantitativa da atividade de ambas enzimas no soro são principalmente feitas para o diagnóstico e acompanhamento de tratamentos de doenças hepáticas, visto terem atividades bastante elevadas no fígado, mas para o diagnóstico é importante ter em conta que quando há alterações nos outros órgãos também se verificam concentrações séricas elevadas de uma ou ambas enzimas, como em casos de distrofia muscular ou na sequência de enfarte do miocárdio, que afetam principalmente concentrações de AST, e ainda quando se está sujeito a determinados medicamentos (20).

As perturbações mais comuns em que há aumento das atividades destas enzimas são as hepatites virais, hepatites alcoólicas, esteatohepatites não alcoólicas e hepatotoxicidade por acetaminofeno, podendo estar também associado a colestase extra-hepática. Nos casos de cirrose, as atividades das aminotransferases variam com a evolução da patologia e a elevação do rácio AST:ALT reflete o grau de fibrose, o que é explicado pela diminuição da produção de ALT no fígado lesado. Assim, é possível diferenciar entre certas patologias e fazer o acompanhamento através do perfil dos resultados e a duração das alterações (20).

A ALT sendo mais específica para lesões no fígado, na maior parte de doenças hepáticas a sua atividade é superior à de AST, excecionando casos de cirrose, hepatite alcoólica e neoplasias.

As aminotransferases podem ainda ser utilizadas como biomarcadores precoces para infeções virais e outras perturbações hepáticas pois as suas concentrações aumentam no soro mesmo antes de haver manifestação de sintomas clínicos (20).

O princípio do método usado para a determinação *in vitro* das atividades de ALT e AST é o da IFCC (Federação internacional de Química Clínica) modificado, são usados como

reagentes L-alanina e L-aspartato respetivamente e conforme a atividade das enzimas a medir será formada maior ou menor quantidade de produtos, neste caso esses produtos reagem com NADH (presente no reagente) sendo medida a sua absorvância, a diminuição da taxa de absorvância será proporcional às atividades das enzimas (equação da reação em anexo) (20).

5.3.2. Gama-Glutamil Transferase (γ -GT)

A Gama-Glutamil Transferase é uma aminácido-transferase que catalisa a transferência de um grupo γ -glutamil presente em péptidos ou outros compostos para uma série de acetores (20).

Esta enzima está presente no citoplasma (em microssomas) e principalmente na membrana celular onde assume funções de transporte de aminoácidos e péptidos para dentro da célula. A sua atividade é maior nos rins, seguidos pelo fígado, pâncreas e intestino. Apesar de maior abundância a nível renal, quando presente no soro a sua origem é predominantemente do sistema hepatobiliar, servindo por isso como bom indicador para diagnóstico de doenças hepatobiliares, sendo uma determinação sensível mas não específica visto que são observadas atividades elevadas em quase todos os casos de doenças hepáticas, independentemente das causas (20).

A atividade de γ -GT sofre maiores subidas (na ordem de 5 a 30 vezes o limite superior de referência) em casos de obstrução intra-hepática ou pós-hepática e em certos casos de metástases neoplásicas no fígado, e podem ser detetadas mais precocemente do que das outras enzimas. As atividades da γ -GT aumentam moderadamente em hepatites infecciosas e, em menores proporções, em pacientes com esteatose hepática. Este parâmetro analítico é também usado na avaliação de doentes com hepatites alcoólicas, nos alcoólicos em geral e em casos de intoxicações por medicamentos. Isto pode ser explicado pela indução da atividade da enzima pelo efeito de drogas/álcool e/ou pelos efeitos tóxicos que estas substâncias têm sobre os microssomas das células hepáticas (20).

No ADVIA 1200 é usado o método de referência modificado (IFCC), em que um substrato sintético atua como recetor do resíduo de γ -glutamil, e é medida a taxa de formação do composto resultante (equação em anexo) (20).

5.3.3. Fosfatase Alcalina (ALP)

A Fosfatase Alcalina (ALP) catalisa a hidrólise alcalina de um vasto número de substratos. Esta enzima está também presente em vários órgãos, mas a elevação dos seus valores no soro ocorre principalmente quando há alterações a nível hepatobiliar ou a nível ósseo, sendo por isso maioritariamente usadas para diagnóstico ou monitorização de tratamentos de patologias destes tecidos (20).

Quando há obstrução biliar (colestase) é induzida a síntese de ALP pelos hepatócitos. A atividade no soro está especialmente elevada em obstruções extra-hepáticas, sendo superior quanto maior o nível de obstrução. Similarmente, em casos avançados de cancro do fígado ou metástases hepáticas também se podem observar valores muito altos. Por outro lado, a atividade de ALP pode estar moderadamente elevada ou até dentro dos limites de referência quando as principais alterações ocorrem nas células do parênquima hepático (por exemplo em casos de hepatites infecciosas) (20).

É possível avaliar alterações ósseas com a medição da atividade da ALP porque os osteoblastos produzem esta enzima, sendo portanto boa indicadora da formação óssea (e por isso está fisiologicamente aumentada em bebés e crianças). Os níveis mais elevados de ALP no soro ocorrem na doença de Paget em que a atividade de osteoblastos está descontrolada. Valores elevados podem ocorrer também quando há deficiência de vitamina D, hiperparatiroidismo primário ou secundário e cancro ósseo. Para além do aumento da atividade da ALP benigna durante a infância, nas grávidas também há um aumento acentuado durante o 3º semestre da gravidez, o mesmo observa-se transitoriamente durante a cicatrização de fraturas ósseas. Existem ainda situações benignas familiares em que há uma superior atividade da enzima no soro em relação à população em geral (20).

Todos estes fatores têm de se ter em conta para avaliar as causas, com atribuição ou não de patologias associadas às alterações de atividade de ALP, devendo fazer-se sempre avaliação em conjunto com as outras enzimas descritas nesta secção (20).

A determinação analítica desta enzima tem também como princípio o método IFCC modificado, em que a ALT hidrolisa um substrato formando um produto corado e a velocidade de formação desse produto é proporcional à atividade da Fosfatase Alcalina, sendo que se faz seguimento da reação por espectrofotometria (equação anexada) (20).

5.4. Função Renal

Os rins são os principais órgãos excretores e têm importantes funções que permitem a manutenção da homeostasia. Uma das suas funções é a filtragem do sangue, retendo células sanguíneas e proteínas enquanto elimina produtos finais metabólicos, moléculas tóxicas e iões em excesso acompanhados por água (mistura a que se denomina urina). Adicionalmente permitem a regulação do volume sanguíneo através da capacidade de produzir urina mais ou menos diluída, a regulação da concentração dos principais iões (Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} e HPO_4^{2-}) no sangue, secretando ainda quantidades variáveis de H^+ para auxiliar a regulação o pH do líquido extracelular (19).

Os rins têm também funções endócrinas, sendo responsáveis pela síntese de eritropoietina que regula a síntese de eritrócitos na medula óssea, sintetizando também vitamina D que é essencial para o manter a homeostasia do cálcio no sangue (19).

As principais determinações analíticas que podem ser usadas para avaliar a função renal são a creatinina, ureia e ácido úrico. O ionograma é principalmente usado para monitorização do equilíbrio eletrolítico, podendo muitas vezes ajudar a perceber o estado da função renal (12;21).

5.4.1. Creatinina

A creatinina é o produto final da decomposição de fosfocreatina, produzida com intuito de ser eliminada na urina. A interconversão entre fosfocreatina e creatina ocorre durante o processo metabólico da contração muscular e cerca de 1 a 2% da creatina livre no músculo é convertida diariamente, de forma espontânea e irreversível, em creatinina. Assim sendo, a quantidade de creatinina produzida diariamente depende da massa muscular do indivíduo e pode ser influenciada pela sua dieta (quantidade de carne ingerida). A produção de creatinina aparenta estar dependente da quantidade circulante, diminuindo a produção quando aumenta a sua concentração sanguínea. Ainda assim, é um bom parâmetro para o cálculo da clearance renal (depuração de creatinina), servindo como marcador da taxa de filtração glomerular (TFG), já que a sua produção é constante e é livremente filtrada a nível glomerular (apenas uma pequena parte é reabsorvida a nível tubular) de modo que, em condições fisiológicas a concentração plasmática mantém-se dentro de limites estreitos e é relativamente constante, permitindo assim auxiliar o diagnóstico e tratamento de doenças renais bem como na monitorização da dialise renal (12;22).

Para a determinação *in vitro* da atividade da creatinina na urina e no soro é utilizada uma modificação do método de Jaffe (em Anexo), que se baseia na reação de ácido pícrico com a creatinina, num meio alcalino, produzindo um complexo corado, a velocidade de

formação desse complexo será proporcional à concentração de creatinina na amostra. O método modificado tem como objetivos corrigir as interferências habituais como da bilirrubina e interações não específicas de proteínas do soro (12).

5.4.2. Ureia

A ureia é um produto do catabolismo de proteínas e aminoácidos (sintetizada a partir da amónia, no fígado, pela ação de enzimas do chamado “ciclo da ureia”) e é predominantemente excretada na urina (90%), sendo filtrada livremente pelos glomérulos e cerca de 40-70% é reabsorvida passivamente a nível tubular. Estas características permitem que a medição de ureia sanguínea seja usada como indicadora da função renal, no entanto está demonstrado que os níveis de creatinina podem fornecer melhores informações. Clinicamente a medição da concentração de ureia em conjunto com creatinina tem especial interesse. As concentrações plasmáticas de ureia de cada pessoa variam consoante vários fatores pré-renais não relacionados com a função renal incluindo dietas ricas em proteínas, reabsorção de proteínas plasmáticas em casos de hemorragias gastrintestinais, aumento do catabolismo proteico, tratamentos com cortisol ou análogos, diminuição da perfusão renal e desidratação. Estas situações podem não afetar significativamente as concentrações de creatinina, havendo elevação do rácio ureia: creatinina. Em casos de obstrução pós-renal ou azotemia, doenças ou falhas renais, ambos os compostos se apresentam elevados, observando-se no entanto maior subida dos níveis de ureia, o que também resulta na elevação do rácio ureia: creatinina. A presença de rácios mais baixos podem dever-se a malnutrição (défice de consumo de proteínas) e doença hepática severa (22).

No laboratório é quantificada a ureia no soro através de uma reação enzimática em que é utilizada urease e glutamato desidrogenase (equações da reação completa em anexo). Neste método ocorre a hidrólise da ureia presente na amostra, regenerando-se amónia. Numa segunda reação, na presença de amónia, haverá oxidação de NADH e a taxa de variação da absorvância é registada (diminui com desaparecimento de NADH), que será proporcional à concentração de ureia (12).

5.4.3. Ácido Úrico

O ácido úrico é um composto azotado, produto do catabolismo dos nucleósidos adenosina e guanosina, a maioria provém da degradação de ácidos nucleicos endógenos e são sintetizadas cerca de 400 mg de ácido úrico diariamente, sendo cerca de 300 mg provenientes da dieta. O ácido úrico encontra-se em pequenas quantidades na urina e a sua excreção envolve uma série de passos. Inicialmente virtualmente todo o ácido úrico presente nos capilares glomerulares é filtrado, porém de seguida é quase inteiramente reabsorvido na porção inicial do túbulo proximal, posteriormente ocorre secreção do ácido úrico para o

lúmen na porção distal do túbulo proximal e vai ocorrer novamente reabsorção. No final apenas 6% a 12% do filtrado inicial é eliminado na urina (22).

Conhecem-se várias patologias que podem provocar aumento (hiperuricemia) ou diminuição (hipouricemia) dos níveis de ácido úrico no sangue. A hiperuricemia é normalmente detetada em análises de rotina, tem diversas causas (algumas desconhecidas) e em geral deve-se a ocorrer maior taxa de formação (como em certas doenças metabólicas hereditárias) ou menor taxa de excreção de ácido úrico (como por consequência de doença renal aguda ou crónica e utilização de diuréticos tiazídicos) (22).

Este parâmetro laboratorial é principalmente usado para investigar a presença de “Gota”, uma doença em que as concentrações de ácido úrico estão muito elevadas, havendo formação de cristais que são depositados nas articulações, o que provoca um intenso processo inflamatório. A Hiperuricemia está também presente em grávidas com pré-eclampsia e o doseamento do ácido úrico plasmático é usado como indicador do grau de severidade (22).

É importante fazer vigilância de doentes hiperuricémicos, mesmo quando assintomáticos, pois hiperuricemia e hiperuricuria podem resultar em doenças renais, que incluem nefropatia com deposição de uratos no parênquima renal, deposição aguda intratubular de cristais de ácido úrico e nefrolitíase (22).

A hipouricemia é bastante menos frequente do que a hiperuricemia, esta pode indicar presença de doença hepática grave em que há diminuição de síntese de purinas ou da diminuição da atividade da xantina oxidase (enzima essencial na sua via catabólica), deficiente reabsorção tubular de ácido úrico, ou um defeito metabólico hereditário (22).

Para fazer o doseamento do ácido úrico no soro e na urina utiliza-se um método enzimático que resulta na formação de um complexo corado (reação em anexo) (12).

