



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Fernanda Liliana Carvalho da Silva

Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular realizado no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas orientada pelo Professor Doutor José Barata Antunes Custódio e pelo Dr. Américo Lopes de Freitas e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Fernanda Liliana Carvalho da Silva

RELATÓRIO DE ESTÁGIO
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório de Estágio Curricular realizado no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas orientada pelo Professor Doutor José Barata Antunes Custódio e pelo Dr. Américo Lopes de Freitas e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Estágio realizado no AVELAB – Laboratórios Médicos de Análises Clínicas
de janeiro 2022 a junho de 2022

Setembro de 2022

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer á minha família, avós, tio e primo, e em especial á minha mãe e irmão por toda a paciência e apoio em todo o meu percurso académico e em especial nesta fase.

Agradecer ao Professor Doutor José Custódio pela ajuda e disponibilidade na realização deste trabalho.

Ao Dr. Américo Freitas por permitir a realização do estágio no AVELAB – Laboratórios Médicos de Análises Clínicas e por toda a ajuda e amizade durante todo o estágio.

A toda equipa do AVELAB por toda a orientação, paciência e amizade nestes seis meses, em especial á Mané, á Esther e ao Senhor Zé.

Á Professora Doutora Ana Miguel, coordenadora do Mestrado em Análises Clínicas pelo trabalho e disponibilidade na orientação do Mestrado.

A todos os que de alguma forma contribuíram para a concretização desta etapa.

Índice

Abreviaturas.....	7
Índice de Figuras.....	9
Resumo	11
Abstract	12
Introdução.....	13
Caracterização do Laboratório	14
Processo Analítico.....	15
Fase Pré-Analítica	15
Fase Analítica	16
Fase Pós-analítica	18
Gestão do Controlo de Qualidade.....	18
Controlo de Qualidade Interno (CQI).....	18
Controlo de Qualidade Externo (CQE).....	19
Hematologia.....	20
Hematopoiese	20
Hemograma	23
Eritrograma.....	23
Leucograma.....	25
Plaquetócrito	29
Contagem de Reticulócitos.....	30
Esfregaço de Sangue Periférico.....	31
Eletroforese das hemoglobinas e hemoglobina glicada	32
Velocidade de Sedimentação	34
Coagulação e Hemostase.....	35
Provas da Coagulação.....	36
Imuno-hematologia.....	39
Determinação do grupo sanguíneo	39
Teste de Coombs.....	41
Bioquímica	43
Equilíbrio eletrolítico	43
Sódio.....	43
Potássio.....	44
Cloreto	44
Marcadores da Função Renal.....	45
Creatinina Sérica.....	45
Taxa de filtração glomerular	46
Ureia.....	47
Ácido Úrico	48
Proteinúria	48

Microalbuminúria.....	49
Análise Sumária de Urina.....	49
Doenças Cardiovasculares e Marcadores Bioquímicos	50
Aterosclerose e Marcadores de Risco Cardiovascular	50
Síndromes Coronárias Agudas e Marcadores de Lesão Cardíaca	52
Troponinas.....	52
Creatina Cinase	53
Mioglobina.....	53
Insuficiência Cardíaca Congestiva e Marcadores de Stress Cardíaco	53
Peptídeo Natriurético B.....	54
Marcadores Hepáticos	54
Marcadores de Lesão Hepatocelular	54
Marcadores da Função Hepática.....	55
Função de Excreção.....	55
Função de Síntese.....	56
Função Metabólica/Destoxificação.....	57
Marcadores da Função Tiroideia	57
Proteínas Plasmáticas.....	57
Proteínas Totais.....	58
Albumina Sérica	58
Globulinas Séricas	58
Proteína C Reativa	59
Eletroforese das Proteínas Séricas	59
Diabetes <i>Mellitus</i>	60
Glicémia Plasmática.....	60
Prova de Tolerância Oral à Glicose.....	61
Metabolismo do Ferro	62
Ferro Sérico	62
Transferrina e Capacidade Total de Ligação do Ferro.....	62
Ferritina	63
Imunologia.....	65
Microbiologia.....	67
Casos Clínicos.....	68
Conclusão.....	77
Bibliografia.....	78

Abreviaturas

ADH: Hormona Antidiurética

ALP: Fosfatase Alcalina

ALT: Alanina Aminotransferase

AST: Aspartato Aminotransferase

BNP: Peptídeo Natriurético Cerebral (Brain Natriuretic Peptide)

CEH: Célula Estaminal Hematopoiética

CHGM: Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média

CK: Creatina Cinase

CQE: Controlo de Qualidade Externo

CQI: Controlo de Qualidade Interno

cTnI: Troponina cardíaca I

cTnT: Troponina cardíaca T

DGS: Direção-Geral de Saúde

EBV: Vírus de Epstein–Barr

EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

HbA1c: Hemoglobina glicada A1c

HDL: Lipoproteínas de Alta Densidade

HGM: Hemoglobina Globular Média

HIV: Vírus da Imunodeficiência Adquirida

HPLC: Cromatografia Líquida de Alta Performance (High Performance Liquid Chromatography)

hs-cTnI: Troponina Cardíaca I de Alta Sensibilidade

hs-PCR: Proteína C reativa de Alta Sensibilidade

IDL: Lipoproteínas de Densidade Intermédia

INR: International Normalized Ratio

ISI: International Sensitivity Index

LDL: Lipoproteínas de Baixa Densidade

LPL: Lipoproteína Lípase

MDRD: Modificação da Dieta na Doença Renal

MOC: Microscópio Ótico Composto

OMS: Organização Mundial de Saúde

PCR: Proteína C Reativa

PTGO: Prova de Tolerância Oral à Glicose

RDW: Largura da Distribuição das Células Vermelhas (Red Cell Distribution Width)

Rh: Rhesus

RIQAS: *Randox International Quality Assessment Scheme*

rRNA: Ribossomal Nucleic Acid

SLS: Lauril Sulfato de Sódio

T3: Triiodotironina

T4: Tiroxina

TFG: Taxa de Filtração Glomerular

TIBC: Total Iron Binding Capacity

TnC: Troponina C

TP: Tempo de Protrombina

TPHA: *Treponema Pallidum Hemagglutination Assay*

TRH: Hormona Libertadora de Tirotrófina

TSH: Hormona Tiroestimulante

TT: Tempo de Trombina

TTPA: Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

UK NEQAS: *United Kingdom National External Quality Assessment Service*

VDRL: *Venereal Disease Research Laboratory*

VGM: Volume Globular Médio

VLDL: Lipoproteínas de Muito Baixa Densidade

γ-GT: Gama-Glutamil Transpeptidase

Índice de Figuras

Figura 1 - Hematopoiese (adaptado de Rodak and Carr, 2013). Todas as linhas celulares descendem da Célula Estaminal Hematopoiética (CEH), que se diferencia em diferentes progenitores e origina as linhagens mieloide (eritroide, granulocítica e trombocítica) e linfóide.....	22
Figura 2 - Neutrófilos vistos ao Microscópio Ótico. Núcleo denso e segmentado (na imagem da esquerda, núcleo com dois segmentos, na imagem à direita, núcleo com quatro segmentos). Imagem da direita obtida no Laboratório AVELAB, imagem da esquerda, adaptada de Bain, 2015.....	26
Figura 3 - Eosinófilos vistos ao Microscópio Ótico. Núcleo segmentado em quatro lóbulos na imagem à esquerda e em dois lóbulos na imagem à direita. Citoplasma avermelhado. Imagem da direita obtida no Laboratório AVELAB, Imagem da esquerda adaptado de Bain, 2015.	27
Figura 4 - Basófilos vistos ao Microscópio Ótico. Citoplasma repleto de grânulos fortemente basofílicos. Imagem da direita, obtida no Laboratório AVELAB; Imagem da esquerda, adaptada de Bain, 2015.....	27
Figura 5 - Monócitos vistos ao Microscópio Ótico. Citoplasma grande com grânulos basofílicos e núcleo grande de cromatina condensada. Imagem da direita obtida no Laboratório AVELAB, Imagem da esquerda, adaptada de Bain, 2015.	28
Figura 6 - Linfócitos vistos ao Microscópio Ótico. Núcleo com cromatina condensada e um citoplasma pequeno corado de azul, tamanho semelhante ao dos eritrócitos. Imagem da direita, obtida no Laboratório AVELAB; Imagem da esquerda, adaptada de Bain, 2015	29
Figura 7 - Plaquetas vistas ao Microscópio Ótico. Imagem à esquerda indica a presença de anisocitose plaquetar com presença de plaquetas normais e macroplaquetas, (adaptado de Bain, 2015). Na imagem à direita observam-se plaquetas normais, obtida no Laboratório AVELAB.	30
Figura 8 - Reticulócitos vistos ao Microscópio Ótico. Células ligeiramente maiores que os eritrócitos maduros com uma coloração mais arroxeadada. Adaptado de Bain, 2015.	31
Figura 9 - Percentagem das diferentes hemoglobinas em função do tempo de eluição, obtidas por HPLC, numa amostra de sangue de um portador de Hemoglobina S. (Adaptado de Hoffbrand and Moss, 2020).....	33
Figura 10 - Cascata da Coagulação. O Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) avalia os fatores presentes nas vias intrínseca e comum, o Tempo de Protrombina (TP) os fatores das vias extrínseca e comum e o Tempo de Trombina (TT) permite avaliar a formação de fibrinogénio. (Adaptado de Hoffbrand and Moss, 2020).....	35
Figura 11 - Confirmação do Grupo AB. Aglutinação presente nos tubos com anti-A (vermelho), anti-B (amarelo) e anti-D (azul).....	40
Figura 12 - Teste de Coombs visualizado ao microscópio. À esquerda, teste negativo, sem aglutinação; à direita, teste positivo com aglutinação.....	42

Figura 13 - Representação do nefrónio e do glomérulo renal e as respetivas funções (Adaptado de Allan Gaw <i>et al.</i> , 2013).....	45
Figura 14 - Relação entre a Taxa de Filtração Glomerular e o aumento da concentração sérica da creatinina (Adaptado de Allan Gaw <i>et al.</i> , 2013).....	46
Figura 15 - Padrão normal de uma eletroforese das proteínas plasmáticas obtido no Laboratório Avelab.	60
Figura 16 - Esfregaço de sangue periférico observado ao microscópio ótico , do doente do Caso Clínico nº 1. A , ampliação de 50 vezes; B, C e D , ampliação de 100 vezes.	70
Figura 17 - Esfregaço de sangue periférico observado ao microscópio ótico , do doente do Caso Clínico nº2. A e B , ampliação de 100 vezes. C , ampliação de 50 vezes.....	73
Figura 18 - Esfregaço de sangue periférico do doente do Caso Clínico nº 3, observado ao Microscópio ótico. A, B, C e D com ampliação de 100 vezes.....	75

Índice de Tabelas

Tabela I - Equipamentos por setor e tipos de amostras utilizadas.	17
Tabela II - Formas mais comuns de hemoglobina no adulto. (Adaptado de Hoffbrand and Moss, 2020).	32
Tabela III - Antígenos e anticorpos do sistema AB0	39
Tabela IV - Hemograma e Provas da Coagulação - Caso Clínico nº1	68
Tabela V - Parâmetros Bioquímicos - Caso Clínico nº1	68
Tabela VI - Parâmetros Serológicos - Caso Clínico nº1	69
Tabela VII - Resultado do Exame Sumário de Urina - Caso Clínico nº 1	69
Tabela VIII - Resultados do Exame Microscópico do Sedimento - Caso Clínico nº 1	69
Tabela X - Hemograma e Provas da Coagulação - Caso Clínico nº2	72
Tabela XI - Parâmetros Bioquímicos - Caso Clínico nº 2	72
Tabela XII - Exame Sumário de Urina - Caso Clínico nº2	73
Tabela XIII - Hemograma - Caso Clínico nº3	75

Resumo

O presente relatório descreve o trabalho desenvolvido durante o estágio curricular realizado no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. O estágio teve lugar no Laboratório AVELAB, na cidade de Aveiro.

O estágio envolveu, numa primeira fase, o acompanhamento do trabalho laboratorial realizado diariamente nas diferentes áreas, nomeadamente, Microbiologia, Bioquímica, Hematologia e Imunologia. Numa segunda fase, foram desenvolvidas atividades independentes naquelas áreas, embora sempre sob a supervisão da equipa técnica que sempre me apoiou e acompanhou.

Este relatório descreve as principais características e funcionamento do laboratório, assim como algumas das atividades desenvolvidas ao longo do estágio, em particular nas áreas de Hematologia e Bioquímica.

Palavras-Chave: Análises Clínicas, Bioquímica, Hematologia, Imunologia, Laboratório, Microbiologia.

Abstract

This internship report describes the work developed during de curricular internship in scope of the Master's Degree in Clinical Analysis lectured at university of Coimbra Faculty of Pharmacy. The internship took place in Aveiro at AVELAB Laboratory.

Initially, the internship involved monitoring the laboratory work carried out daily in different areas in particularly in Microbiology, Biochemistry, Haematology, and Immunology. Secondly, independent activities were developed in those areas, although always under supervision of the technical team that always supported and accompanied me.

The present report describes the main characteristics and the functioning of the laboratory, as well as some of the activities developed during the internship focusing especially on Haematology and Biochemistry areas.

Keywords: Clinical Analysis, Biochemistry, Haematology, Immunology, Laboratory, Microbiology.

Introdução

O Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra dota os seus alunos de conhecimentos teóricos e práticos em diversas áreas das análises clínicas com vista ao desempenho da prática laboratorial com o mais alto rigor. Este culmina num estágio de seis meses num laboratório de análises clínicas que tem como principal objetivo proporcionar aos alunos uma experiência prática em contexto real. Este estágio é de enorme importância pois permite consolidar e aplicar os conhecimentos adquiridos ao longo da formação académica.

O estágio foi realizado no Laboratório AVELAB, na cidade de Aveiro sob orientação do Dr. Américo Freitas, médico especialista em análises clínicas. Durante o estágio, desenvolvi atividades em diversas áreas do laboratório, nomeadamente nas áreas de Bioquímica, Hematologia, Microbiologia e Imunologia, tendo contado sempre com o apoio e o acompanhamento da equipa técnica.

Este relatório pretende descrever a organização do laboratório, bem como o trabalho realizado ao longo do estágio. Farei uma breve caracterização do laboratório, e irei descrever as diversas fases do processo analítico e os processos de controlo de qualidade. As atividades realizadas no setor da Hematologia e Coagulação, assim como no setor da Bioquímica serão descritas com mais detalhe. No final do relatório apresento três casos clínicos típicos, observados ao longo do estágio, que permitiram fazer a discussão dos resultados analíticos obtidos e aplicar os conhecimentos adquiridos.

Caracterização do Laboratório

O Laboratório AVELAB situa-se na cidade de Aveiro e presta serviços à comunidade na área das análises clínicas. Conta com mais de 60 anos de experiência, prezando acima de tudo o rigor técnico e científico dos resultados fornecidos ao utente.

A equipa clínica do AVELAB é constituída pelos médicos especialistas, Dr. Américo Freitas (Diretor Técnico) e Dra. Teresa Raposo, e pelos farmacêuticos especialistas em análises clínicas, Dr. António Ferreira Neves e Dra. Irene de Sá. Entre os colaboradores do laboratório encontram-se diversos Técnicos Superiores de Laboratório, Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública, Enfermeiros, Técnicos Administrativos e Auxiliares.

O laboratório central é constituído pela receção e sala de espera, várias salas de colheita, sala para realização de eletrocardiogramas, gabinetes clínicos e administrativos, salas de lavagem de material, armazém e pelos diversos setores técnicos. As áreas técnicas encontram-se divididas por setores, entre eles, as salas de Triagem, Bioquímica, Imunologia, Hematologia, Coagulação, Urinálise, Microbiologia e Biologia Molecular. O horário de funcionamento em dias úteis é das 7:30h às 19h e aos sábados das 8:00h às 13:00h.

O laboratório central recebe e trata as amostras aí colhidas bem como as que chegam dos diversos postos de colheita presentes no distrito de Aveiro e nas regiões norte e centro do país, garantindo sempre a qualidade do processo analítico desde a colheita da amostra até à entrega do resultado ao utente.

Todo o serviço encontra-se informatizado e ligado pelos sistemas Apolo 3 e wApolo que garantem a comunicação e conjugação dos dados das requisições, dos utentes e dos resultados, bem como a rastreabilidade das amostras durante todo o processo analítico.

Processo Analítico

O Processo analítico aplica-se a todo o trabalho analítico diário realizado nos diferentes setores e engloba diversas fases, desde a entrada do utente no local de colheita até à emissão dos resultados. Todo o processo deverá estar devidamente registado e documentado de forma a permitir a rastreabilidade do mesmo (DGS, 2011). Este pode ser dividido em três fases, a fase pré-analítica, a fase analítica e a fase pós-analítica, todas elas determinantes para a qualidade do resultado prestado ao utente.

Fase Pré-Analítica

Segundo a Norma ISO 15189:2012 o processo pré-analítico engloba a análise da requisição, preparação do doente, colheita das amostras, transporte, conservação e a sua preparação (separação, triagem e aliquotagem das amostras). Esta fase é, sem dúvida, determinante para a qualidade e validade dos resultados obtidos sendo uma das mais críticas, já que é a fase menos automatizada e mais suscetível ao erro humano. Uma falha em qualquer uma das etapas desta fase pode comprometer a identificação ou qualidade da amostra, o que irá enviesar toda a análise.

No AVELAB a inscrição dos utentes é efetuada informaticamente no sistema Apolo, onde é criada uma ficha de utente e um processo ao qual são associadas as análises requisitadas. A este processo é atribuído um código de barras que permitirá identificar e rastrear todas as amostras associadas ao processo.

Após a abertura do processo, o utente é encaminhado para a sala de colheitas onde é feita a colheita dos produtos biológicos (sangue, exsudatos, urina, zaragatoas, entre outros). A colheita de sangue pode ser efetuada para diversos tubos consoante a análise pretendida. Tubos de tampa roxa contêm ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e são utilizados para a obtenção de amostras de sangue total ou plasma, destinam-se normalmente às análises hematológicas ou de biologia molecular. Tubos de tampa azul contêm citrato e permitem também a obtenção de sangue total ou plasma e destinam-se às provas de coagulação. Por outro lado, tubos de tampa amarela ou vermelha contêm ou não ativadores da coagulação, com ou sem gel, e permitem a obtenção de soro, destinam-se normalmente às análises bioquímicas e serológicas.

Durante a etapa da colheita é necessário ter em atenção as boas práticas a nível da flebotomia bem como ao tipo de análises pedidas e qual o meio de colheita adequado. Passos como a escolha do local de punção, correto manuseamento do garrote, escolha correta do

equipamento de punção (seringa ou vácuo) e o tempo que decorre entre a saída do sangue da veia e a sua entrada no tubo são essenciais para uma boa colheita. Quando executados incorretamente podem levar a amostras hemolisadas ou com coágulos que irão impossibilitar a correta análise e criar a necessidade de uma nova colheita, o que pode criar desconforto ao utente e atraso na saída dos resultados.

Após a colheita e entrega das amostras, as mesmas são colocadas em suportes e encaminhadas para a sala de triagem onde chegam também as amostras dos postos de colheita, que são transportadas em malas térmicas refrigeradas. Na sala de triagem separam-se as amostras para os diferentes setores. As amostras destinadas aos setores da Microbiologia, Urinálise, Hematologia e Coagulação e Biologia Molecular são encaminhadas para as respetivas salas onde são triadas, aliquotadas se necessário, e analisadas. As amostras destinadas aos setores da Bioquímica e Imunologia assim como as amostras para análise externa, são triadas e aliquotadas na sala de triagem, seguindo depois para os respetivos setores onde serão analisadas. Nos setores de Hematologia e Coagulação, de Bioquímica e de Imunologia bem como em alguns postos de colheita, é utilizado o equipamento *Indexor* para a triagem das amostras.

Fase Analítica

No AVELAB, fase analítica processa-se de diferentes formas consoante o setor, podendo ser executada por processos manuais ou automatizados. Com a evolução da tecnologia e dos meios de diagnóstico esta fase tende a estar cada vez mais automatizada minimizando assim os erros humanos.

Após a triagem e preparação das amostras, são aplicados critérios de exclusão caso estas não se encontrem em condições de serem analisadas. Alguns critérios são: amostra insuficiente, tubos de sangue com presença de hemólise, lipemia ou presença de coágulo (EDTA e citrato) ou colheita de amostras para meio/tubo impróprio para a análise. Nestes casos é pedida a repetição da colheita em boas condições para que seja realizada a análise.

Em cada setor, as amostras são introduzidas nos respetivos equipamentos como representado na Tabela I e os processos manuais são efetuados segundo os procedimentos descritos.

Tabela I - Equipamentos por setor e tipos de amostras utilizadas.