5.4.4. Ionograma

Os eletrólitos doseados no LACJCA são os iões mais frequentemente pedidos na rotina: Na^+ , K^+ e Cl^- . Em conjunto estes são uteis para avaliar o equilíbrio eletrolítico que pode estar alterado em várias situações distintas pois a sua regulação é feita através de um conjunto de sistemas incluindo o sistema renal, respiratório, digestivo e tegumentar que por sua vez são controlados pelo sistema nervoso e endócrino (19).

Para a medição dos eletrólitos são usados sensores potenciométricos com eléctrodos seletivos de iões (ISEs), que estão incluídos no sistema analítico ADVIA 1200. A potenciometria consiste na medição da diferença de potencial eléctrico entre dois eléctrodos numa célula eletroquímica. Os eléctrodos estão em contacto com soluções eletrolíticas e conectados por um condutor iónico. Num dos eléctrodos, a solução eletrolítica equivale à

amostra a analisar (ou quando é feita a calibração diária, equivale à solução padrão/calibrador), no outro eletrodo o potencial é fixo, já conhecido (eletrodo de referência). A diferença de potencial assim gerada é proporcional à concentração do íon a medir. Como se tratam de ISEs, cada eletrodo tem uma membrana com permeabilidade para uma espécie iônica específica, sendo utilizados 3 eletrodos no LACJCA (um permeável ao sódio, outro ao potássio e outro ao cloro). Estas medições são simples, rápidas, não destrutivas e podem ser usadas numa ampla variedade de concentrações (12;23).

5.4.4.1. Sódio

Os íons sódio (Na^+) são os cátions extracelulares predominantes (cerca de 90%), têm como função principal a manutenção da distribuição de água e pressão osmótica do fluido extracelular. O organismo carece de apenas 1 a 2 mmol/dia de Na^+ , no entanto numa dieta normal são ingeridos 130 a 260 mmol/dia, sendo o excedente é excretado na urina. A quantidade de sódio que entra no nefrônio depende da TFG e a sua taxa de reabsorção é principalmente determinada pela Aldosterona (uma hormona adrenal), que atua nos túbulos distais e interage com os trocadores de íons Na^+/K^+ e Na^+/H^+ assim, quanto maiores concentrações de aldosterona maior quantidade de sódio é reabsorvida (sempre acompanhado por íons cloreto e água) e conseqüentemente menor quantidade é eliminada na urina (21).

As concentrações de sódio no fluido extracelular não são, na sua maioria, controlados por mecanismos diretos mas sim por mecanismos que respondem à variação da osmolalidade do fluido extracelular e da pressão arterial. Por exemplo, quando há aumento da osmolalidade do sangue (normalmente por consequência de aumento na concentração de Na^+) a neuro-hipófise secreta a hormona antidiurética (ADH) que por sua vez aumenta a reabsorção de água, concentrando assim a urina e diminuindo a osmolalidade do líquido extracelular. Quanto à pressão arterial, esta é controlada pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona. De forma geral, quando por exemplo o rim deteta diminuição da pressão arterial (débito diminuído) aumenta a libertação de renina que por sua vez desencadeia a conversão do angiotensinogenio em angiotensina I, que é convertida em angiotensina II, esta desencadeia a secreção de aldosterona, repondo a volémia (e a pressão arterial simultaneamente) mantendo ao mesmo tempo a osmolalidade (19;21).

O doseamento das concentrações de sódio no sangue é útil no diagnóstico e tratamento de inúmeras doenças que envolvem desequilíbrios eletrolíticos. Quando se verificam concentrações de sódio diminuídas (hiponatremia) as causas principais são perdas

extra-renais como vômitos e diarreia prolongada, ocorrendo para além dessas perdas por exemplo no SIADH (Síndrome de Secreção Inadequada de ADH), por ingestão de elevadas quantidades de água após sudorese intensa ou em casos de hiperglicemia em que há deslocamento de água para os vasos levando à diminuição da concentração de sódio (hiponatremia dilucional). Quando se verifica hipernatremia (em que há aumento das concentrações de Na^+) algumas das causas principais são a administração de soluções salinas hipertônicas, aldosteronismo (secreção inadequada de aldosterona) e perda de água em excesso (como acontece em casos de diarreias e na diabetes insípida) (19).

5.4.4.2. Cloreto

Os íons cloreto (Cl^-) são os aniões predominantes no fluido extracelular, como há forte atração iônica entre aniões e catiões dificilmente se consegue separá-los e por isso os mecanismos de regulação da concentração de catiões também regulam a concentração dos aniões (21).

A determinação da concentração de Cl^- é importante para o diagnóstico diferencial principalmente de desequilíbrios de ácido-base, sendo usado no cálculo do hiato aniônico ($\text{Na}^+ - [\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-]$). A sua medição tem especial importância durante a correção da alcalose hipocalémica e em situações de vômitos prolongados, que diminuem os níveis de Cl^- no sangue (12;19;21).

5.4.4.3. Potássio

O potássio (K^+) é o principal cátion intracelular e as necessidades do organismo são satisfeitas através da dieta. As suas concentrações extracelulares devem ser mantidas num intervalo estreito visto que o seu gradiente através da membrana plasmática influencia o potencial de membrana (aumento nas concentrações extracelulares de K^+ levam à despolarização do potencial de membrana em repouso, a diminuição nas concentrações de K^+ conduzem à hiperpolarização), por esta razão distúrbios na homeostasia do potássio podem ter consequências graves a nível cardíaco e neuromuscular. A eliminação de potássio depende principalmente da aldosterona, dos níveis de Na^+ e K^+ ingeridos e do equilíbrio ácido-base (21).

No ionograma é possível detetar situações de hipocaliémia (níveis de K^+ baixos no sangue) que se devem nomeadamente a situações de alcalose (na compensação há entrada de K^+ nas células por troca de H^+ , havendo também eliminação renal), aumento da perda renal devido a uso de diuréticos excessivos, aldosteronismo ou perdas gastrintestinais. Podem igualmente ser detetadas situações de hipercaliémia (níveis altos de K^+ no sangue) em que uma das possíveis causas é a diminuição da excreção renal (por exemplo na doença de Addison em que há diminuição da secreção de aldosterona). Perante estas situações é

importante ter em conta que a concentração de potássio poderá estar falsamente elevada quando o soro se apresenta hemolisado (pela libertação do potássio do interior das células). Casos de hipercaliémia e de hipocaliémia podem também estar relacionados com a deficiência de insulina (como observado na cetoacidose diabética) ou pela sua administração em excesso nos diabéticos respetivamente, visto que a insulina controla a entrada de K^+ nas células (19;21).

5.4.5. Análise Sumária da Urina

A Análise Sumária da Urina ou Urina tipo II é a urinálise mais frequente na rotina. Esta tem duas componentes que funcionam de forma sequencial e automatizada nos equipamentos Aution Max e Sedimax. Em primeiro lugar, no Aution Max é determinada a densidade (através do índice de refração), turvação (por dispersão da luz), analisada a cor da urina (reflectância) e com a tira de reagentes é feita a determinação qualitativa ou semi-quantitativa (através de reações colorimétricas específicas lidas por espectrofotometria) de pH, proteínas, glicose, corpos cetónicos, pigmentos biliares, urobilinogénio, hemoglobina, nitritos e esterase leucocitária. De seguida, as amostras de urina passam para o 2º aparelho, Sedimax, que faz a análise automática do sedimento, tendo incorporada uma centrifugadora (10 segundos/2000 rpm) e microscópio, o que possibilita a obtenção de imagens de 15 campos que ficam disponíveis no *software* do computador para observação e validação. No sedimento devem ser identificados e semi-quantificados os eritrócitos, leucócitos, células epiteliais, cilindros (hialinos, de leucócitos ou eritrócitos e granuloso), bactérias, leveduras e vários tipos de cristais (ilustrados na Tabela 5) (24;25).

Os resultados da análise sumária da urina são frequentemente utilizados na avaliação de insuficiência renal aguda e doença renal crónica, do grau de hiperglicemia e função hépato-biliar, mas podem também fornecer informações acerca de muitas outras situações. Na Tabela 6 estão algumas das informações que podem ser tiradas desta urinálise.

A observação do sedimento é mais frequentemente usada para auxiliar o diagnóstico de infeções urinárias, verificando presença e grau da piúria (leucocitúria) e bacteriúria. No entanto é também importante para a interpretação dos resultados bioquímicos, por exemplo quando há positividade para “sangue” na tira de reagentes, significa que “heme” está presente na urina, mas só pela observação de eritrócitos no sedimento é que se pode confirmar hematúria, caso houver positividade na tira mas não no sedimento isto pode ser indicativo de fenómenos de hemólise e rbdomiólise ou ter ocorrido lise de eritrócitos pela alcalinidade da urina ou pela sua diluição ($pH > 8.0$ ou densidade $< 1,010 \text{ kg/m}^3$). A

observação do sedimento também tem importância na identificação de risco para litíase renal (conforme o tipo e quantidade dos cristais observados) (25).

Tabela 5 - Tipos de Cristais mais observados no sedimento urinário e seus significados clínicos (25).

Cristais de Oxalato de Cálcio:

Quando em grandes quantidades podem indicar presença de cálculos renais de oxalato de cálcio ou envenenamento por etileno glicol.



Figura 16 - Ilustração de cristais de oxalato de cálcio.

Cristais de Fosfato de Cálcio:

Formam-se em urina alcalina e quando presentes em grandes quantidades podem indicar presença de cálculos renais de fosfato de cálcio.

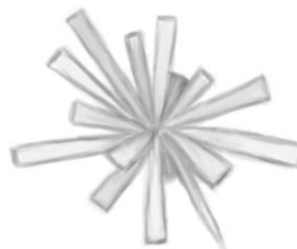


Figura 17 - Ilustração de Cristais de fosfato de cálcio.

Cristais de Ácido Úrico:

Formam-se em urina ácida, quando em grandes quantidades sugerem presença de cálculos renais de ácido úrico ou nefropatias.



Figura 18 - Ilustração de cristais de ácido úrico.

Cristais de Fosfato Triplo:

Formam-se em urina alcalina, podem indicar presença de cálculos renais de estruvite (potenciados por infecção por microrganismo produtor de urease).

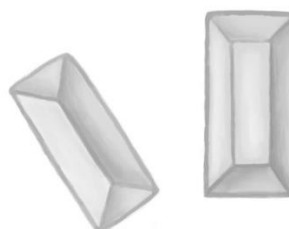


Figura 19 - Ilustração de cristais de fosfato triplo ou estruvite (fosfato-magnésio-amônia).

Tabela 6 - Significados clínicos dos parâmetros da análise sumária da urina (com respetivos valores de referência) (25;26).

Parâmetro	Principais Significados Clínicos
<u>Aspeto da urina</u> Normal: transparente (diluída) a amarelo (concentrada)	Vermelho: hematúria macroscópica; Vermelho escuro ou “coca-cola”: sugestivo de glomerulonefrite; Amarelo escuro/ Laranja: Bilirubinúria; Verde: Sugestivo de infeção por <i>Pseudomonas sp.</i> Turvação: Indicativa de piúria ou cristalúria. Espuma excessiva: Proteinúria.
<u>pH</u> Normal: 5.5 - 6.5	pH baixo (<5.3): Indicativo de acidose metabólica. pH alto (normalmente >7.0): Indicativo de alcalose metabólica; Infeção por microrganismos que possuem urease (como <i>Proteus sp.</i>).
<u>Densidade (kg/m³)</u> 1.003 (muito diluída) - 1.030 (muito concentrada)	Se <1.022 em doente em jejum de 12 horas (comida + bebida), considera-se que há deficiente capacidade de concentração da urina e ~1.010 sugere perda de função tubular. Se >1.022 em doente oligúrico, sugere falha pré-renal. Se <1.010 em doente hipernatrémico, sugere diabetes insipida.
<u>Hemoglobina</u> Normal: negativo (<10 µg/L)	Hematúria: Indicativa de doenças glomerulares; Síndrome nefrítico; Doença renal poliquística; Doenças urológicas; Infeções e litíase renal.
<u>Proteínas</u> Normal: negativo (<20 mg/dL), ou vestígios em urina muito concentrada	Proteinúria: Indicativa de doença renal crónica/ aguda; Nefropatia diabética; Síndrome nefrítico; Pré-eclampsia e eclampsia.
<u>Glucose</u> Normal: negativo (<70 mg/dL)	Glicosúria com hiperglicemia: Indicativa de DM. Glicosúria sem alterações na glicémia: Indicativa de glicosúria renal, associada a disfunção tubular proximal.
<u>Corpos Cetónicos</u> Normal: negativo (<10 mg/dL)	Cetonúria sem cetoacidose: Fome ou dieta com restrição de HC. Cetonúria com cetoacidose: Cetoacidose diabética ou alcoólica.
<u>Pigmentos Bilirrubiares</u> Normal: negativo (<0,6 mg/dL)	Bilirrubinúria: Indicativo de doença hepatobiliar ou hemólise.
<u>Urobilinogénio</u> Normal: negativo (<0,2 mg/dL)	Presença de urobilinogénio: Doença hepática. Presença de bilirrubina sem urobilinogénio na urina é indicativo de obstrução biliar.
<u>Esterase Leucocitária</u> Normal: negativo	Piúria: Indicativa de Infeção do trato urinário. Piúria estéril: Indicativa de Infeção não bacteriana; prostatite; nefrolitíase e glomerulonefrite.
<u>Nitritos</u> Normal: negativo (<0,08 mg/dL)	Nitritos na urina indicam infeção pela presença de bactérias (<i>Enterobacteria</i>) que possuem nitratase (convertem nitratos em nitritos).