Setor	Equipamento	Método	Amostra
Hematologia	<i>Sismex XN-2000</i>	Citometria de Fluxo Impedância Lauril Sulfato de Sódio (SLS)	Sangue total (tubo tampa roxa)
	<i>VES-matic cube 30</i>	Westergreen Modificado	Sangue total (tubo tampa roxa)
	<i>Hb next</i>	High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	Sangue total (tubo tampa roxa)
Coagulação	<i>STA Compact Max 2</i>	Eletromecânico	Sangue total citratado (tubo tampa azul)
Bioquímica	<i>Alinity c</i>	Fotométrico Potenciométrico	Soro (tubo de tampa amarela/vermelha)
	<i>Capillarys 2</i>	Eletroforese Capilar	Soro (tubo de tampa amarela/vermelha)
Imunologia	<i>Alinity i</i>	Quimiluminescência	Soro (tubo de tampa amarela/vermelha)
	<i>Phadia 250</i>	Imunoensaios Fluoroenzimáticos: ImmunoCAP e EliA	Soro (tubo de tampa amarela/vermelha)
Urianálise	<i>Aution MaxAX-4030</i>	Refletância	Urina
	<i>SediMax</i>	Microscopia eletrônica	Urina
	<i>Sentifit 270</i>	Imunoturbidimetria	Fezes
Microbiologia	<i>Vitek 2 Compact</i>	Fluorescência Turbidimetria	Suspensão bacteriana obtida a partir de cultura
Triagem	<i>Indexor</i>		Tubos colheita sanguínea

Fase Pós-analítica

Os resultados obtidos pelos equipamentos são enviados automaticamente para o sistema Apolo, enquanto os resultados obtidos por técnicas manuais são introduzidos no sistema manualmente. A introdução manual de resultados está também sujeita a erros humanos que devem ser evitados. Após a introdução dos resultados dos parâmetros analíticos na ficha do utente, estes são validados pelos técnicos do laboratório e depois pelos Especialistas. Após a validação, o boletim é entregue ao utente, por consulta online, por e-mail, ou impresso.

Gestão do Controlo de Qualidade

Segundo a Norma ISO 15189:2012, os laboratórios devem garantir a qualidade dos seus exames sob as condições definidas. Para isso, são implementados programas de controlo de qualidade internos e externos com vista a assegurar a qualidade dos resultados.

Controlo de Qualidade Interno (CQI)

O CQI consiste num conjunto de procedimentos postos em prática num laboratório com vista a permitir um controlo da qualidade dos resultados das análises à medida que as mesmas são executadas, sendo realizado com recurso a controlos e a calibradores (Despacho nº10009/2019, Diário da República).

As amostras controlo são amostras de composição definida qualitativa e quantitativamente, adaptadas aos métodos utilizados, destinadas a apreciar a exatidão e a precisão dos resultados (Despacho nº10009/2019, Diário da República).

As amostras de calibração têm uma composição definida qualitativa e quantitativamente, para um ou vários constituintes, frequentemente aferida em relação a padrões de referência, destinada à calibração das metodologias utilizadas (Despacho nº10009/2019, Diário da República).

No AVELAB, todos os parâmetros analíticos são controlados antes de analisar as amostras dos utentes, e os resultados devem encontrar-se dentro dos valores de referência estabelecidos para os equipamentos e métodos (cartas de Levey-Jennings), preferencialmente o mais próximo possível dos valores médios estabelecidos para o parâmetro em causa. Quando os resultados dos padrões se encontram fora dos valores de referência, violando as Regras de Westgard, os equipamentos emitem um aviso, e dependendo da regra violada podem ou não permitir a análise das amostras dos utentes. Quando isto acontece, procedem-

se a medidas corretivas, tais como, reanalisar os controlos ou executar a calibração do parâmetro em causa.

No setor da Bioquímica, os parâmetros analíticos dos equipamentos *Alinity* são controlados diariamente antes da entrada das amostras, em dois níveis dos três disponíveis que vão variando ao longo da semana e quando é colocado um novo reagente no equipamento. Nos setores de Hematologia e Coagulação, os equipamentos *Sysmex-XN200*, *Hb Netx* e *STA Compact Max 2* são calibrados diariamente alternado os níveis. O equipamento *VES-matic cube 30* é controlado três vezes por semana.

As calibrações são realizadas quando os equipamentos indicam a expiração da validade da calibração de algum reagente, quando o lote destes é alterado ou quando se verificam alterações nos controlos.

Controlo de Qualidade Externo (CQE)

O CQE é a avaliação, por um organismo exterior, da qualidade dos resultados fornecidos pelo laboratório (Despacho nº10009/2019, Diário da República).

O AVELAB participa em dois programas de controlos de qualidade externos, o “Randox International Quality Assessment Scheme” (RIQAS) e o “United Kingdom National External Quality Assessment Service” (UK NEQAS). Estes programas enviam amostras de controlo para o laboratório, em períodos estabelecidos, que devem ser processadas como as amostras dos utentes. Os resultados são depois enviados, analisados e comparados com outros participantes do programa.

O setor da Hematologia participa mensalmente no programa RIQAS para o controlo dos hemogramas, das hemoglobinas glicadas e da velocidade de sedimentação, e no programa UK NEQAS para controlo dos esfregações sanguíneos. O setor da Bioquímica participa mensalmente no programa RIQAS, analisando todos os parâmetros analíticos.

Para além destes programas, o AVELAB realiza auditorias internas e externas de forma a garantir o bom funcionamento do laboratório e a qualidade de todo o processo analítico.

Hematologia

A Hematologia é o ramo que estuda o sangue, as células que o constitui bem como as doenças que o afetam. No AVELAB a área da hematologia encontra-se dividida em dois setores, o Setor da Hematologia e o Setor da Coagulação. O primeiro recebe amostras de sangue total com EDTA a partir das quais se faz diariamente o hemograma, o esfregaço de sangue periférico, a determinação da hemoglobina glicada, a velocidade de sedimentação e a eletroforese das hemoglobinas que mais abaixo serão abordadas.

De forma a interpretar corretamente os testes realizados no âmbito da hematologia e, conseqüentemente, compreender a que se devem certas alterações, é importante conhecer o processo da produção das células sanguíneas. Assim, em primeiro lugar, a hematopoiese vai ser abordada de forma resumida.

Hematopoiese

A hematopoiese consiste no processo de formação das células sanguíneas, nomeadamente, eritrócitos, leucócitos e plaquetas, que ocorre após o nascimento, essencialmente na medula óssea (Hoffbrand and Moss, 2020).

Todas as células sanguíneas descendem de uma célula pluripotente, a Célula Estaminal Hematopoiética (CEH), que possui capacidade de proliferação, replicação e diferenciação. As células sanguíneas têm origem em diferentes progenitores hematopoiéticos, que descendem da CEH mas possuem um potencial de diferenciação mais restrito, como demonstrado abaixo na Figura 1. A diferenciação da CEH nas diferentes linhas celulares depende de diversos sinais, internos e/ou externos, tais como fatores de transcrição, fatores de crescimento e hormonas, como a eritropoietina e a trombopoietina. Estas moléculas vão atuando em diferentes fases da hematopoiese, condicionando a diferenciação de determinada linha celular (Hoffbrand and Moss, 2020).

Quer a linhagem eritróide, quer granulocítica quer megacariocítica tem origem no Progenitor Mielóide Comum, enquanto a linha linfocítica tem origem no Progenitor Linfóide Comum, como podemos observar abaixo na Figura 1 (Hoffbrand and Moss, 2020).

A eritropoiese é o processo de formação dos eritrócitos. A primeira célula precursora é o Pronormoblasto (célula com grande citoplasma e núcleo), que origina por divisão celular, normoblastos progressivamente mais pequenos e com mais hemoglobina, até que ocorre a expulsão do núcleo, originando o Reticulócito. Os eritrócitos maduros e os reticulócitos circulam no sangue periférico, enquanto as células mais imaturas estão normalmente restritas

à medula óssea. A circulação de células imaturas na corrente sanguínea é normalmente sinal de patologia. A eritropoiese é regulada pela eritropoietina que é produzida no rim (90%) e no fígado (10%) sob a influência da pressão de oxigênio no sangue (Hoffbrand and Moss, 2020).

Os megacariócitos descendem na mesma célula progenitora dos eritrócitos e originam as plaquetas por fragmentação do seu citoplasma. A presença de megacariócitos na circulação periférica é rara, sendo as plaquetas a forma mais comum (Hoffbrand and Moss, 2020; Bain, 2015).

Os leucócitos podem ser divididos em dois grupos principais, os fagócitos que fazem parte do sistema imune inato e os linfócitos que fazem parte do sistema imune adaptativo (Figura 1). Os fagócitos incluem os granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e os monócitos. Tal como a eritropoiese, a granulopoiese também ocorre na medula óssea a partir do mesmo progenitor dos eritrócitos sob ação de diferentes fatores de crescimento (Hoffbrand and Moss, 2020).

Os neutrófilos, eosinófilos e os basófilos possuem precursores morfológicamente semelhantes, que normalmente apenas se encontram na medula óssea: os promielócitos, metamielócitos e as formas em banda. As formas maduras circulam no sangue periférico e são distinguíveis morfológicamente (Figura 1) (Hoffbrand and Moss, 2020).

Na mesma figura pode ver-se que os monócitos apresentam-se na medula óssea como monoblastos e promonócitos (formas imaturas) atingindo a circulação sanguínea na forma de monócitos, podendo diferenciar-se em macrófagos nos tecidos.

Os linfócitos são células que fazem parte do sistema imunológico, mas têm origem na hematopoiese. Todos os linfócitos têm origem na medula óssea, sendo que os linfócitos B aí crescem e maturam, enquanto os linfócitos T crescem na medula óssea, mas terminam a sua maturação no timo (Hoffbrand and Moss, 2020).