5.5. Ferro sérico

O ferro é um nutriente essencial que possui funções importantes no transporte de oxigénio (componente da hemoglobina) e na produção de ATP na cadeia respiratória. Compreende-se por ferro sérico o ferro existente no estado férrico (Fe^{3+}) ligado à transferrina sérica (27).

Aliado a estudos hematológicos, medições de ferritina sérica, capacidade de ligação do ferro e protoporfirinas eritrocitárias permitem caracterizar anemias e outras patologias relacionadas com o metabolismo do ferro. Em muitos casos de deficiência de ferro e de doenças inflamatórias crónicas a concentração de ferro sérico está diminuída, mas isto nem sempre se verifica. As concentrações de ferro sérico estão acima dos valores de referência na presença de hemocromatose, patologia que se caracteriza pela acumulação de ferro no organismo, bem como em anemias aplásticas, hepatites agudas, intoxicações por ferro ou após administração de suplementos (27).

O ferro sérico é determinado no laboratório através de uma reação (em anexo) que permite libertação do ferro da transferrina e sua redução, no estado ferroso é assim combinado com um cromogéneo sendo lida a absorvância final (12).

6. Hematologia

No laboratório LACJCA estão, também, disponíveis equipamentos para a determinação de vários parâmetros hematológicos frequentemente pedidos na rotina. Ao longo desta secção serão descritas as principais metodologias utilizadas para tais determinações e sua aplicabilidade, assim como as principais alterações hematológicas encontradas e seu significado.

O sangue é responsável por uma grande parte de funções essenciais à vida incluindo o transporte de gases, nutrientes, produtos de degradação, várias moléculas reguladoras e intermediárias, possuindo um importante papel na homeostasia que abrange a manutenção do pH, fenómenos osmóticos, manutenção da temperatura corporal, proteção contra substâncias estranhas e reparação de tecidos. Por todas estas razões o seu estudo pode revelar muito sobre o nosso estado de saúde. Num adulto, o tecido sanguíneo compõe 8% do peso corporal e é composto por elementos Figurados (células e fragmentos celulares), que em condições fisiológicas constituem cerca de 45% do volume total de sangue, rodeados por uma matriz líquida, denominada plasma, que constitui os restantes 55% (19).

O processo de produção dos elementos Figurados é chamado hematopoiese (ilustrada pela Figura 20). No início da vida (embrião e feto) esta decorre em vários órgãos e tecidos como saco vitelino e fígado fetal, após o nascimento passa a ocorrer principalmente a nível da medula óssea vermelha (inicialmente com alguma participação de tecidos linfoides, para produção de linfócitos) mas mais tarde, nos adultos, a hematopoiese ocorre na medula óssea vermelha que nesta fase da vida está apenas confinada aos ossos chatos e epífises ósseas (vertebras, costelas, esterno, bacia, fémur proximal e úmero proximal) (19).

Na medula óssea vermelha existe uma população de células estaminais (células indiferenciadas) que são precursoras dos elementos Figurados. De acordo com diferentes fatores de crescimento, as células estaminais hematopoiéticas diferenciam-se em células progenitoras mieloide e linfoide, que dão origem às suas linhagens correspondentes. A linhagem mieloide origina 4 populações, nomeadamente proeritroblastos (que originam eritrócitos), mieloblastos (originam basófilos, eosinófilos e neutrófilos), monoblastos (produzem os monócitos) e megacarioblastos (de onde provêm as plaquetas). A célula progenitora linfoide apenas se diferencia em linfoblastos, que originam linfócitos (19).

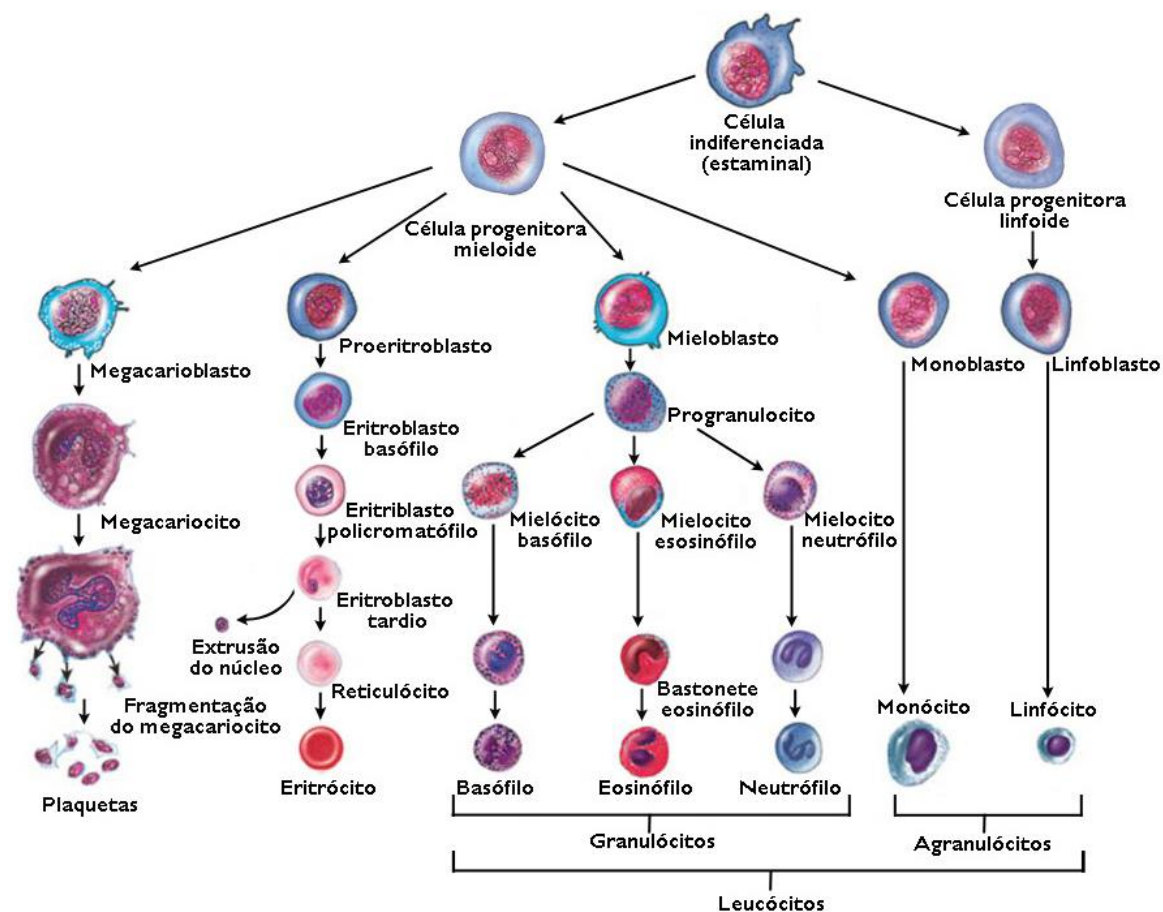


Figura 20 - Representação esquemática da Hematopoiese (células representadas não estão à escala). Adaptado de VANPUTTE C. et al. - *Seeley's Essentials of Anatomy & Physiology*, 2016.

6.1. Anticoagulantes

Anticoagulantes são particularmente importantes para estudos hematológicos, visto que a coagulação impossibilita a contagem e observação de células sanguíneas. Como referido no capítulo 3, é importante utilizar anticoagulantes adequados aos diferentes parâmetros a determinar.

Para estudos hematológicos de rotina os anticoagulantes preferenciais a serem usados são EDTA e citrato de sódio, para contagem de células sanguíneas e testes de coagulação respetivamente (28).

O mecanismo de ação do EDTA baseia-se no seu efeito quelante sobre iões de cálcio, que são essenciais para iniciar o processo de coagulação. Ao colher sangue para os tubos que contêm EDTA é necessário encher o tubo com sangue suficiente para que a concentração de EDTA não ultrapasse 2 mg/ml, isto porque excesso deste anticoagulante resulta na degeneração e diminuição do tamanho das células, levando à diminuição do hematócrito e aumento da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), provocando também

desintegração e aumento de tamanho das plaquetas, o que resulta numa contagem de plaquetas artificialmente alta (28).

Similarmente, o uso do anticoagulante citrato de sódio funciona como quelante de cálcio, no entanto o efeito é revertido quando se adiciona à amostra uma quantidade suficiente de cálcio (6). Neste caso o anticoagulante deve estar presente num rácio de 1:9, este rácio é crítico pois efeitos osmóticos e alterações na concentração de iões de cálcio livres afetam os resultados dos testes da coagulação. Quando o hematócrito é elevado pode ser necessário ajustar este rácio (28).

6.2. Hemograma

Os principais parâmetros avaliados na valência de hematologia são realizados através do analisador hematológico automático ADVIA 120, que permite avaliar qualitativa e quantitativamente a série vermelha e branca do sangue, assim como as plaquetas. Diariamente, após a passagem de 3 níveis de controlo (baixo, normal e alto) e procedimentos de manutenção diários pode iniciar-se o processamento das amostras dos utentes. (29).

Antes de colocar as *racks* com amostras no autoanalisador deve-se ter atenção que o sangue deve estar bem homogeneizado, para além disso, se o aparelho estiver parado há algum tempo, deve passar-se uma amostra (*primer*) no início da *rack*.

Os valores de referência para muitos dos parâmetros são diferentes consoante o sexo e idade, todos os valores de referência usados do LACJCA são listados no Anexo III.

6.2.1. Hemoglobina

A Hemoglobina (Hb) é uma heteroproteína que possui 4 grupos heme (que contêm o ferro, normalmente no estado ferroso (Fe^{2+})) e 2 pares de globina (sendo as cadeias α e β as principais). A Hb está contida nos eritrócitos e níveis suficientes são necessários para assegurar a oxigenação dos tecidos (~98,5% de oxigénio é transportado combinado com a hemoglobina, os restantes ~1,5% são transportados dissolvidos na água presente no plasma) (19;27).

A determinação da concentração de Hb no sangue total é feita no ADVIA 120 através de um ensaio colorimétrico pelo método de referência em que, primeiramente os eritrócitos são lisados (a Hb é libertada) e o ferro do heme é oxidado, passando do estado ferroso ao estado férrico. O Fe^{3+} é combinado com o reagente (cianeto de potássio), formando o produto da reação (cianometahemoglobina) cuja transmitância é lida a 546 nm (29).

Concentração de Hb abaixo dos valores de referência indica que se está perante uma anemia, quando está acima dos valores de referência (bastante mais raro) pode significar

eritrocitose/policitemia (aumento do número de eritrócitos no sangue). Na avaliação dos níveis de Hb é importante ter em conta a volémia porque, conforme o grau de hidratação, a concentração de Hb pode variar (29;30).

6.2.2. Hematócrito

Numa coluna com sangue total centrifugado, o hematócrito (Htc) define-se pela proporção do sangue ocupada por eritrócitos. No método automático obtém-se o hematócrito através do número dos eritrócitos (RBC) e Volume Corpuscular Médio (VCM). Em geral, o hematócrito baixo significa anemia, e alto pode significar policitemia mas, tal como para a concentração de Hb, o Htc também está dependente do volume plasmático assim, um Htc acima dos valores de referência pode verificar-se quando o volume do plasma está diminuído, como acontece em casos de desidratação, uso de diuréticos, em fumadores e alcoólicos (29;30).

6.2.3. Eritrócitos: Análise Quantitativa e Qualitativa

Os Eritrócitos são células vermelhas (glóbulos vermelhos) sem núcleo, com forma bicôncava (permite maior área de superfície que é importante para rapidez nas trocas gasosas), facilmente deformáveis (sendo fácil a passagem pelos vasos sanguíneos de pequeno calibre) e têm diâmetro médio de 7.5 μm . Estas são as células mais numerosas em circulação, nos homens existem cerca de 5.4×10^6 eritrócitos por microlitro de sangue e nas mulheres 4.8×10^6 eritrócitos por microlitro (19;29).

A contagem dos eritrócitos é feita pela deteção da dispersão de luz emitida a dois ângulos diferentes (alto e baixo), originada pela passagem do fluxo das células (uma a uma) pela câmara de fluxo, permitindo simultaneamente obter o número, o volume (ângulo baixo) e o conteúdo de Hb (ângulo alto) das células presentes nas amostras. Os eritrócitos são células bicôncavas facilmente deformáveis, e por isso antes da passagem pela câmara de fluxo, os eritrócitos são isovolumetricamente esferificados, o que permite reduzir o quociente de variação dos sinais da dispersão da luz (31).

Através destas medições são obtidos histogramas para o volume e conteúdo em hemoglobina dos eritrócitos, e são automaticamente calculados vários índices eritrocitários úteis, nomeadamente os apresentados na Tabela 7.

Tabela 7- Alguns índices eritrocitários importantes derivados das determinações diretas no Hemograma (29).

Parâmetro	Cálculo
VCM (Volume Corpuscular Médio)	Média do histograma do volume (HV) dos RBC
DDE/RDW (Índice de Dispersão Eritrocitária /“Red Cell Distribution Width”)	$RDW (\%) = \frac{\text{Desvio padrão do HV dos RBC} \times 100}{VCM}$
HCM (Hemoglobina Corpuscular Média)	$HCM (pg) = \frac{Hb (g/dL) \times 10}{RBC (10^6/\mu L)}$
CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média)	$CHCM (g/dL) = \frac{Hb (g/dL) \times 1000}{VCM \times RBC (10^6/\mu L)}$

Estes índices são principalmente usados para auxiliar na diferenciação dos vários tipos de anemias (mais aprofundados no capítulo 6.4). Conforme a concentração de hemoglobina presente nos eritrócitos (e sendo a hemoglobina que dá a coloração vermelha dos eritrócitos) pode-se classificar anemia hipocrômica (quando CHCM diminuída), normocrômica (CHCM normal) e hiperocrômica (CHCM aumentada). Conforme o volume médio dos eritrócitos são classificadas anemias microcíticas (VCM diminuído), normocíticas (VCM normal) ou macrocíticas (VCM aumentado).

Quando se observa uma grande variação do tamanho dos eritrócitos o RDW está acima do considerado normal e indica presença do fenómeno designado anisocitose, este fenómeno é comum e deve-se à presença de micrócitos, macrócitos ou ambos (29;32).

6.2.4. Plaquetas: Análise Quantitativa e Qualitativa

As plaquetas são fragmentos celulares dos megacariócitos, cada um produz entre 5.000 a 10.000 plaquetas de diâmetro médio de 1,5 - 3 μm . Estas são essenciais para manter a integridade do sistema circulatório, através da sua agregação conseguem selar orifícios em pequenos vasos (que ocorrem com frequência todos os dias), promovendo também a formação de coágulos que ajudam a estancar hemorragias em lesões maiores (19;29;30).

Os parâmetros plaquetários são determinados no mesmo canal de reação dos parâmetros eritrocitários, simultaneamente, e com a mesma metodologia. Os sinais de dispersão de luz do ângulo baixo e alto equivalem, respetivamente, ao volume e ao índice de refração das plaquetas. É aplicado um limite superior, com base no volume, de forma a fazer-se diferenciação entre plaquetas e eritrócitos, no entanto, é compreensível que, mesmo com a precisão característica destes métodos, possam ocorrer situações em que plaquetas gigantes presentes em certas amostras sejam contadas como eritrócitos (29).

Aumento do número das plaquetas (trombocitose) é habitualmente consequente da produção excessiva na medula óssea (doenças mieloproliferativas), sendo também

frequentemente associado a doenças infecciosas e inflamatórias, como osteomielite e artrite reumatoide. Esta situação pode predispor para fenómenos trombóticos (29;33).

A redução do número de plaquetas (trombocitopenia) ocorre essencialmente por aumento da destruição ou deficiente produção de plaquetas, resultando principalmente da presença de autoanticorpos (purpura autoimune), infeção por HIV, certas terapêuticas farmacológicas, quimioterapia e excesso de álcool. Quando a trombocitopenia é grave resulta em hemorragia crónica através de pequenos vasos e capilares sanguíneos (19;29;33).

É importante saber que a contagem de plaquetas pode estar falsamente diminuída (pseudotrombocitopenia) devido a várias situações comuns, nomeadamente à agregação plaquetária e coagulação parcial, que pode ocorrer em colheitas difíceis, ou à presença de anticorpos EDTA dependentes, causando agregação plaquetária ou fenómenos de satelitismo (plaquetas agrupam-se em volta de neutrófilos). Nos casos em que isto se verifique, deve ser repetida a colheita em tubos com citrato de sódio (29;34).

Através dos parâmetros obtidos no hemograma são determinados também os índices plaquetários como VMP (Volume Médio das Plaquetas), Índice de Dispersão Plaquetar (IDP/PDW) e o “Plaquetócrito” que por analogia ao hematócrito permite ter uma indicação do volume de sangue que é ocupado pelas plaquetas circulantes. Assim como os índices eritrocitários ajudam na caracterização de anemias (entre outras patologias), estes ajudam a caracterizar as várias disfunções plaquetárias (35).

6.2.5. Leucócitos: Análise Quantitativa e Qualitativa

Os leucócitos são células esbranquiçadas (glóbulos brancos) nucleadas que têm função imunológica, de proteção do organismo contra invasores externos e de “limpeza”, removendo células mortas através da fagocitose (19).

Como está ilustrado na Figura 20, os leucócitos dividem-se em dois grupos, granulócitos (possuem grânulos grandes, visíveis ao microscópio ótico) e agranulócitos (com grânulos muito pequenos, dificilmente visíveis ao microscópio), sendo denominados de acordo com a sua aparência microscópica no esfregaço sanguíneo corado. Na Tabela 8 estão expostas as características morfológicas e fisiológicas básicas dos granulócitos (basófilos, eosinófilos e neutrófilos) e na Tabela 9 são descritas as características dos agranulócitos (linfócitos e monócitos) (19).

A análise quantitativa e qualitativa dos leucócitos no ADVIA 120 é feita por contagem diferencial automática. O tamanho das células é avaliado por dispersão da luz, e o seu conteúdo por reações citoquímicas. No canal de reação da peroxidase, os eritrócitos são lisados, os leucócitos são fixados e, com a adição de um reagente (substrato), são formados precipitados negros nas células onde a enzima peroxidase está presente (granulações de

eosinófilos, neutrófilos, monócitos e em células imaturas). Assim, é medida a absorvância das células, que será diretamente proporcional à atividade da peroxidase (a maior atividade verifica-se nos eosinófilos, a menor nos monócitos). No canal de reação dos basófilos os eritrócitos, plaquetas e todos os leucócitos (excecionando os basófilos) são lisados, sendo assim possível realizar a contagem de basófilos e a categorização dos leucócitos polimorfonucleares e mononucleares com base na forma e complexidade nuclear que apresentam (36).

Tabela 8 - Classificação dos leucócitos granulócitos (polimorfonucleares) e suas características morfológicas e fisiológicas (19;29;30) (Figuras adaptadas de LÖFFLER H. et al. - *Atlas of Clinical Hematology*, 2005).

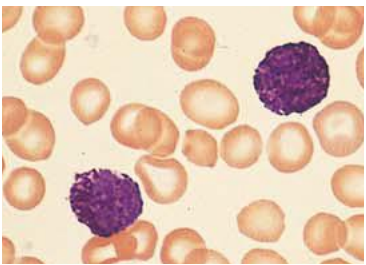
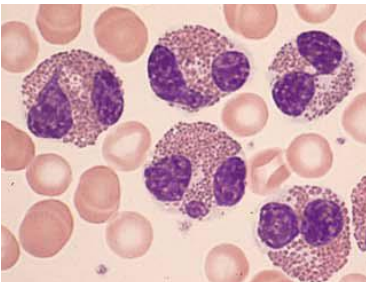
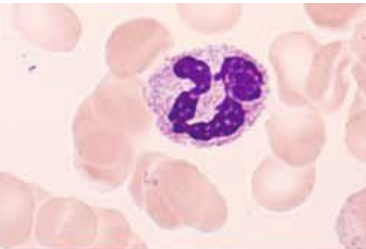
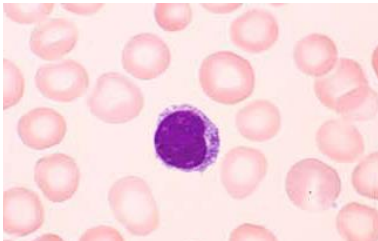
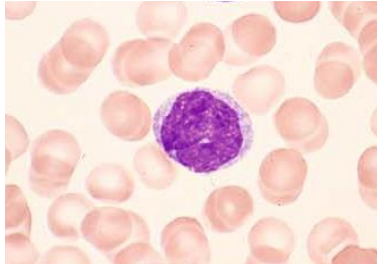
Granulócitos	Morfologia	Fisiologia
<p>Basófilos</p>  <p>Figura 21 - Dois basófilos num esfregaço de sangue periférico (SP), coloração de Pappenheim.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Diâmetro médio: 10-14 μm; ⇒ Lóbulos dificilmente visíveis; ⇒ Grânulos citoplasmáticos grandes que fixam corantes básicos. 	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Representam apenas 0,01-0,3% dos leucócitos circulantes; ⇒ Libertam histamina e outras substâncias promotoras de inflamação; ⇒ Libertam heparina que previne coagulação.
<p>Eosinófilos</p>  <p>Figura 22 - Situação de eosinofilia num esfregaço de SP, coloração de Pappenheim.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Diâmetro: 12-17 μm; ⇒ Núcleo com 2 lóbulos (ocasionalmente 3); ⇒ Grânulos citoplasmáticos fixam corantes ácidos (eosina). 	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Representam cerca de 1-6% dos leucócitos circulantes; ⇒ Associados a respostas inflamatórias em alergias e asma; ⇒ Envolvimento na destruição de parasitas.
<p>Neutrófilos</p>  <p>Figura 23 - Neutrófilo num esfregaço de SP, coloração de Pappenheim.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Diâmetro: 12-15 μm; ⇒ Núcleo com 2- 5 lóbulos; ⇒ Grânulos citoplasmáticos pequenos que coram tanto com corantes ácidos como básicos. 	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Representam cerca de 70% dos leucócitos circulantes; ⇒ Fagocitam microrganismos e outras substâncias estranhas.

Tabela 9 - Classificação dos leucócitos agranulócitos (mononucleares) e suas características morfológicas e fisiológicas (19;29;30) (Figuras adaptadas de LÖFFLER H. et al. - *Atlas of Clinical Hematology*, 2005).

Agranulócitos	Morfologia	Fisiologia
<p>Linfócitos</p>  <p>Figura 24 - Linfócito num esfregaço de SP, coloração de Papanicolaou.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Diâmetro dos linfócitos pode variar entre 10-16 μm; ⇒ Núcleo com cromatina condensada e citoplasma escasso. Mas quando são ativados o citoplasma torna-se mais abundante e a cromatina menos condensada; ⇒ Diferentes tipos de linfócitos normalmente não se distinguem morfológicamente. 	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Representam cerca de 15-20% dos leucócitos circulantes; ⇒ De acordo com o tipo de linfócito (B, T ou <i>Natural Killer</i>) têm diferentes funções incluindo produção de anticorpos, contribuição para reações alérgicas, rejeição de enxertos, regulação do sistema imunitário e controlo tumoral.
<p>Monócitos</p>  <p>Figura 25 - Monócito num esfregaço de SP, coloração de Papanicolaou.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Diâmetro: 12-20 μm; ⇒ Núcleo irregular, frequentemente lobulado, com mais citoplasma do que o linfócito. 	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Representam cerca de 3-8% dos leucócitos circulantes; ⇒ No sangue são células fagocíticas, tornando-se macrófagos quando deixam a circulação.

Os parâmetros leucocitários obtidos no hemograma (valores absolutos e relativos) podem indicar presença de várias situações patológicas, graves ou não.

Quando a concentração de leucócitos total no sangue ultrapassa limites superiores dos valores de referência (para sexo e grupo etário), está-se na presença de leucocitose. Esta não pode ser interpretada sem os valores da contagem diferencial. Quando há aumento dos neutrófilos, é provável que se deva a inflamação e infeções bacterianas, podendo também ocorrer fisiologicamente na gravidez. Em infeções virais observa-se frequentemente aumento dos linfócitos o que também está associado às leucemias mais frequentes. Quando há eosinofilia, é provável que se trate de reações alérgicas ou infeções parasitárias (33).

Caso o número de leucócitos total esteja abaixo dos valores do intervalo de referência, está presente leucopenia. Similarmente, esta deve ser interpretada em conjunto com a contagem diferencial mas, em geral, ocorre em resposta a certas terapêuticas imunossupressoras ou citotóxicas (por exemplo no tratamento do cancro), podendo estar

associada também a certas infecções, doenças autoimunes, bem como situações de *stress*. A leucocitopenia está por vezes associada à diminuição das outras células sanguíneas (pancitopenia) que ocorre, por exemplo, na falência hematopoética (29;33).

6.3. Esfregaço de Sangue Periférico

Sempre que no hemograma se verifiquem anomalias, deve ser considerada a realização e observação de um esfregaço com a amostra de sangue em questão. Esta observação constitui, por um lado uma forma de verificar os resultados da contagem automática, e por outro permite a observação de anormalidades significativas, que nem sempre são identificadas pelos métodos automatizados (29). No LACJCA os esfregaços de SP são principalmente observados para a verificação de resultados dos índices eritrocitários, leucocitários e plaquetários anormais, em que se examinam características morfológicas das células, é realizada a contagem diferencial manual de leucócitos e são detetados agregados plaquetares.