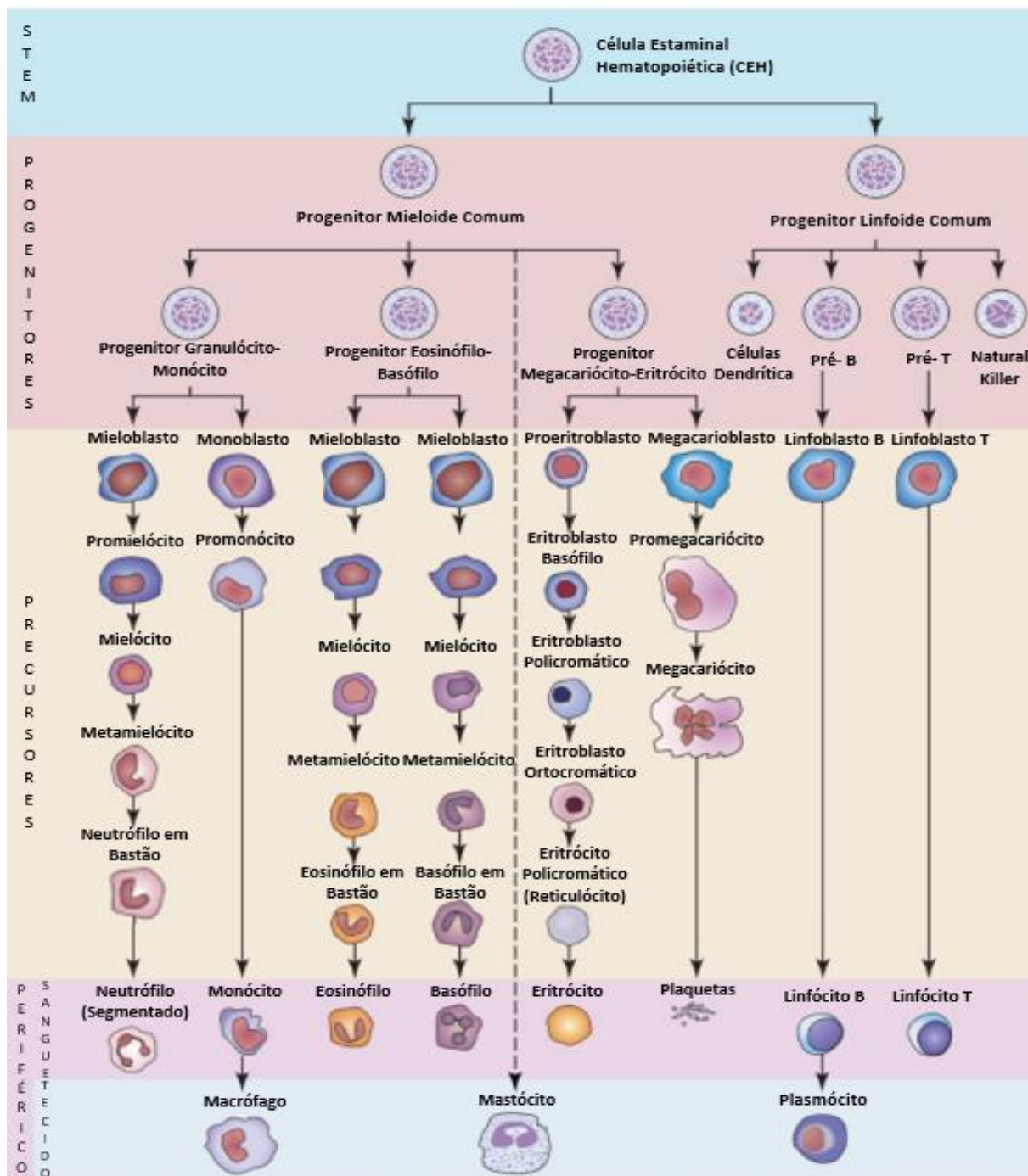


Figura 1 - Hematopoiese (adaptado de Rodak and Carr, 2013). Todas as linhas celulares descendem da Célula Estaminal Hematopoiética (CEH), que se diferencia em diferentes progenitores e origina as linhagens mielóide (eritroide, granulocítica e trombocítica) e linfóide.

Hemograma

O Hemograma consiste num conjunto de determinações analíticas, nomeadamente a contagem absoluta e diferencial das células sanguíneas, que permitem auxiliar no diagnóstico e acompanhamento de patologias hematológicas, tais como anemias ou neoplasias. Os valores de referência no hemograma são dependentes do sexo e da idade, dado que o processo de hematopoiese varia consoante a fase de desenvolvimento do organismo, sendo também influenciada pelo estado (por exemplo na gravidez). É das determinações mais frequentemente realizadas na rotina laboratorial no AVELAB.

No AVELAB, o hemograma completo é realizado automaticamente pelo equipamento *Sismex XN-2000*, que utiliza a tecnologia da impedância elétrica para a contagem de eritrócitos e plaquetas, a citometria de fluxo com fluorescência para a contagem diferencial de leucócitos e o método Lauril Sulfato de Sódio (SLS) para a determinação da hemoglobina. Abaixo, referem-se os parâmetros analíticos que integram o hemograma.

Eritrograma

O eritrograma consiste na determinação do número de eritrócitos, do seu tamanho e da quantidade de hemoglobina presente. Descrevem-se, em seguida, as diferentes determinações efetuadas durante o estágio.

Contagem de eritrócitos (RBC)

Os eritrócitos têm como principal função o transporte de oxigénio, ligado à hemoglobina, dos pulmões até aos tecidos. Em condições normais, têm forma de disco bicôncavo e uma duração média de cerca de 120 dias (Hoffbrand and Moss, 2020).

A RBC varia com o sexo e principalmente com a idade e é expresso em valores absolutos. No AVELAB, os valores de referência para os adultos são os seguintes: homem $4,5-5,5 \times 10^{12}/L$ e mulher $3,8-4,8 \times 10^{12}/L$.

Hemoglobina (Hb)

A hemoglobina é uma proteína encontrada no interior dos eritrócitos cuja principal função é a ligação ao oxigénio. Trata-se de numa molécula constituída por quatro cadeias globínicas sintetizadas no citoplasma do eritrócito, cada uma ligada a um grupo heme. O grupo heme é produzido na mitocôndria dos reticulócitos sendo composto por um anel de protoporfirina que no centro contém um átomo de ferro ferroso (Fe^{2+}) responsável pela ligação ao oxigénio (Hoffbrand and Moss, 2020).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), Anemia é definida pela presença de uma hemoglobina numa concentração inferior a 13 g/dL no homem e a 12 g/dL na mulher (DGS, 2013). A diminuição do valor de hemoglobina pode ser causada por defeito na produção dos eritrócitos, pela diminuição dos eritrócitos circulantes, seja por hemólise ou por hemorragias, ou devida á presença de eritrócitos anormais, como na anemia de células falciformes (Bain, 2015).

Hematócrito (HCT)

O hematócrito consiste na proporção de eritrócitos, em volume, presentes no plasma. Inicialmente este parâmetro era determinado manualmente através da centrifugação do sangue numa coluna capilar graduada. Atualmente, este valor é calculado automaticamente por autoanalisadores (no AVELAB, o *Sismex XN-2000*) a partir do volume globular médio e do número de eritrócitos, sendo expresso em % do volume ocupado pelos eritrócitos no volume de sangue total (Bain, 2015).

O hematócrito pode estar aumentado em situações de diminuição do volume sanguíneo, por exemplo na desidratação, ou em situações de policitemia onde ocorre um aumento do número de eritrócitos. Por outro lado, poderá estar diminuído devido a um aumento do volume sanguíneo, por exemplo na gravidez, ou por defeito na eritropoiese, como por exemplo nas anemias (Bain, 2015).

Volume Globular Médio (VGM)

O Volume Globular Médio indica a dimensão dos eritrócitos. Este valor é determinado pelo autoanalisador, mas também pode ser calculado a partir do hematócrito e da contagem dos eritrócitos. É expresso em fentolitros (fL) (Bain, 2015).

O volume globular médio tem especial importância na avaliação e classificação das anemias, que consoante o tamanho dos eritrócitos podem ser classificadas como microcíticas, quando o VGM é inferior a 80 fL, normocíticas quando o VGM está entre 80-100 fL ou macrocíticas quando o VGM é superior a 100 fL (Hoffbrand and Moss, 2020).

Hemoglobina Globular Média (HGM) e Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHGM)

A Hemoglobina Globular Média e a Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média são ambos índices referentes à quantidade de hemoglobina presente dentro de cada eritrócito. O HGM é expresso em picogramas (pg) e o CHGM é expresso gramas por decilitro (g/dL) (Bain, 2015).

No AVELAB o valor de referência normal para o HGM é entre 27-34 pg. Com um HGM inferior a 27 pg estamos na presença de eritrócitos hipocrômicos, com menor quantidade de hemoglobina e, portanto, menos corados que o normal quando vistos ao microscópio ótico (Hoffbrand and Moss, 2020).

Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos (RDW – Red Cell Distribution Width)

O RDW é um parâmetro determinado pelos analisadores automáticos que permite avaliar o grau de variação do tamanho dos eritrócitos. Quanto maior o RDW maior será a dispersão de tamanhos dos eritrócitos, ou seja, haverá populações de eritrócitos com tamanhos distintos (Bain *et al.*, 2017).

Um valor de RDW superior a 14,5% indica a presença de uma grande dispersão de tamanho nos eritrócitos, portanto anisocitose, que pode ser confirmada por observação do esfregaço sanguíneo.

Leucograma

O leucograma consiste na determinação do número total de leucócitos, bem como a sua contagem diferencial.

Leucócitos Totais (WBC)

A contagem de leucócitos totais representa o somatório de todos os leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos) sendo apresentada em valores absolutos. Os leucócitos não se encontram distribuídos nas mesmas proporções em situações normais nem nas mesmas quantidades, dependendo do sexo e da idade.

A leucocitose consiste no aumento dos leucócitos totais, enquanto a leucopenia consiste na sua diminuição. A variação dos leucócitos totais é normalmente influenciada pela contagem de neutrófilos e/ou linfócitos podendo, ocasionalmente, estar alterada como consequência de alterações dos outros granulócitos. No entanto, é importante realizar a contagem diferencial dos leucócitos de forma a perceber qual a linhagem que se encontra aumentada, uma vez que cada tipo de leucócito desempenha um papel diferente no sistema imunológico. A contagem diferencial de leucócitos pode ser apresentada em valores absolutos ou percentagem (Bain, 2015).

No AVELAB, para os adultos, valores de leucócitos totais superiores a 11×10^9 leucócitos /Litro são considerados leucocitose e inferiores a 4×10^9 leucócitos /Litro, leucopenia.

Neutrófilos

Os neutrófilos são os leucócitos presentes em maior quantidade na corrente sanguínea (em condições normais) podendo os seus índices serem expressos em valores absolutos ou em percentagem. Estes fazem parte do sistema imune inato e têm como principal função o combate a infeções bacterianas ou fúngicas tendo uma vida média de 6-10 horas na corrente sanguínea. Ao microscópio, observei neutrófilos que apresentavam um núcleo denso e segmentado (3-5 núcleos) e um citoplasma claro com grânulos e irregular, como exemplificado na Figura 2 (Hoffbrand and Moss, 2020).

A neutrofilia é caracterizada pelo aumento do número de neutrófilos, podendo ocorrer sem qualquer alteração patológica associada, como por exemplo na gravidez, em atletas ou em fumadores. A forma mais comum de neutrofilia patológica decorre de infeções bacterianas dado o papel destas células no seu combate. A neutrofilia pode também estar presente em síndromes mieloproliferativas (Bain, 2015; Hoffbrand and Moss, 2020).

A neutropenia caracteriza-se por uma diminuição da contagem de neutrófilos. Em neutropenias muito acentuadas, o utente pode correr risco de infeções recorrentes. A neutropenia pode ser causada pela toma de fármacos com anti-inflamatórios ou antibacterianos, como consequência de algumas infeções virais (ex. infeções pelos vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV), Influenza ou Hepatite) ou como consequência de doenças autoimunes (Hoffbrand and Moss, 2020).

Na prática laboratorial observei que grande parte das neutrofilias eram observadas em utentes com infeções urinárias ou em mulheres grávidas.

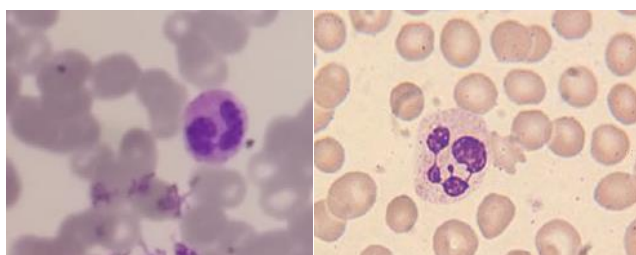


Figura 2 - Neutrófilos vistos ao Microscópio Ótico. Núcleo denso e segmentado (na imagem da esquerda, núcleo com dois segmentos, na imagem à direita, núcleo com quatro segmentos). Imagem da direita obtida no Laboratório AVELAB, imagem da esquerda, adaptada de Bain, 2015.

Eosinófilos

Os eosinófilos são semelhantes aos neutrófilos em forma e tamanho, no entanto, normalmente têm no máximo 3 núcleos e apresentam um citoplasma mais “avermelhado”, como ilustrado na Figura 3. Fazem parte da resposta imune sendo importantes nas alergias, combate a

parasitas e na remoção da fibrina produzida no processo inflamatório (Hoffbrand and Moss, 2020).

A eosinofilia caracteriza-se pela presença de valores de eosinófilos aumentados, essencialmente devido a reações alérgicas ou infecções parasitárias. A eosinofilia pode também ocorrer devido a doenças da pele como a psoríase (Hoffbrand and Moss, 2020).

No AVELAB para além da contagem automática, é feita também a pesquisa e contagem manual de eosinófilos em exsudato nasal para auxílio do diagnóstico de Rinite Alérgica.

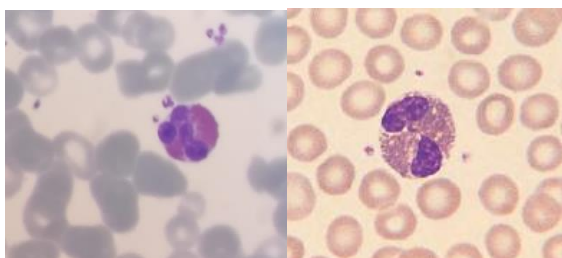


Figura 3 - Eosinófilos vistos ao Microscópio Ótico. Núcleo segmentado em quatro lóbulos na imagem à esquerda e em dois lóbulos na imagem à direita. Citoplasma avermelhado. Imagem da direita obtida no Laboratório AVELAB, Imagem da esquerda adaptado de Bain, 2015.

Basófilos

Os basófilos são os leucócitos presentes em menor quantidade na corrente sanguínea. Possuem grânulos citoplasmáticos fortemente basofílicos que coram de azul e se sobrepõem ao núcleo como ilustrado na Figura 4. Os grânulos contêm histamina e heparina (Hoffbrand and Moss, 2020).

A basofilia caracteriza-se pelo aumento dos basófilos. Apesar de ser incomum, pode ocorrer na presença de doenças mieloproliferativas ou na policitemia vera (Hoffbrand and Moss, 2020).

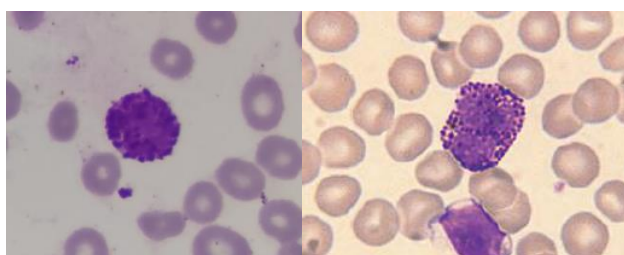


Figura 4 - Basófilos vistos ao Microscópio Ótico. Citoplasma repleto de grânulos fortemente basofílicos. Imagem da direita, obtida no Laboratório AVELAB; Imagem da esquerda, adaptada de Bain, 2015.

Monócitos

Os monócitos maduros são normalmente maiores que os eritrócitos e os restantes leucócitos, possuem um núcleo grande com cromatina condensada, um grande citoplasma com grânulos

basofílicos e por vezes vacúolos como demonstrado na Figura 5. Desempenham funções no combate a infeções bacterianas, especialmente a nível dos tecidos (Hoffbrand and Moss, 2020).

Os monócitos estão pouco tempo na corrente sanguínea desenvolvendo maior parte das suas funções nos tecidos sob a forma de macrófagos, onde podem permanecer meses ou anos. O aumento do número de monócitos, denominado monocitose, pode ser causado por infeções bacterianas crónicas, patologias como a artrite reumatoide, ou doenças mieloproliferativas (Hoffbrand and Moss, 2020).

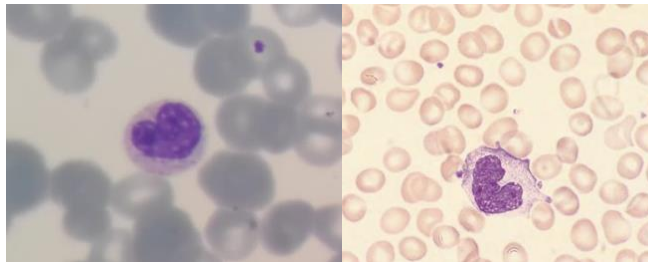


Figura 5 - Monócitos vistos ao Microscópio Ótico. Citoplasma grande com grânulos basofílicos e núcleo grande de cromatina condensada. Imagem da direita obtida no Laboratório AVELAB, Imagem da esquerda, adaptada de Bain, 2015.

Linfócitos

Os linfócitos são os leucócitos mais predominantes na corrente sanguínea a seguir aos neutrófilos (em condições normais). São células da resposta imune adaptativa e tal como os fagócitos tem papel no combate a infeções por microrganismos invasores como bactérias e especialmente vírus. Os linfócitos têm a particularidade de terem especificidade antigénica e de desenvolverem memória imunológica (Hoffbrand and Moss, 2020).

Os linfócitos normais apresentam um núcleo com cromatina condensada e um citoplasma pequeno corado de azul, que pode apresentar grânulos e vacúolos, como demonstrado na Figura 6 (Hoffbrand and Moss, 2020).

O aumento do número de linfócitos, denominado linfocitose, pode ter várias causas. As crianças podem apresentar uma ligeira linfocitose fisiológica pelo é importante ter em conta valores de referência de acordo com a idade. No adulto, a linfocitose ocorre principalmente em situações de infeções virais e bacterianas, podendo também ocorrer devido a situações de stress fisiológico, a neoplasias como Leucemias Linfocíticas, entre outros (Hoffbrand and Moss, 2020).

A leucopenia caracteriza-se pela diminuição do número de linfócitos, e pode ocorrer devido a insuficiência medular grave, ao Linfoma de Hodgkin, a tratamentos com corticosteroides, a

síndromes de Imunodeficiência (ex. HIV e Purpura Trombocitopénica), entre outros (Hoffbrand and Moss, 2020).

No AVELAB, no adulto, considera-se linfocitose quando o número de linfócitos é superior a 4×10^9 linfócitos /Litro e a linfopenia quando o número de linfócitos é inferior a $1,5 \times 10^9$ leucócitos /Litro. Os casos mais frequentes de linfocitose que observei eram causados por infecções virais, tais como as associadas ao Citomegalovírus, ao Vírus de Epstein–Barr ou aos vírus Influenza e SARS-CoV-2. Também observei linfocitoses causadas por síndromes linfoproliferativas. Os casos de linfopenia mais comum deveram-se, essencialmente, a casos de HIV e doentes imunodeprimidos.

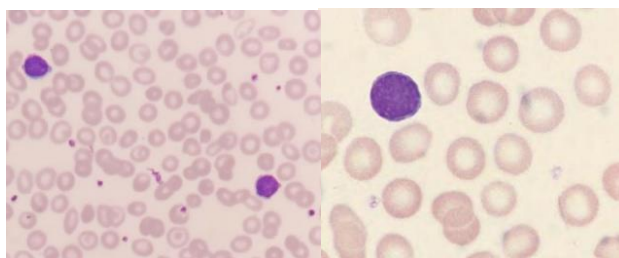


Figura 6 - Linfócitos vistos ao Microscópio Ótico. Núcleo com cromatina condensada e um citoplasma pequeno corado de azul, tamanho semelhante ao dos eritrócitos. Imagem da direita, obtida no Laboratório AVELAB; Imagem da esquerda, adaptada de Bain, 2015.

Plaquetócrito

O plaquetócrito consiste na determinação da quantidade de plaquetas na corrente sanguínea bem como na determinação do seu tamanho.

Plaquetas

A contagem de plaquetas consiste na quantificação de plaquetas presentes no sangue em valores absolutos. As plaquetas estão envolvidas no processo de hemostase. São normalmente pequenas, coram de azul-claro e possuem alguns grânulos como demonstrado na Figura 7 (Rodak and Carr, 2013). A sua produção é regulada pela trombopoietina sintetizada essencialmente pelo fígado (Hoffbrand and Moss, 2020).

A trombocitopenia consiste na diminuição do número de plaquetas e é normalmente causada por falha na sua produção. Isto pode ocorrer devido a problemas hepáticos, como parte de uma insuficiência generalizada da medula óssea, devido a defeitos congénitos ou como resultado da toma de fármacos como analgésicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, entre outros (Hoffbrand and Moss, 2020).

Por outro lado, a trombocitose prende-se com o aumento do número de plaquetas podendo ocorrer em estados pós-operatórios, estados inflamatórios ou infecciosos, devido a hemorragias ou em casos de neoplasias (Bain *et al.*, 2017).

As trombocitopenias que observei com mais frequência eram trombocitopenias aparentes devido à formação de agregados plaquetares. Isto pode acontecer devido a uma má colheita ou devido ao EDTA.

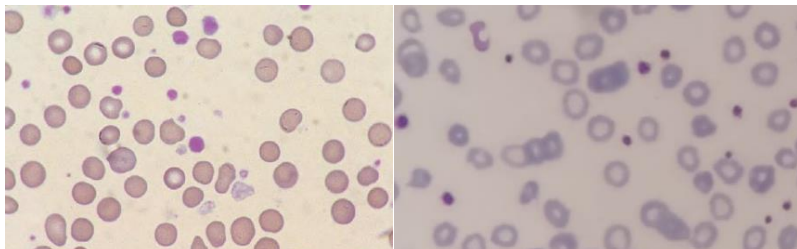


Figura 7 - Plaquetas vistas ao Microscópio Ótico. Imagem à esquerda indica a presença de anisocitose plaquetar com presença de plaquetas normais e macroplaquetas, (adaptado de Bain, 2015). Na imagem à direita observam-se plaquetas normais, obtida no Laboratório AVELAB.