Cada esfregaço é preparado manualmente a partir amostras de sangue total com EDTA, permitindo uma uniforme distribuição das plaquetas (o que pode não acontecer se for utilizado diretamente o sangue “fresco”). Para fazer o esfregaço a amostra deve ser bem homogeneizada, coloca-se uma gota de sangue junto de uma das extremidades de uma lâmina de vidro (identificada), que deve estar bem limpa, posicionando-se outra lâmina encostada a um ângulo aproximado de 25°- 30° e espalhando uniformemente. Um esfregaço ideal é fino, para que se observe as células sem haver sobreposição. Após o esfregaço estar bem seco as lâminas são coradas com o corante de Leishman, uma das versões do método de Romanowsky, que usa azul metileno e eosina (29).

6.3.1. Alterações nos Eritrócitos

Nesta valência tive a oportunidade de observar esfregaços de lâminas de utentes do LACJCA e lâminas preparadas da AEQ, que possuíam uma série de formas anormais (poiquilócitos). Reporto na Tabela 10 alguns achados observados ao longo do estágio, que são muito menos frequentes na rotina do que as já mencionadas situações de hipocromia, microcitose e macrocitose (Figuras 26 e 27).

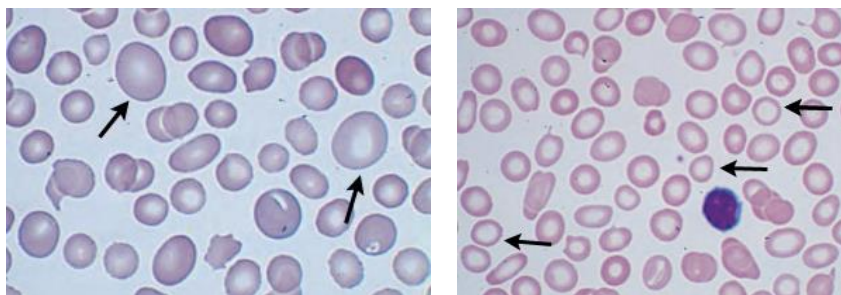


Figura 26 e 27 - Macrocitose (esquerda); Microcitose e Hipocromia (direita). Coloração de Wright. Adaptado de. LONGO D. L. - *Atlas of Hematology and Analysis of Peripheral Blood Smears* em *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 2015.

Tabela 10 - Alterações morfológicas eritrocitárias observadas (29;32).

Achados e Significado	Morfologia no SP
<p>Células em Alvo: Ponto central do eritrócito mais corado do que normal, aparentando um alvo. Esta forma é resultado de haver membrana “em excesso” para o volume celular. Algumas das situações em que podem surgir são em problemas hepáticos, hipo-betalipoproteinemia hereditária e deficiência de ferro.</p>	
<p>Dacriócitos: Os eritrócitos apresentam-se com forma de lagrima, ocorre principalmente na fibrose da medula óssea e deficiência na produção de eritrócitos, em anemias graves.</p>	
<p>Esferócitos: Eritrócitos com forma esférica, não apresentando a forma bicôncava característica. Pode ocorrer diminuição do diâmetro. Esta forma é consequente de anormalidades da membrana e citoesqueleto hereditárias (no caso da esferocitose hereditária) ou adquiridas, podendo ocorrer em vários tipos de anemias hemolíticas.</p>	

Figura 28 - Células em Alvo, coloração de Leishman (fotografado no LACJCA).

Figura 29 - Dacriócitos, coloração May-Grünwald-Giemsa (adaptado de BAIN B. J.- *Blood Cells: A Practical Guide*, 2006).

Figura 30- Esferócitos, coloração de Pappenheim (Adaptado de LÖFFLER H. et al. - *Atlas of Clinical Hematology*, 2005).

Elípticos e Ovalócitos:

Os eritrócitos adquirem forma elíptica ou oval, ocorre principalmente devido a defeitos congênitos na formação do citoesqueleto, como acontece na eliptocitose hereditária. Menor quantidade de elípticos ou ovalócitos é também observada na anemia por deficiência de ferro, entre outras.

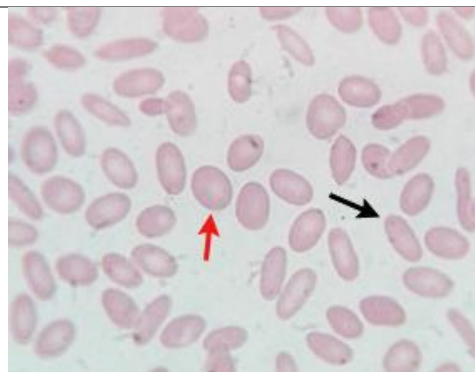


Figura 30 - Ovalócitos (ex. seta vermelha) e elípticos (ex. seta preta), coloração de Leishman (fotografado no LACJCA).

Acantócitos e Equinócitos:

São células espiculadas que diferem morfológicamente pelo tamanho e disposição das espículas que é menor e mais regular nos equinócitos do que nos acantócitos. Os acantócitos surgem habitualmente em doença hepática, alcoolismo e outras doenças que levam ao aumento do colesterol na membrana celular. Os verdadeiros equinócitos são raros, mas são frequentemente confundidos com artefactos que surgem por atraso na realização do esfregaço ou sujeira na lâmina.

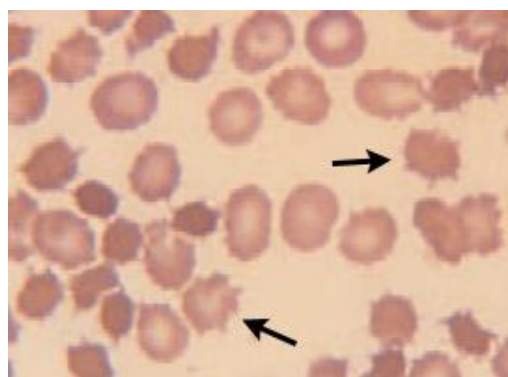


Figura 32 - Acantócitos, coloração de May-Grünwald-Giemsa (Adaptado de BAIN B. J.- *Blood Cells: A Practical Guide*, 2006).

Para além das anomalias descritas e ilustradas podem ser detetadas no esfregaço outras alterações pouco comuns na rotina, muitas delas que pode observar apenas em lâminas preparadas da AEQ, incluindo drepanócitos, estomatócitos, esquizocitos, inclusões eritrocitárias como corpos de Howell Jolly, Heinz e Pappenheimer e ainda presença de parasitas (como *Plasmodium* spp. e *Leishmania* spp.).

6.3.2. Alterações nas Plaquetas e

Leucócitos

As alterações nos eritrócitos são mais variadas e frequentes na rotina, mas também me foi possível observar algumas alterações a nível das plaquetas e leucócitos.

No caso das plaquetas, as alterações mais observadas no esfregaço são a agregação plaquetária

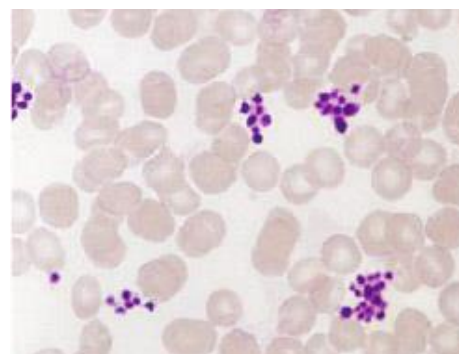


Figura 31 - Agregados plaquetares, coloração de Papanicolaou (Adaptado de LÖFFLER H. et al. - *Atlas of Clinical Hematology*, 2005).

(Figura 33) e diminuição/aumento do número de plaquetas. Deve-se ter em conta que as plaquetas podem funcionar mal sem se apresentarem morfologicamente anormais (33).

Quanto aos linfócitos, deve estar-se alerta para o aumento do número e presença de células precursoras, que podem ajudar a diagnosticar e classificar leucemias (aprofundadas no capítulo 6.5). Uma das alterações morfológicas que se observa mais frequentemente é a presença de linfócitos ativados que estão presentes em infeções virais, os exemplos mais extremos podem verificar-se nos casos de mononucleose infecciosa, provocada pelo vírus Epstein-Barr (29;32).

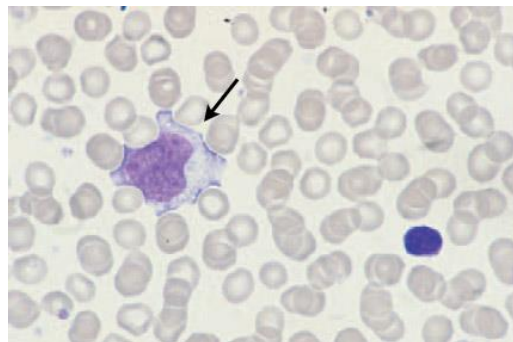


Figura 32 - Linfócito atípico, coloração de May-Grünwald-Giemsa (Adaptado de BAIN B. J. - *Blood Cells: A Practical Guide*, 2006).

6.4. Anemias

As Anemias são os distúrbios mais diagnosticados com base nas análises de rotina e implicam baixos níveis de hemoglobina no sangue, podem surgir por diminuição do número de eritrócitos, diminuição da hemoglobina nos eritrócitos (CHCM baixa) ou ambas as situações em simultâneo. As anemias têm várias causas, para facilitar diagnóstico diferencial podem ser classificadas de acordo com o VCM (resumido na Tabela II). Para desvendar a origem do problema/confirmação do diagnóstico são necessários exames complementares ao hemograma, incluindo doseamento de reticulócitos, testes que avaliam a eficiência do metabolismo férrico e da função renal (mencionados nos capítulos 5.5 e 5.4), e doseamento de vitamina B12 e ácido fólico (essências na hematopoiese) (19;33).

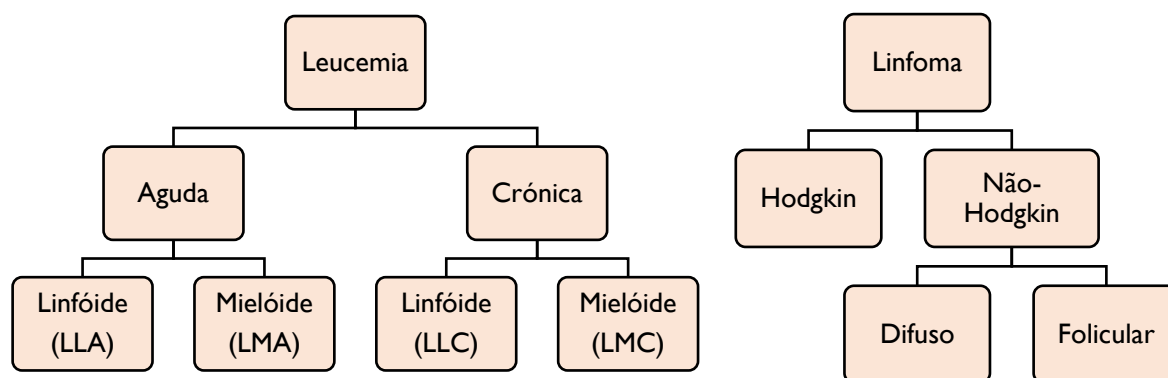
Tabela II - Classificação das anemias com base no VCM (30;33)

VCM ↓ Anemia Microcítica	VCM Normal Anemia Normocítica	VCM ↑ Anemia Macroscítica
<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Deficiência de ferro ⇒ Anemia da doença crónica ⇒ Talassemias 	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Hemorragias ⇒ Hemólise (hemolítica) ⇒ Início de défice nutricional (B12, Ferro, ácido fólico) ⇒ Insuficiência renal 	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ Deficiência de B12 e/ou ácido fólico (megaloblástica) ⇒ Alcoolismo ⇒ Disfunção tiroideia ou hepática

6.5. Neoplasias Hematológicas

Algumas das mais graves e raras situações que se podem encontrar em hematologia são as neoplasias hematológicas. Estas podem afetar todos as linhagens celulares, afetando mais frequentemente linhagens leucocitárias. Quando as neoplasias resultam da proliferação anormal de células na medula óssea, manifestando-se predominantemente no sangue periférico, denominam-se Leucemias. Por outro lado, designam-se Linfomas quando a origem neoplásica primária é nos gânglios linfáticos, sendo “tumores sólidos”, podendo também ter fases leucémicas. Nestes casos, através do exame de esfregaço de SP é apenas possível fazer diagnóstico morfológico preliminar de leucemias. Para fazer diagnóstico definitivo são necessários testes mais sofisticados, como imunofenotipagem e testes citogenéticos, para além do medulograma (ou biopsias dos nódulos linfáticos para linfomas), que não estão disponíveis na maior parte dos laboratórios da comunidade (29;33;37).

As leucemias podem ser genericamente classificadas de acordo com o diagrama da Figura 35, tendo em conta a linhagem celular afetada e predominância de células maduras ou imaturas no sangue periférico e na medula óssea. Os linfomas (Figura 36) dividem-se classicamente nos tipos Hodgkin e Não-Hodgkin (mais comuns) e classificam-se essencialmente com base nos tipos de células e padrão de crescimento no nódulo linfático (37).



Figuras 33 e 34 - Classificação geral de Leucemias e Linfomas.