Volume Plaquetar Médio (MPV)

O volume plaquetar médio é indicador do tamanho das plaquetas, sendo determinado automaticamente pelo analisador. É apresentado em fentolitros (fL).

Em indivíduos saudáveis, o tamanho das plaquetas é inversamente proporcional ao seu número. O aumento do tamanho das plaquetas pode ocorrer por deficiências congénitas ou como parte de outras patologias podendo ser ligeiro, sendo designadas macroplaquetas, ou mais acentuado, passando a designar-se como plaquetas gigantes. Nas trombocitopenias é comum observar plaquetas de tamanho superior, o que indica que há um aumento da produção de plaquetas pelo organismo de forma a tentar compensar a sua diminuição. Quando há trombocitopenia, mas não se verifica a presença de plaquetas grandes, pode indicar que há um defeito na sua produção (Bain, 2015).

Contagem de Reticulócitos

A contagem de reticulócitos avalia a quantidade destas células em percentagem (em relação ao número de eritrócitos totais) ou em valores absolutos, sendo feita automaticamente pelo analisador referido. Os reticulócitos são a forma imediatamente anterior aos eritrócitos, são ligeiramente maiores que os mesmos e podem ainda conter ácidos nucleicos ribossomais (Ribossomal Nucleic Acid, rRNA), como demonstrado na Figura 8 (Bain, 2015).

A reticulocitose indica um aumento dos reticulócitos circulantes em percentagem e/ou em valores absolutos, normalmente um aumento da produção de eritrócitos por parte da medula

óssea. Nas anemias graves é possível ver um aumento da percentagem de reticulócitos sem aumento da sua contagem absoluta. A reticulocitose pode estar presente após perdas acentuadas de sangue, após terapias com vista a tratar anemias (com ácido fólico, vitamina B12 ou ferro), em situações de hipoxia ou após a administração de eritropoietina (Bain, 2015).

A reticulopenia indica a diminuição da contagem de reticulócitos, e conseqüentemente, uma diminuição da resposta da medula óssea à produção de eritrócitos. No entanto, é necessário avaliar a causa desta diminuição contextualizando com patologias já presentes. Algumas causas de reticulopenia podem ser deficiência em ácido fólico, vitamina B12 e ferro (que originam anemias) ou supressão da medula óssea devido a quimioterapia (Bain, 2015).

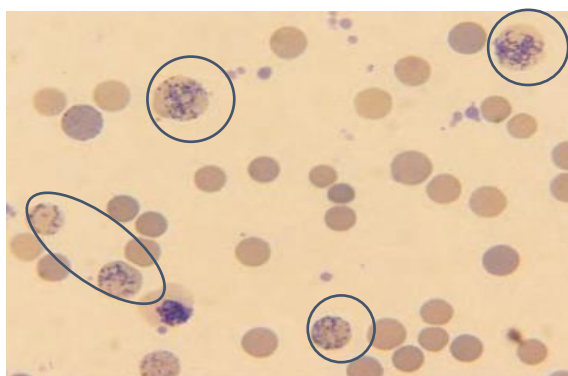


Figura 8 - Reticulócitos vistos ao Microscópio Ótico. Células ligeiramente maiores que os eritrócitos maduros com uma coloração mais arroxeada. Adaptado de Bain, 2015.

Esfregaço de Sangue Periférico

Os esfregaços sanguíneos são normalmente realizados para confirmar alterações em determinados parâmetros no hemograma (VGM, HGM, RDW, plaquetas, leucócitos), para observação da morfologia celular ou para pesquisa de parasitas, como por exemplo de *Plasmodium spp* (Bain et al., 2017).

No AVELAB, os esfregaços sanguíneos são realizados manualmente, quando os parâmetros analíticos referidos anteriormente assim o justificam, a partir de sangue obtido de tubos com EDTA e corados pela coloração de Leishman adaptada.

Os esfregaços devem ser realizados em lâminas limpas, livres de partículas e gorduras. As lâminas são identificadas com o número da amostra. É colocada uma gota de sangue do utente na lâmina. De seguida, com recurso a outra lâmina (espalhador), colocada a cerca de 45 graus junto à gota, desliza-se de forma a obter um esfregaço fino e homogêneo. Deixa-se secar o esfregaço e procede-se à coloração.

Coloração

Após a secagem do esfregaço, as lâminas são coradas pela técnica de Leishman adaptada. O reagente de Leishman é preparado no laboratório com 2,6 g de azul de metileno para 1L de etanol, sendo depois filtrado. O esfregaço é coberto com a solução de Leishman pré-preparada ficando em repouso durante 2 minutos. Em seguida, a lâmina é coberta com tampão fosfato pH 6,8 durante 6-7 minutos. O tampão é importante para uma boa coloração e diferenciação de leucócitos ácidos e básicos. Após a coloração as lâminas são lavadas com água destilada para remoção dos reagentes em excesso e colocadas a secar na estufa.

Observação ao Microscópio Ótico Composto (MOC)

Após a secagem, as lâminas são observadas ao microscópio com objetiva de imersão de 50 vezes, passando, quando necessário, para a objetiva de 100 vezes. Consoante as alterações apresentadas no hemograma, o esfregaço pode ser avaliado quanto à quantidade e aspeto dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas.

Eletroforese das hemoglobinas e hemoglobina glicada

Existem vários tipos de hemoglobina classificados de acordo com o tipo de cadeias globínicas que esta apresenta. O tipo de hemoglobina predominante nos eritrócitos varia ao longo do desenvolvimento, no entanto, as três variantes mais comuns no adulto são a hemoglobina A (HbA) com duas cadeias α e duas cadeias β , a hemoglobina F (HbF) com duas cadeias α e duas cadeias γ e a hemoglobina A2, com duas cadeias α e duas cadeias δ , como demonstrado na tabela Tabela II (Hofbrand and Moss, 2020).

Tabela II - Formas mais comuns de hemoglobina no adulto. HbA é a forma mais comum, seguindo-se a HbA2 e a HbF. (Adaptado de Hoffbrand and Moss, 2020).

	HbA	HbF	HbA2
Estrutura	$\alpha_2\beta_2$	$\alpha_2\gamma_2$	$\alpha_2\delta_2$
Normal (%)	96-98	0.5-0.8	1.5-3.2

Para além das formas referidas anteriormente podem ocorrer outras formas de hemoglobina anormais que podem resultar de uma alteração da sequência de aminoácidos que codificam as cadeias, como no caso da hemoglobina S que dá origem à anemia falciforme. Podem também resultar da redução da produção normal das cadeias α e β , que origina as α - e β - talassemias.

Estas alterações nem sempre têm significado clínico, pois nem sempre alteram a função da hemoglobina (Hoffbrand and Moss, 2020).

No AVELAB a determinação dos tipos de hemoglobina é realizada por Cromatografia Líquida de Alta Performance (High Performance Liquid Chromatography - HPLC) pelo autoanalisador Hb Next que permite determinar a quantidade absoluta e relativa dos tipos de hemoglobina através de gráficos como o apresentado na Figura 9. As diferentes hemoglobinas têm diferentes tempos de eluição, o que permite separá-las e distinguir os picos. A percentagem fornecida pelo equipamento através da determinação da área sob a curva.

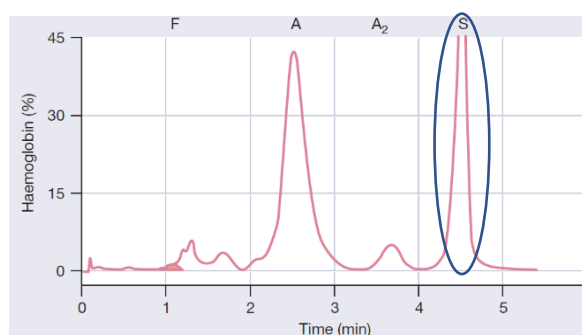


Figura 9 - Percentagem das diferentes hemoglobinas em função do tempo de eluição, obtidas por HPLC, numa amostra de sangue de um portador de Hemoglobina S. (Adaptado de Hoffbrand and Moss, 2020).

Hemoglobina Glicada

A hemoglobina glicada (HbA1c) é uma variante da hemoglobina A formada pela glicação da molécula de hemoglobina. A sua quantidade varia com a concentração de glicose na corrente sanguínea refletindo a concentração da glicose nos últimos três meses devido ao tempo de vida médio dos eritrócitos (120 dias) (Norma 033/2011 da DGS).

No AVELAB a determinação da HbA1c é feita por HPLC e os resultados são apresentados em milimole de hemoglobina glicada por mole de hemoglobina (mmole/mole) ou em percentagem (%) em relação à hemoglobina total. É uma determinação frequente na rotina laboratorial, principalmente em utentes idosos.

A determinação da HbA1c é utilizada como auxiliar no diagnóstico de diabetes *Mellitus* ou para o seu controlo após o diagnóstico. Segundo a Direção-Geral de Saúde (DGS), HbA1c até 6,5% é considerada normal, enquanto uma HbA1c superior a 6,5% é indicadora de diabetes. Caso esteja presente alteração apenas dos valores de HbA1c é necessário a repetição dos resultados após duas semanas e a confirmação com outros parâmetros para fazer o diagnóstico de diabetes (Norma 033/2011 da DGS).

Velocidade de Sedimentação

No AVELAB a velocidade de sedimentação é determinada no equipamento *VES-matic cube 30*, que realiza a determinação pelo método de Westergreen modificado. A velocidade de sedimentação é o volume de eritrócitos sedimentados num tubo graduado após este estar na vertical durante 30 minutos (Bain *et al.*, 2017).

A alteração da velocidade de sedimentação não está relacionada com uma patologia específica. O seu aumento encontra-se normalmente relacionado com situações inflamatórias devido à libertação de proteínas de fase aguda que causam agregação dos eritrócitos o aumento da velocidade de sedimentação (Bain *et al.*, 2017).

Coagulação e Hemostase

No setor da coagulação e hemostase recebem-se amostras de sangue total em citrato de onde, após centrifugação, se obtém o plasma para a determinação dos tempos de coagulação. Recebem-se também amostras de sangue total em EDTA para a determinação dos grupos sanguíneos e do Teste de Coombs.