Leucemias agudas (Figura 37) distinguem-se das crónicas (Figura 38) pela presença de grande quantidade de células imaturas ou blastos no sangue periférico, estas são as formas mais graves, pois a proliferação das células cancerígenas dá-se mais rapidamente, sendo a sobrevida dos doentes inferior (38).

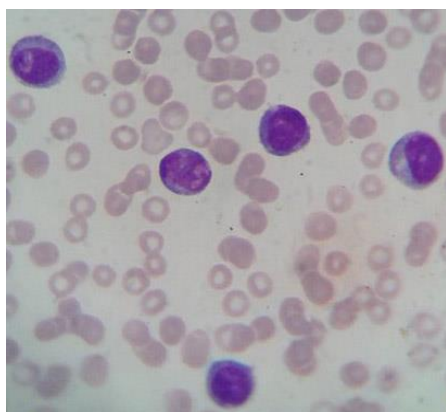


Figura 36 - Leucemia Linfoide Aguda. Coloração de Leishman (fotografado no LACJCA).

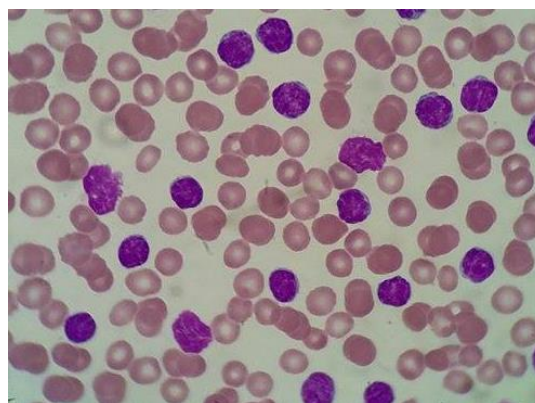


Figura 35 - Leucemia Linfoide Crônica, coloração de Leishman (fotografado no LACJCA).

6.6. Coagulação

Existem vários mecanismos que o organismo põe em prática para prevenir perdas de sangue, desde processos imediatos como a constrição da vasculatura a nível dos pequenos vasos e agregação plaquetária, à formação de coágulos. Os coágulos formam-se com intuito de travar ou minimizar perdas de sangue quando vasos estão severamente danificados, e são constituídos por uma rede de fibrina que aprisiona plaquetas, eritrócitos e fluido. Os fatores de coagulação normalmente presentes no plasma são apenas ativados quando há lesão, pela sua exposição ao tecido conjuntivo ou pela libertação de químicos, como a tromboplastina (fator tecidual), do tecido lesado. Isto vai desencadear a ativação dos restantes fatores ao longo da cascata de coagulação. Quando o fator “Protrombinase” é ativado, este por sua vez converte a protrombina em trombina, culminando na conversão do fibrinogénio em fibrina. Para manter equilíbrio no sistema circulatório existem anticoagulantes em circulação como a heparina e antitrombina, a uma certa distância do ferimento, a concentração dos anticoagulantes sobrepõe-se à dos fatores de coagulação ativados, permitindo que o sangue continue a fluir normalmente (19).

Existem várias situações que podem levar a coagulação ineficaz, nomeadamente disfunção hepática, pois é no fígado que se dá a síntese maioritária dos fatores de coagulação, por défice de vitamina K, que é necessária na síntese de muitos fatores de coagulação, e por défice de Ca^{2+} ou de plaquetas, que também têm papel importante no processo de coagulação (19).

Para estudar a eficácia do processo de coagulação e essencialmente monitorizar terapêutica anticoagulante, que é muito usada em especial nos utentes mais idosos, para além do estudo das plaquetas já referido no capítulo 6.2.4., são realizados testes como o Tempo de

Protrombina (TP) e Tempo de Tromboplastina Parcial ativada (TTPa). O TP mede o tempo que (após adição de Ca^{2+}) o plasma leva a coagular depois da ativação do factor VII (Figura 39), na presença de uma concentração ideal de tromboplastina (recombinada com fosfolípidos). Este teste permite assim avaliar a ação da protrombina e ainda a integridade dos factores V, VII, X e fibrinogénio no plasma. O TTPa avalia o tempo de formação do coágulo pela adição de reagente com concentrações ideais de ativador de superfície e fosfolípidos, que ativa o fator XII sem ativar o fator VII (Figura 39), avaliando assim os fatores dessa via (39;40).

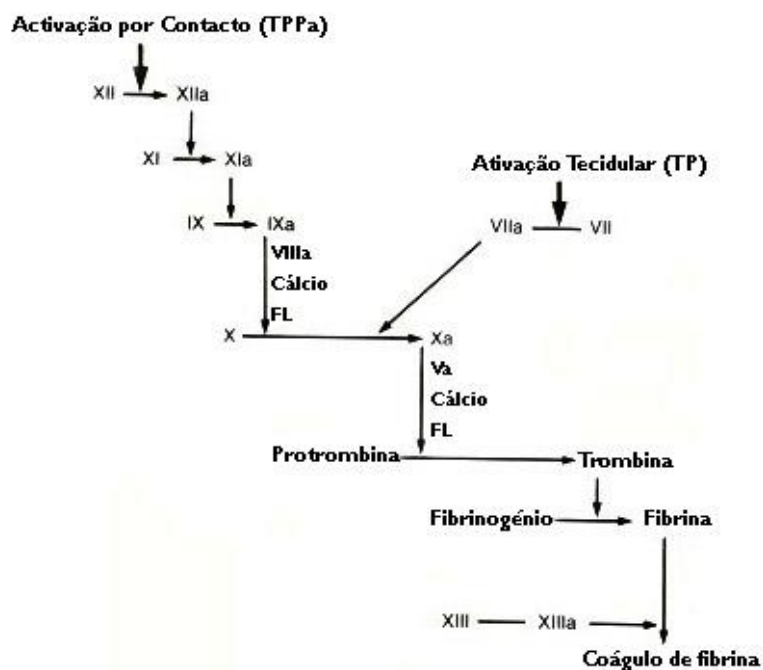


Figura 37 - Clássico modelo da cascata da coagulação (*in vitro*) com indicação da fase em que se iniciam os testes TTPa e TP. FL, Fosfolípidos (mimetizam fatores plaquetários *in vivo*); a, Fator ativado (Adaptado de RABER, M. N., *Coagulation Tests em Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*).

O TP é oficialmente reportado pelo INR (“International Normalised Ratio”) de modo a padronizar os resultados entre laboratórios, o que é especialmente relevante para o controlo de terapias anticoagulantes. Quando este rácio está acima dos valores de referência isto indica que há risco aumentado de hemorragias. O INR é calculado de acordo com a fórmula abaixo, em que ISI corresponde ao Índice de Sensibilidade Internacional (do reagente):

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

A metodologia usada no Sysmex Ca-500 para estes testes de coagulação baseia-se na turbidimetria, sendo possível detetar a formação do coágulo de fibrina pela turbidez originada, aumentando a dispersão da luz.

6.7. Velocidade de Sedimentação

A Velocidade de Sedimentação (VS) é utilizada essencialmente como um marcador de inflamação que, apesar de inespecífico, é muito pedido na rotina para auxiliar diagnóstico médico.

A VS é medida num aparelho automático, Ves-Matic 30, utilizando tubos especiais para sangue total (com citrato de sódio). A metodologia usada é uma modificação do método de Westergren (estima-se a velocidade de sedimentação de eritrócitos numa pipeta de 200 mm posicionada na vertical durante 1 hora, obtendo-se a velocidade expressa em milímetros/hora), a automatização permite processamento muito mais rápido e prático (41).

A VS é influenciada por muitos fatores, estando severamente alterada quando há formação de “rouleaux” (Figura 40) em que os eritrócitos têm tendência a formar “pilhas” (acelerando a sedimentação), o que acontece em estados inflamatórios em que há aumento de proteínas plasmáticas de elevado peso molecular, como imunoglobulinas policlonais, fibrinogénio, α_2 macroglobulina e outras proteínas de fase aguda. Este fenómeno pode acontecer também noutras situações, como na presença de mielomas (aumento de imunoglobulinas monoclonais) e em grávidas (aumento do fibrinogénio) (29;42).

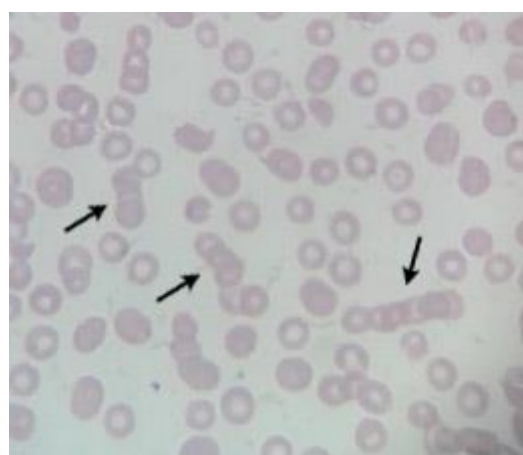


Figura 38 - Fenómeno de "Rouleaux" num esfregaço de SP, colocação de Leishman (Fotografado no LACJCA).

VS dentro de valores de referência não pode excluir a presença de doença, no entanto sabe-se que, na grande maioria, em infeções agudas ou crónicas, neoplasias e doenças degenerativas a sedimentação de eritrócitos é mais rápida. Para além disso, este teste é útil para avaliar a progressão de doenças como artrite reumatoide e tuberculose, tem valor preditivo para desenvolvimento de SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) nos seropositivos e, como aumenta precocemente após enfarte do miocárdio, também pode ser bom indicador em conjunto com os outros marcadores (29;42).

6.8. Grupos Sanguíneos

Os sistemas de classificação dos grupos AB0 e Rh são os de maior importância nos testes de compatibilidade, sendo principalmente relevantes durante a gravidez, para a realização de transplantes e transfusões de sangue (34).

No sistema AB0 (Tabela 12), os grupos sanguíneos são determinados pelo tipo de antígeno à superfície dos eritrócitos (contudo são expressos também noutras células), podendo ser A, B, ambos conjuntamente (AB) ou 0, que se define pela ausência dos antígenos A e B. Na ausência dos antígenos A ou B, são produzidos os anticorpos contra os mesmos, o que se pensa acontecer nos primeiros meses de vida pelo contacto com antígenos presentes em certos microrganismos ou alimentos. É a presença de tais anticorpos que está na origem das rejeições e hemólise intravascular, que ocorrem em casos de incompatibilidade (19;34).

Tabela 12 - Sistema AB0: Antígenos e anticorpos presentes nos eritrócitos.

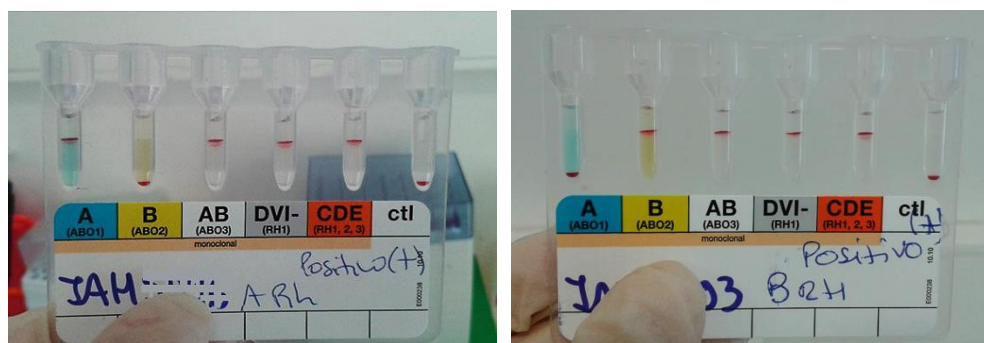
Grupo/ Antígeno	A	B	AB	0
Anticorpos	Anti-B	Anti-A	--	Anti-A e Anti-B

O sistema Rh é mais complexo. Quando se considera Rh-positivo isto significa que o antígeno D está presente à superfície dos eritrócitos, e Rh-negativo significa a ausência do mesmo. Neste caso, os anticorpos são apenas produzidos quando um indivíduo com eritrócitos Rh-negativos são expostos a Rh-positivos, o que pode ocorrer durante a gravidez caso o feto tenha fenótipo diferente da mãe (19;34).

Para além do antígeno D, estão descritos muitos outros, os mais comuns são os antígenos C, c e E, e (podem estar presentes independentemente da presença do RhD). O antígeno D é o mais imunogénico e é composto por vários epítomos e, por vezes, devido a rearranjos génicos podem carecer em alguns, existindo antígenos D parciais. O mais importante dos antígenos D parciais é o D^{VI}, indivíduos com este fenótipo podem produzir anticorpos anti-D contra os epítomos em falta, na sequência de imunização por eritrócitos Rh-positivos fetais ou transfundidos. Desta forma, é necessário atribuir aos eritrócitos do doente com D^{VI} positivo a classificação de Rh-negativo clinicamente (34).