A hemostase consiste na capacidade do organismo em responder ao dano vascular de forma a parar a hemorragia. Este processo é estritamente controlado através da interação de diversos fatores que controlam o início e desenvolvimento do processo trombótico até ao processo de fibrinólise, como ilustrado na Figura 10 (Hoffbrand and Moss, 2020).

A resposta hemostática ao dano vascular envolve a vasoconstrição, a adesão e agregação plaquetar, a estabilização deste coágulo pela fibrina (através da cascata da coagulação) e, por fim, a dissolução do coágulo pela fibrinólise (Hoffbrand and Moss, 2020).

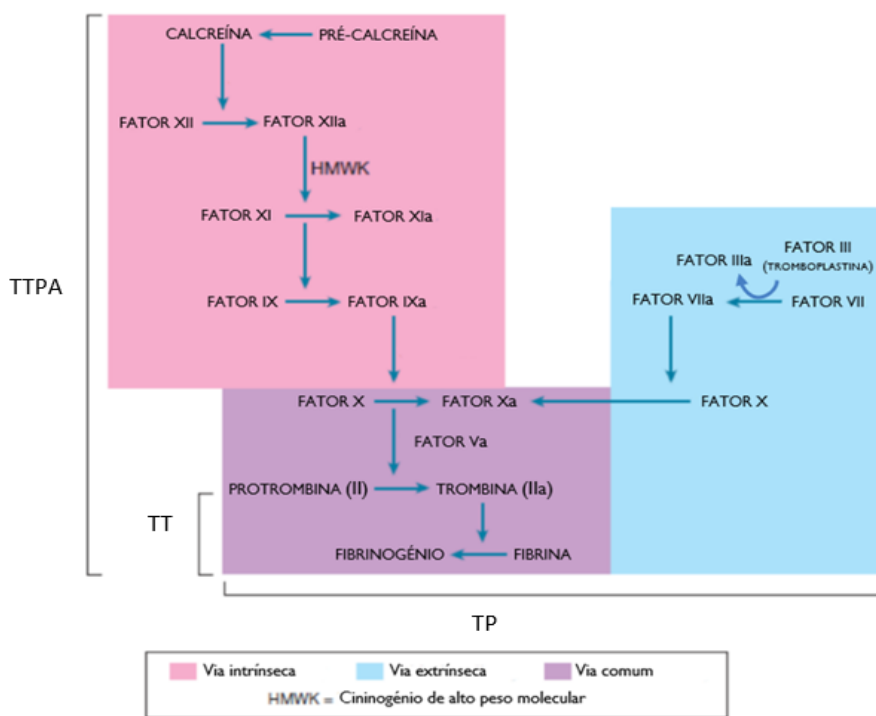


Figura 10 - Cascata da Coagulação. O Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) avalia os fatores presentes nas vias intrínseca e comum, o Tempo de Protrombina (TP) os fatores das vias extrínseca e comum e o Tempo de Trombina (TT) permite avaliar a formação de fibrinogénio. (Adaptado de Hoffbrand and Moss, 2020).

Provas da Coagulação

A cascata da coagulação tem como objetivo final a ativação da trombina que vai levar à conversão do fibrinogénio em fibrina, que irá estabilizar o coágulo plaquetar (Hoffbrand and Moss, 2020). Esta pode ser avaliada através da determinação de vários parâmetros abaixo referidos, embora no AVELAB aqueles com que contactei com mais frequência foram o tempo de protrombina e o tempo de tromboplastina parcial ativada.

Tempo de Protrombina (TP)

O tempo de protrombina (TP) avalia a via intrínseca (ou de iniciação) e a via comum da coagulação. Como ilustrado na Figura 10, esta é iniciada quando há dano no endotélio vascular e exposição do fator tecidual, que em contacto com o fator VII, leva à formação de pequenas quantidades de trombina que irão levar à conversão do fibrinogénio em fibrina (Hoffbrand and Moss, 2020).

Assim, este parâmetro avalia os fatores VII, X, V, a protrombina e o fibrinogénio.

Para que a via extrínseca (avaliada pelo TP) inicie, é necessário a adição de cálcio e de tromboplastina/fator tecidual sintético. O TP consiste no tempo decorrido entre a adição de cálcio e a formação do coágulo (Bain *et al.*, 2017).

Os valores de referência encontram-se entre os 10-14 segundos (Hoffbrand and Moss, 2020).

Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA)

O tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) avalia as vias intrínseca e comum da coagulação. Para a sua determinação é necessário a adição de fosfolípidos, “ativador de superfície” e cálcio ao plasma citratado. O TTPA consiste no tempo desde a adição dos reagentes até à formação do coágulo de fibrina (Bain *et al.*, 2017).

Os valores de referência encontram-se entre os 30-40 segundos (Hoffbrand and Moss, 2020).

Tempo de Trombina (TT)

O tempo de trombina (TT) permite avaliar a concentração e função do fibrinogénio. Neste teste, é adicionado trombina ao plasma citratado e avalia-se o tempo que decorre desde a adição até à formação do coágulo (Bain *et al.*, 2017).

Os valores de referência encontram-se entre os 14-16 segundos (Hoffbrand and Moss, 2020).

Concentração do Fibrinogénio no Plasma

A concentração de fibrinogénio no plasma pode estar alterada em diversas patologias. É normalmente determinado com recurso ao método de Clauss que consiste na avaliação da formação de fibrina no plasma diluído do paciente, quando colocado em contacto com uma solução de trombina de alta concentração de forma a evitar que a trombina seja o reagente limitante (Bain *et al.*, 2017).

D-Dímeros

Os Dímeros são produtos resultantes da degradação da fibrina durante a fibrinólise. A sua determinação é útil em casos de suspeita de trombose venosa profunda (Hoffbrand and Moss, 2020).

No AVELAB, todas as determinações relacionadas com a coagulação são automatizadas no autoanalisador *Stago Max Compact 2*. Todas são realizadas em plasma de amostras de sangue colhidas para tubos com citrato, centrifugado durante 15 minutos. Este equipamento faz a determinação dos tempos de coagulação por métodos eletromecânicos, recorrendo a uma esfera de metal na cuvete que se move sob um campo magnético. O movimento da esfera vai diminuindo com a formação da fibrina, e quando esta para é determinado o tempo de coagulação. Este método é vantajoso em relação aos métodos óticos (turbidimetria ou nefelometria) pois não sofre interferência de plasmas com hemólise ou lipémicos.

Na prática laboratorial no AVELAB, o controlo da hemostase é realizado essencialmente para doentes hipocoagulados, que se encontram temporariamente ou permanentemente sob efeito de terapêutica anticoagulante que interfere com o processo normal de hemostase. Este tipo de medicação pode ser indicado por vários motivos como por exemplo doenças do foro cardiovascular, trombozes venosas profundas, colocação de próteses valvulares cardíacas, embolias pulmonares ou mesmo antecedendo certas intervenções cirúrgicas de forma a prevenir a formação de coágulos no pós-operatório. Os anticoagulantes tradicionais, como a Varfarina e o Sintrom são de controlo obrigatório, uma vez que são antagonistas da vitamina K, importante interveniente na síntese de diversos fatores da coagulação, nomeadamente os fatores II, VII, IX e X e pelas proteínas c e s (Hoffbrand and Moss, 2020).

O controlo destes pacientes é feito pela determinação do tempo de protrombina, sendo normalmente expresso sob a forma do índice normalizado internacional (International Normalized Ratio, INR), calculado pelo rácio entre o TP do paciente e TP médio elevados ao

índice de sensibilidade internacional (International Sensitivity Index, ISI), conforme a expressão abaixo indicada.

$$INR = \left(\frac{TP \text{ paciente}}{TP \text{ médio}} \right)^{ISI}$$

O ISI é determinado por comparação entre os TP obtidos com a tromboplastina usada e os obtidos com uma tromboplastina de referência determinada pela Organização Mundial da Saúde (Bain *et al.*, 2017).

O INR de pacientes sem medicação anticoagulante e sem alterações a nível fisiológico encontra-se, normalmente, à volta de 1. Para doentes hipocoagulados, dependendo da patologia associada, recomenda-se um INR entre 2 a 3,5.

Quando o INR de doentes hipocoagulados se encontra fora dos intervalos de referência, é necessário fazer o ajuste da medicação por parte do médico. Valores de INR elevados estão associados com aumento do risco de hemorragia, pelo que nestes casos a medicação terá de ser diminuída ou suspensa. Quando o INR se encontra próximo ou superior a 9, o utente deve ser encaminhado ao hospital para tratamento com o antídoto vitamina K oral (Hoffbrand and Moss, 2020).

Imuno-hematologia

A Imuno-hematologia estuda os antígenos e anticorpos associados aos eritrócitos. Este estudo é particularmente relevante a nível da medicina transfusional, para determinação dos grupos sanguíneos bem como para deteção da presença de doenças autoimunes associadas com a presença de antígenos irregulares à superfície dos eritrócitos. Neste setor acompanhei e realizei com alguma frequência o teste de Coombs e a determinação dos grupos sanguíneos.

Determinação do grupo sanguíneo

Os grupos sanguíneos são determinados com base na presença ou ausência de diferentes antígenos à superfície dos glóbulos vermelhos. Estão identificados cerca de 400 antígenos de superfície nos glóbulos vermelhos, no entanto, para a prática clínica apenas é determinado um pequeno número destes, sendo os grupos ABO e Rhesus (Rh) os mais comuns (Hoffbrand and Moss, 2020).

O sistema ABO baseia-se na presença ou ausência de antígeno A e/ou B na superfície dos eritrócitos e na presença ou ausência de anticorpos anti-A e/ou anti-B no plasma. Os anticorpos anti-antígenos eritrocitários surgem naturalmente contra aqueles que o próprio não possui. Assim o grupo A terá antígenos A à superfície e anticorpos anti-B no plasma, o grupo B terá antígenos B à superfície e anticorpos anti-A no plasma. O grupo AB possui antígenos A e B na superfície do eritrócito e nenhum anticorpo no plasma e o grupo 0 não possui qualquer antígeno de superfície e anticorpos anti-A e anti-B no plasma, como descrito na Tabela III. Estes anticorpos surgem naturalmente em indivíduos que não possuam o antígeno correspondente, normalmente sob a forma de IgM, podendo ser encontrados IgG em indivíduos que tenham tido contacto com esses antígenos externos, como em casos de transfusões sanguíneas ou gravidez (Hoffbrand and Moss 2020).

Tabela III - Antígenos e anticorpos do sistema ABO

	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo 0
Antígeno no eritrócito	A	B	A e B	Nenhum
Anticorpos no plasma	Anti-B	Anti-A	Nenhum	Anti-A e Anti-B

O sistema Rh baseia-se também na presença e ausência de antígeno D à superfície dos eritrócitos e de anticorpos anti-D no plasma. Este antígeno é codificado geneticamente por dois genes estruturalmente relacionados, o RhD e o RhCE. A presença ou ausência do gene RhD origina um fenótipo com ou sem presença de antígeno D, portanto Rh⁺ ou Rh⁻. A

presença do gene RhCE origina vários antígenos que consoante a combinação podem originar Rh⁺ ou Rh⁻, classificados como negativos ou chamados D fracos (Hoffbrand and Moss, 2020).