Os testes para conhecer os grupos sanguíneos são considerados testes imuno-hematológicos, sendo que a metodologia usada se baseia no princípio dos testes imunológicos, havendo deteção de complexos antígeno-anticorpo formados. No LACJCA, os grupos sanguíneos são determinados através de cartas de identificação, pela técnica de

aglutinação em coluna, em que é adicionada uma suspensão de concentrado de eritrócitos a cada um dos microtubos da carta, que contém uma matriz de gel com o anticorpo monoclonal específico. Durante a centrifugação (na centrífugadora específica para estas cartas) os eritrócitos livres vão se depositar no fundo dos microtubos enquanto que os eritrócitos que sofrem aglutinação (pela formação de complexos antígeno-anticorpo) ficam aprisionados/fixados no topo do gel, sendo a interpretação fácil, como ilustrado nas Figuras 41 e 42 (43).



Figuras 39 e 40 - “DiaClon ABO/Rh ID-Cards”, com anticorpos monoclonais, da esquerda para a direita: 1ª coluna, grupo A. 2ª coluna, B. 3ª coluna, AB. 4ª coluna, D^{VI} negativo. 5ª coluna, CDE. 6ª coluna, controlo negativo. Fotografia da Esquerda: tipo A, Rh positivo; Direita: tipo B, Rh positivo (fotografado no LACJCA).

7. Fase Pós-Analítica

Na fase pós analítica, compete ao laboratório assegurar a emissão de relatórios com todos os resultados das análises requisitadas dentro dos prazos previstos e em condições de confidencialidade (7).

Nesta fase é necessário ter em conta e avaliar a forma como as situações que surgem durante as fases analítica e pré-analítica influenciam os resultados, já que os erros são arrastados ao longo de todo o processo analítico. Devem por isso ter-se sempre em conta as interferências que podem estar presentes e vir a condicionar a emissão de resultados autênticos. As interferências podem ser exógenas (no caso de certos fármacos) ou endógenas (no caso de lipemia, hemólise e icterícia) e é importante ter conhecimento destas. Rotineiramente, o que mais se verifica são situações de hemólise e lipemia. Na bioquímica, soros hemolisados podem interferir na deteção de certos comprimentos de onda e, em concentrações suficientemente elevadas, a hemoglobina pode inibir atividade da lipase (interferindo na determinação dos triglicéridos). Uma amostra lipémica pode interferir na leitura de analitos doseados por métodos colorimétricos, pois verifica-se aumento da turbidez e dispersão da luz da amostra, para além disso, a presença de grande quantidade de lipoproteínas na amostra provoca deslocamento do volume, o que pode estar na origem de situações de pseudo-hiponatremia, por exemplo. Na hematologia este interferente também pode ser significativo, podendo nomeadamente aumentar falsamente a contagem de plaquetas (44;45;46).

A tarefa da validação dos resultados no laboratório é realizada pelas especialistas em análises clínicas. A validação tem como objetivo dar garantia de que os resultados foram obtidos em condições técnicas adequadas (em conformidade com o MBPL), tendo em consideração resultados do controlo de qualidade interno e possíveis interferentes. Para além disto, deve ser analisada a coerência dos resultados obtidos com a história clínica, resultados anteriores, diagnóstico e terapêutica instituída, sempre que estas informações são fornecidas e relevantes (7).

8. Conclusão

Hoje em dia as análises clínicas têm uma importância indiscutível para a prática médica, mas houve um longo caminho percorrido até chegarmos a este ponto, havendo certamente mais por conhecer e técnicas por aperfeiçoar, sendo neste sentido que se deve encarar o trabalho enquanto técnico ou especialista no laboratório.

Durante o mestrado tive a oportunidade de consolidar conhecimentos anteriormente adquiridos na área das ciências biomédicas, em que obtive bases na maioria das áreas, mas com estudo direcionado essencialmente para a investigação, neste momento sinto que acrescentei bastante valor à minha formação com a realização deste mestrado, permitindo focar-me agora na área do diagnóstico, que sempre me fascinou.

Apesar do LACJCA não realizar muitos dos parâmetros que são apenas realizados a nível hospitalar, foi sem dúvida uma experiência enriquecedora que permitiu ter contacto com as principais áreas no laboratório clínico. Durante o estágio tive a oportunidade de adquirir conhecimentos que não teria sido possível ganhar no contexto de uma aula, nomeadamente sobre o próprio funcionamento do dia-a-dia num laboratório de análises de rotina, desde aspetos técnicos às limitações económicas e burocracia envolvida. Sinto que o estágio e o curso em si me despertou sobretudo para o quão complexos os sistemas biológicos são, havendo sempre necessidade de procurar mantermo-nos atualizados dentro do nosso campo, e como todas as valências da clínica estão interligadas, sendo a interdisciplinaridade uma característica importante para os profissionais nesta área.

Um dos pontos mais importantes que retenho do meu tempo como estagiária é a importância do rigor na realização das tarefas, da comunicação entre os membros da equipa no laboratório e como é essencial admitir os próprios erros, assumindo sempre responsabilidade pelas nossas ações no laboratório.

9. Referências

1. BERGER, D. - **A brief history of medical diagnosis and the birth of the clinical laboratory, Part I — Ancient times through the 19th century.** Medical Laboratory Observer. Vol. 31, nº7 (1999), pp. 28-30, 32, 34-40.
2. JOAQUIM CHAVES SAÚDE - **Dr. Joaquim Chaves, Laboratório de Análises Clínicas.** 2015. [Acedido a: 6 de fevereiro de 2016.] Disponível na Internet: <http://www.jcs.pt/>.
3. PLEBANI, M. - **Quality Indicators to Detect Pre-Analytical Errors in Laboratory Testing.** The Clinical Biochemist Reviews, Vol. 33, nº3 (2012), pp. 85-88.
4. LIPPI, G. et al. - **Preanalytical quality improvement: from dream to reality.** Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Vol. 49, nº 7 (2011), pp. 1113-1126.
5. BD. - **Blood and Urine Collection Products from Vacutainer.** Estados Unidos da America. 2016. [Acedido a: 14 de fevereiro de 2016.] Disponível na Internet: <http://www.bd.com/>
6. YOUNG, D. S.; BERMES, E. W.; HAVERSTICK, D. M. - **Specimen Collection and Other Preanalytical Variables.** In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª edição. St Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2008, ISBN 978-0-7216-3865-2. pp. 42-62,
7. DIÁRIO DA REPÚBLICA: II Série, Nº98. - **Despacho n.º 8835/2001 do Ministério da Saúde.** 27 de Abril de 2001. [Acedido a: 5 de março de 2016.] Disponível na Internet: www.dre.pt.
8. NICHOLS, J. H. - **Laboratory Quality Control Based on Risk Management.** Annals of Saudi Medicine. Vol. 31, nº 3 (2011) pp. 223-228.
9. DIÁRIO DA REPÚBLICA: II SÉRIE, Nº 187. - **Despacho 242/96 do Ministério da Saúde.** 13 de Agosto de 1996. [Acedido a: 5 de março de 2016.] Disponível na Internet: www.dre.pt.
10. KRICKA, L. J.; PARK, J. Y. - **Optical Techniques.** In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. E BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª edição. St. Louis, Missouri : Elsevier, 2008, ISBN 978-0-7216-3865-2. pp. 63-83.
11. SACKS, D. B. - **Carbohydrates.** In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª edição. St. Louis, Missouri : Saunders Elsevier, 2008, ISBN 978-0-7216-3865-2. pp. 373-401.
12. ADVIA CHEMISTRY SYSTEMS, Siemens Medical Solutions Diagnostics - **Métodos e Parâmetros Analíticos Bioquímicos para Sistemas Bioquímicos.** 2007.
13. ASSOCIAÇÃO PROTECTORA DOS DIABÉTICOS DE PORTUGAL - **Portal da Diabetes - Valores de Referência.** APDP, 2016 [Acedido a: 17 de abril de 2016.] <http://www.apdp.pt/>.

14. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE. - **Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus**. Lisboa: DGS, 2011. [Acedido a: 10 de abril de 2016.] Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/>
15. BIO-RAD LABORATORIES. - **D-10 Hemoglobin A1c Program Instruction Manual**. 2010.
16. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE. - **Prescrição e Determinação da Hemoglobina Glicada A1c**. Lisboa: DGS, 2011. [Acedido a: 26 de abril de 2016.] Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/>
17. RIFAI, N.; WARNICK, G. R.; REMALEY, A. T. - **Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiovascular Risk Factors**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª edição. St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier, 2008, ISBN 978-0-7216-3865-2. pp. 402-430.
18. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE. - **Avaliação do Risco Cardiovascular SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation)**. Lisboa: DGS, 2013 [Acedido a: 10 de abril de 2016.] Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/>.
19. VANPUTTE, C.; REGAN, J.; RUSSO, A. - **Seeley's Essentials of Anatomy & Physiology**. 9ª edição. New York : Mc Graw-Hill Education, 2016. ISBN 978-0-07-809732.
20. PANTEGHINI, M.; BAIS, R. - **Enzymes**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. St. Louis, Missouri : Saunders Elsevier, 2008, ISBN 978-0-7216-3865-2. pp. 317-336.
21. SCOTT, M. G.; LEGRYS, V. E.; KLUTTS, J. S. - **Electrolytes and Blood Gases**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª edição. St. Louis Missouri : Saunders Elsevier, 2008, ISBN 978-0-7216-3865-2. pp. 431-449.
22. LAMB, E. J.; PRICE, C. P. - **Creatinine, Urea, and Uric Acid**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª edição. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2008, ISBN 978-0-7216-3865-2. pp. 363-372.
23. D'ORAZIO, P.; MEYERHOFF, M. E. - **Electrochemistry and Chemical Sensors**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª edição. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2008, pp. 84-101, ISBN 978-0-7216-3865-2.
24. A. MENARINI DIAGNOSTICS S.R.L. PORTUGAL. - **Urinálise - new Aution Max**. 2016. [Acedido a: 8 de junho de 2016.] Disponível na Internet: <http://www.menarinidiag.pt/>.
25. MOINUDDIN, I. K.; LEEHEY, D. J. - **Handbook of Nephrology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. pp. 1-13, ISBN 978-1-4511-7547-9.
26. DELANEY, M. P.; PRICE, C. P.; LAMB, E. J. - **Kidney Function and Disease**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª edição. St. Louis, Missouri : Saunders Elsevier, 2008, ISBN 978-0-7216-3865-2. pp. 631-654.

27. HIGGINS, T.; BEUTLER, E.; DOUMAS, B. T. - **Hemoglobin, Iron and Bilirubin**. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª edição. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2008, ISBN 978-0-7216-3865-2. pp. 509-526.
28. JURY, C.; NAGAI, Y.; TATSUMI, N. - **Collection and Handling of Blood**. In: BAIN, B. J. et al. Dacie and Lewis, Practical Haematology. 11ª edição. s.l. : Elsevier, Churchill Livingstone, 2011, ISBN 978-0-7020-3408-4. pp. 1-9.
29. BAIN, B. J. - **Blood Cells: A Practical Guide**. 4ª edição. Massachusetts, USA: Blackwell publishing, 2006, ISBN 978-1-4051-4265-6.
30. BEST PRACTICE ADVOCACY CENTRE NEW ZEALAND. **Complete Blood Count. BPAC NZ**, 2008. [Acedido a: 13 de junho de 2016.] Disponível na Internet: <http://www.bpac.org.nz/>.
31. KIM, Y. R.; ORNSTEIN, L. - **Isovolumetric Sphering of Erythrocytes for More Accurate and Precise Cell Volume Measurement by Flow Cytometry**. Citometry. Vol. 3, nº 6 (1983), pp. 419-427.
32. BAIN, B. J. - **Blood cell morphology in health and disease**. In: BAIN, B. J. et al. Dacie and Lewis Practical Haematology. 11ª edição. s.l. : Elsevier, Churchill Livingstone, 2011, ISBN 978-0-7020-3408-4. pp. 69-100.
33. BATES, I.; BAIN, B. J. - **Approach to the diagnosis and classification of blood diseases**. In: BAIN, B. J. et al. Dacie and Lewis Practical Haematology. s.l. : Elsevier Churchill Livingstone, 2011, ISBN 978-0-7020-3408-4. pp. 549-562.
34. REGAN, F. - **Blood cell antigens and antibodies: erythrocytes, platelets and granulocytes**. In: BAIN, B. J. et al. Dacie and Lewis Practical Haematology. 11ª edição. s.l. : Elsevier Churchill Livingstone, 2011, ISBN 978-0-7020-3408-4. pp. 483-517.
35. BRIGGS, C.; BAIN, B. J. **Basic haematological techniques**. In: BAIN, B. J. et al. Dacie and Lewis Practical Haematology. 11ª edição. s.l. : Elsevier Churchill Livingstone, 2011, ISBN 978-0-7020-3408-4. pp. 23-56.
36. BRAGA, D. S. **Contagem Globular Automática: Parâmetros Avaliados**. Porto : [s,n], 2014. Monografia de Mestrado.
37. LONGO, D. L. - **Malignancies of Lymphoid Cells**. In: KASPER, D. L. et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 19ª edição. s.l. : Mc Graw Hill Education, 2015, ISBN 978-0-07-180216-1. pp. 695-710.
38. MARCUCCI, G.; BLOOMFIELD, C. D. - **Acute Myeloid Leukemia**. In: KASPER, D. L. et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. s.l. : Mc Graw Hill Education, 2015, Vol. 19ª edição, ISBN 978-0-07-180216-1. pp. 678-687.
39. RABER, M. N. - **Coagulation Tests**. In: WALKER, H. K.; HALL, W. D.; J. W. HURST. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3ª edição. Boston: Butterworths, 1990, ISBN 0-409-90077-X [Acedido a: 13 de julho de 2016] Disponível na Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/>.

40. LAFFAN, M. E MANNING, R. - **Investigation of haemostasis**. In: BAIN, B. J. et al. Dacie and Lewis Practical Haematology. 11^a edição. s.l. : Elsevier Churchill Livingstone, 2011, ISBN 978-0-7020-3408-4. pp. 393-445.
41. INTERNATIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY (Expert Panel On Blood Rheology) - **ICSH recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation rate**. Journal of Clinical Pathology. Vol. 46, n° 3 (1993), pp. 198-203.
42. OSEI-BIMPONG, A.; BURTHEM, J. - **Supplementary techniques including blood parasite diagnosis**. In: BAIN, B. J. et al. Dacie and Lewis Practical Haematology. 11^a edição. s.l. : Elsevier Churchill Livingstone, 2011, ISBN 978-0-7020-3408-4. pp. 101-121.
43. LAPIERRE, Y., et al. - **The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions**. Transfusion. Vol. 30, n° 2 (1990), pp. 109-113.
44. KROLL, M. H.; J., ELIN R. - **Interference with Clinical Laboratory Analyses**. Clinical Chemistry. Vol. 40, n° 11 (1994), pp. 1996-2005.
45. SAIBABA, K. S. S., et al. - **Interferences in Clinical Chemistry Analysis**. Indian Journal of Clinical Chemistry. Vol. 13, n°2 (1998), pp. 55-62.
46. CANTERO, M.; CONEJO, J. R.; JIMÉNEZ, A. - **Interference from lipemia in cell count by hematology analyzers**. Clinical Chemistry. Vol. 42, n°6 (1996), pp. 987-988.

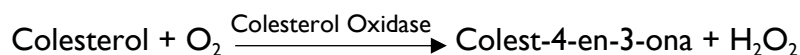
10. Anexos

Anexo I. Equações das reações que ocorrem nas determinações dos principais parâmetros da Bioquímica Clínica - sistema ADVIA 1200 (12):

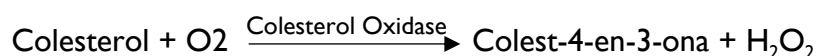
<p>1- Glicose (Hexoquinase II)</p> $\text{Glicose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Hexocinase}} \text{Glicose-6-Fosfato} + \text{ADP}$ $\text{Glicose-6-Fosfato} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{G6PD}^*} \text{6-fosfogluconato} + \text{NADH} + \text{H}^+$ <p>Faz-se leitura da absorvância (340/41 nm) após adição do 1º reagente e após 2º, a diferença da absorvância é proporcional à concentração da glicose na amostra.</p> <p>* Glicose-6-fosfato Desidrogenase</p>
<p>2- Colesterol Total</p> $\text{Éster de Colesterol} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Colesterol Esterase}} \text{Colesterol} + \text{Ácidos Gordos}$ $\text{Colesterol} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Colesterol Oxidase}} \text{Colest-4-en-3-ona} + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fenol} + \text{4-Aminoantipirina} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Quinoneimina} + \text{H}_2\text{O}$ <p>A absorvância do complexo corado formado (Quinoneimina) é lida a 505/694 nm, sendo proporcional à concentração do colesterol total na amostra.</p>
<p>3- Colesterol LDL Direto</p> <p>1ª Fase: eliminação do colesterol associado a todas as lipoproteínas excepto a LDL através de uso de um surfactante seletivo. A catalase presente no 1º reagente remove o peróxido gerado.</p> $\text{Éster de Colesterol} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Colesterol Esterase}} \text{Colesterol} + \text{Ácidos Gordos}$ $\text{Colesterol} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Colesterol Oxidase}} \text{Colest-4-en-3-ona} + \text{H}_2\text{O}_2$ <p>2ª Fase: Quantificação específica do LDL. 2º Reagente adicionado com outro surfactante liberta o colesterol da LDL e a azida sódica inibe catalase.</p> $\text{Éster de Colesterol} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Colesterol Esterase}} \text{Colesterol} + \text{Ácidos Gordos}$ $\text{Colesterol} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Colesterol Oxidase}} \text{Colest-4-en-3-ona} + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{4-aminoantipirina} + \text{TOOS}^* \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Quinoneimina} + \text{4H}_2\text{O}$ <p>A absorvância do complexo corado formado (Quinoneimina) é lida a 596 nm e é proporcional à concentração de LDL na amostra.</p> <p>*N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilnilina</p>

4- Colesterol HDL Direto

1ª Fase: Similarmente à reação 3. As partículas não-HDL são eliminadas pela ação de surfactante seletivo e catalase remove o peróxido formado no final.

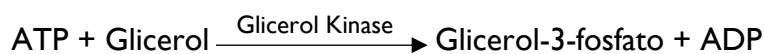
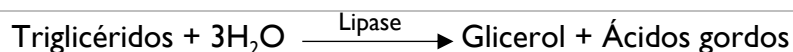


2ª Fase: HDL libertado por ação do segundo reagente e a azida sódica inibe catalase.

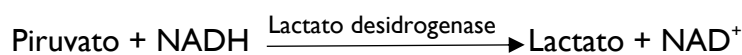


A absorvância do complexo corado (iminoquinona) é lida a 596nm e é proporcional à concentração de HDL na amostra.

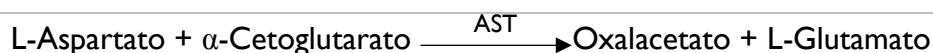
*N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)- 3,5- dimetoxiamilina

5- Triglicéridos

É lida a absorvância do complexo corado (Iminoquinona) a 505/694 nm, sendo proporcional à concentração de triglicéridos na amostra.

6- ALT (Método IFCC modificado)

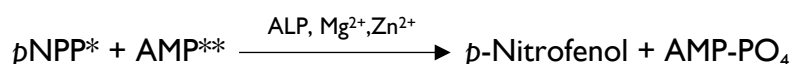
A diminuição da taxa de absorvância (lida a 340/410 nm) é proporcional à atividade da ALT.

7- AST (Método IFCC modificado)

A diminuição da taxa de absorvância (lida a 340/410 nm) é proporcional à atividade da AST.

8- γ -GT (Método IFCC modificado)

A taxa de formação do 5-amino-2-nitrobenzoato (medido a 410/470nm) é proporcional à atividade de γ -GT.

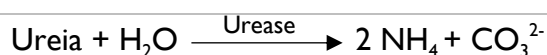
9- ALP (Método IFCC modificado)

Velocidade de formação do p-Nitrofenol (composto corado), medida a 410/478nm, é proporcional à atividade da ALP presente na amostra.

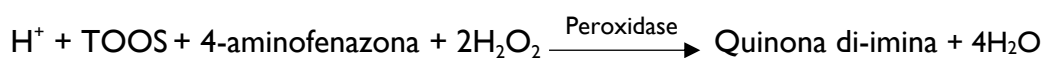
*para-Nitrofenilfosfato; ** 2-amino-2-metil-1-propanol

10- Creatinina (Método de Jaffe modificado)

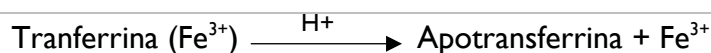
Absorvância do complexo corado (Creatinina-Picrato) é lida a 505/571 nm, é proporcional à concentração de creatinina.

11- Ureia

A diminuição da taxa de absorvância (lida a 340/410 nm) é proporcional à concentração de Ureia.

12- Ácido Úrico

A absorvância do complexo corado formado (Quinona di-imina) é lida a 545/694 nm e é proporcional à concentração de ácido úrico na amostra.

13- Ferro

Absorvância do complexo corado $\text{Fe}^{2+}/\text{Ferrozina}$ é lida a 571/658 nm e é proporcional à concentração de ferro (Fe^{3+}) na amostra.

Anexo II. Valores de referência usados no LACJCA para a valência de Bioquímica Clínica.

ANALITO	VALORES DE REFERÊNCIA
Glicose	50-100 mg/dL
Hemoglobina Glicada	5,7-6,4% Risco de DM: >6,4% IFCC: 20-42 mmol/mol
Colesterol total	Adulto: < 200 mg/dL Criança/ Adolescente: 170 mg/dL
Colesterol LDL	≤130 mg/dL
Colesterol HDL	>40 mg/dL
Triglicéridos	Adulto: ≤ 150 mg/dL Criança: ≤ 90 mg/dL
PCR	Adulto: ≤ 0,500 mg/dL Recém-Nascido: ≤ 0,160 mg/dL
ALT	Homem: ≤ 45 U/L Mulher: ≤ 34 U/L Criança: ≤ 45 U/L
AST	Homem: ≤ 40 U/L Mulher: ≤ 35 U/L Criança: ≤ 48 U/L
γ-GT	Homem: < 55 U/L Mulher: < 38 U/L Criança: ≤ 6 meses: < 204 U/L 7 meses - 12 anos: < 30 U/L >12 anos: < 40 U/L
ALP	< 20 anos: 40-371 U/L ≥ 20 anos: 35-136 U/L Grávida (3 ^a trimestre) < 408 U/L
Creatinina: Soro	Homem: ≤1,30 mg/dL Mulher: ≤1,10 mg/dL Criança: ≤1,0 mg/dL
Creatinina: Urina	Homem: 800-2000 mg/dia Mulher: 600-2800 mg/dia
Ureia	≤50 mg/dL
Ácido Úrico: Soro	Homem: 3,5-7,2 mg/dL Mulher: 2,6-6,0 mg/dL Criança: 2,0-5,0 mg/dL
Acido Úrico: Urina	250-750 mg/dia
Sódio e Cloreto	Adulto: 136-145 mEq/L Criança: 138-146 mEq/L Recém-Nascido: 133-146 mEq/L
Potássio	Adulto: 3,5-5,5 mEq/L Criança: 3,4-5,3 mEq/L Recém-Nascido: 3,7-5,9 mEq/L
Ferro Sérico	Homem: 59-158 µg/dL Mulher: 37-145 µg/dL Criança: 36-184 µg/dL

Anexo III. Valores de referência usados no LACJCA para a valência de Hematologia.

PARÂMETRO	VALORES DE REFERÊNCIA
Hemoglobina	Homem: 13,6-16,5 g/dL Mulher: 11,5-16,0 g/dL Criança: 11,0-14,0 g/dL
Htc	Homem: 39,8-52,0 % Mulher: 34,7-46,0 % Criança: 30,0-52,0 %
RBC	Homem: 4,30-6,40 $\times 10^3$ células/ μ L Mulher: 3,90-5,20 $\times 10^3$ células/ μ L Criança: 3,80-5,90 $\times 10^3$ células/ μ L
VCM	Homem: 80,0-97,0 fL Mulher: 80,0-97,0 fL Criança: 72,0-114,0 fL
RDW	11,5 – 15,0 %
HCM	Adulto: 26,0-34,0 pg Criança: 25,0-37,0 pg
CHCM	Adulto: 32,0-36,0 g/dL Criança: 29,0-37,0 g/dL
Número de Plaquetas	140-440 $\times 10^3$ células/ μ L
Plaquetócrito	0,15-0,42 %
VMP	6,5-12,4 fL
PDW	25,0-65,0 %
Leucócitos totais	Adulto: 4,0-10,0 $\times 10^3$ células/ μ L Criança: 6,0-15,0 $\times 10^3$ células/ μ L
Basófilos	0,4% -1% Adulto: < 0,3 $\times 10^3$ células/ μ L Criança < 0,6 $\times 10^3$ células/ μ L
Eosinófilos	1 - 3% Adulto: < 0,3 $\times 10^3$ células/ μ L Criança: < 1,2 $\times 10^3$ células/ μ L
Neutrófilos	50-70% Adulto: 1,5-8,0 $\times 10^3$ células/ μ L Criança: 1,0-10,0 $\times 10^3$ células/ μ L
Linfócitos	25-35% Adulto: 0,8-4,0 $\times 10^3$ células/ μ L Criança: 1,0-10,0 $\times 10^3$ células/ μ L
Monócitos	4-6% Adulto: < 1,2 $\times 10^3$ células/ μ L Criança: < 2,0 $\times 10^3$ células/ μ L
TP	Tempo: <15 s INR: Recém-Nascido: até 29 dias <1,70 Sem terapia: <1,30 Com terapia: 2,00- 3,50

TPPa	Tempo: Recém-Nascido até 29 dias: 29-60 s 1 a 5 meses: 30-55 s > 5 meses e Adulto: 26-40s Razão (Utente/Controlo): Sem terapia: 0, 83-1, 18 Heparinoterapia: 2,00-3,00
VS	Homem: ≤ 20 Mulher: ≤ 30 Criança: ≤ 20