A determinação dos grupos sanguíneos no AVELAB é feita através da Prova direta em lâmina. Neste teste pesquisa-se a presença de antígenos à superfície dos eritrócitos. As células são obtidas a partir de sangue total colhido em tubos com EDTA. Em lâmina é colocado uma gota de cada soro, anti-A, anti-B e anti-D em contacto com uma gota de células e observa-se a presença ou ausência de aglutinação. A presença de aglutinação no soro anti-A indica que se trata do grupo A, no soro anti-B do grupo B, em ambos do grupo AB e em nenhum no grupo 0. A presença de aglutinação no soro anti-D indica que se trata de um Rh negativo e a presença de aglutinação de um Rh positivo.

Os grupos 0⁺, A⁺ e B⁺ são verificados e validados. Os grupos AB e Rh negativos são confirmados antes de dar o resultado.

O **Rh negativo** é confirmado pela técnica de Coombs. Após a lavagem dos eritrócitos do paciente coloca-se 1 gota de soro anti-D e uma gota dessas células e incuba-se em banho-maria por 30 minutos, ao fim dos quais é adicionado uma gota de reagente de Bliss (solução de baixa força iónica que potencia a ligação anticorpo-antígeno). As células são incubadas por mais 30 minutos sendo depois lavadas novamente. Em lâmina, é colocada uma gota de soro de Coombs e uma gota destas células e observando-se ao microscópio a presença ou ausência de aglutinação. Ausência de qualquer aglutinação indica um Rh⁻. Presença de pequenas aglutinações dispersas pode indicar a presença de um Rh fraco que necessita de ser confirmado fenotipicamente.

Os grupos AB são confirmados para despiste de reações cruzadas. Uma porção de eritrócitos do doente é lavada. Em três tubos separados é colocada uma gota de soro anti-A, anti-B e anti-D e adicionada a cada um uma gota destas células e observa-se a presença de aglutinação. Se há aglutinação em todos os tubos, confirma-se o grupo AB, como observado na Figura 11.

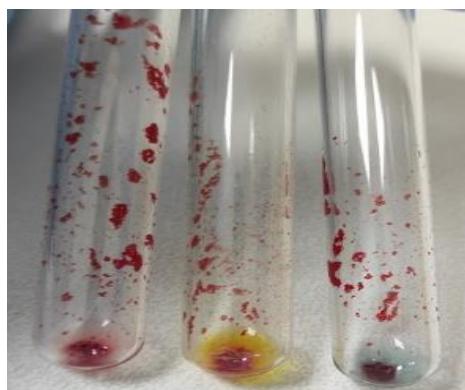


Figura 11 - Confirmação do Grupo AB. Aglutinação presente nos tubos com anti-A (vermelho), anti-B (amarelo) e anti-D (azul)

Teste de Coombs

O Teste de Coombs é um teste largamente utilizado, desde a testagem de grupos sanguíneos à pesquisa de possíveis doenças autoimunes associadas aos eritrócitos. Este teste tem como objetivo a pesquisa de autoanticorpos, anticorpos que o corpo produz contra os próprios eritrócitos. Para esta determinação é utilizado o soro de Coombs que contém antiglobulina humana obtida a partir de animais injetados com globulinas humanas (Hoffbrand and Moss, 2020).

O Teste de Coombs pode ser direto ou indireto. O teste direto pesquisa anticorpos que se encontrem ligados, *in vivo*, aos eritrócitos no plasma do utente. Após a lavagem dos eritrócitos do paciente, estas são colocadas em contacto com o Soro de Coombs, e caso estas possuam autoanticorpos à superfície, haverá ligação da antiglobulina humana aos mesmos e, portanto, aglutinação (Hoffbrand and Moss, 2020).

O Teste de Coombs indireto consiste na pesquisa de anticorpos irregulares, ou autoanticorpos, no soro do paciente. Para isso o soro do utente é colocado em contacto com eritrócitos de fenótipo conhecido *in vitro* (Hoffbrand and Moss, 2020). No AVELAB são utilizadas células 0 positivas dado que em regime ambulatorio, onde se insere o laboratório, este teste é essencialmente pedido em grávidas para o despiste da produção de globulinas anti-D, no caso de mães Rh-. As células 0 positivo são selecionadas a partir dos grupos sanguíneos determinados no dia anterior, sendo misturadas três amostras de sangue 0Rh+ de pessoas diferentes, preferencialmente homens ou mulheres fora da idade fértil. O soro de Coombs e as células são incubadas durante uma hora, lavadas e depois colocadas em contacto com o soro de Coombs em lâmina. Observa-se ao microscópio a presença ou ausência de aglutinação.

Se no soro do paciente existirem autoanticorpos, estes ligam-se aos eritrócitos. A antiglobulina humana vai ligar-se aos anticorpos ligados à superfície dos eritrócitos e depois entre si, causando aglutinação e, portanto, um teste positivo, como ilustrado na Figura 12. Os testes positivos são repetidos no dia seguinte com outras células 0 positivas. Se o resultado positivo se repetir é pedida uma nova colheita de sangue para tubos de soro e hemograma para enviar para um laboratório exterior que irá repetir a prova de Coombs e caso positivo fará o título do anticorpo.

A existência de autoanticorpos pode ocorrer em mulheres Rh negativo que tenham tido gestações anteriores com fetos Rh positivos e não tenham realizado a imunização. A presença destes anticorpos na mulher não lhe traz consequências visto que se trata de anticorpos anti-

D e sendo esta Rh negativo, não possui o antígeno D ao qual este se liga. No entanto, numa próxima gravidez, com feto Rh positivo, os anticorpos anti-D podem atravessar a placenta, uma vez que são IgG, e ligar-se ao antígeno D presente nos eritrócitos do feto. Esta ligação irá causar destruição dos eritrócitos no feto originando a anemia hemolítica do recém-nascido (Hoffbrand and Moss, 2020).

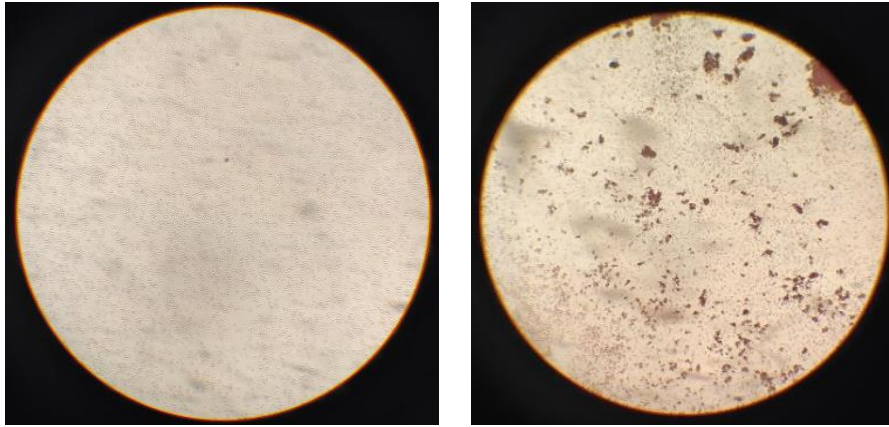


Figura 12 - Teste de Coombs visualizado ao microscópio. À esquerda, teste negativo, sem aglutinação; à direita, teste positivo com aglutinação.

Bioquímica

A Bioquímica Clínica desempenha um papel fundamental no diagnóstico clínico, permitindo diagnosticar e monitorizar patologias em diversas áreas da medicina. No AVELAB a área da Bioquímica encontra-se associada à área da Imunologia, dado que o analisador *Alinity ci*, aí existente, engloba técnicas químicas e imunoquímicas que permitem a determinação de parâmetros analíticos quer no âmbito da Bioquímica, quer da Imunologia. É também utilizado o equipamento *Capillarys 2* para a realização da eletroforese das proteínas plasmáticas.

O setor da Bioquímica recebe amostras de sangue em tubos com gel separador, de onde após coagulação e centrifugação se obtêm os soros. Se suficiente, a mesma amostra de soro é usada para a determinação de todos os parâmetros pedidos para esse utente. Como referido anteriormente, antes de colocar as amostras no analisador é necessário avaliar o aspeto do soro de forma a evitar falsos resultados analíticos, avaliando a presença de hemólise, lipemia ou icterícia.

Para efeitos deste relatório irei mencionar resumidamente os parâmetros bioquímicos com os quais mais tive contacto, agrupados pelas áreas de diagnóstico.

Equilíbrio eletrolítico

A avaliação do equilíbrio eletrolítico requer a determinação do ionograma sanguíneo que consiste, essencialmente, na determinação das concentrações séricas dos iões sódio, potássio e cloreto. Os principais iões do fluido extracelular são o sódio, o cloreto e o bicarbonato, ao passo que no fluido intracelular são o potássio e o fosfato.

Sódio

O sódio é o principal catião extracelular, encontrando-se em indivíduos adultos saudáveis no intervalo 133-146 mmol/L. O sódio circulante é obtido através da alimentação e pode ser eliminado por excreção urinária (mais comum), pelo suor ou pelas fezes (Allan Gaw *et al.*, 2013).

A diminuição dos níveis de sódio no plasma, designada por hiponatrémia, pode resultar da perda do mesmo devido a patologias gastrointestinais ou renais, ou do aumento do volume de água, causado por exemplo pelo aumento da hormona antidiurética (ADH). A perda de sódio é mais frequente que a retenção de água (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Por outro lado, o aumento dos níveis de sódio plasmáticos acima dos valores de referência designado por hipernatrémia, pode resultar da perda/diminuição do volume de água, como

consequência de desidratação ou falha na secreção de ADH, aumento do seu consumo, por exemplo para tratamento da acidose, ou diminuição da sua excreção resultante do hiperaldosteronismo (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Potássio

O potássio é o principal catião intracelular, sendo fundamental para o correto funcionamento das células. Alterações na sua concentração sérica fora dos limites de referência (3,5-5,3 mmol/L) irão causar alteração na resposta das células musculares e nervosas, especialmente nas células cardíacas. O potássio circulante é obtido através da alimentação e é essencialmente eliminado por via renal e intestinal (Allan Gaw *et al.*, 2013).

O aumento da concentração de potássio no plasma é designado por hipercalemiemia. Esta pode resultar do aumento da ingestão, da redistribuição do potássio celular em casos de rabdomiólise, trauma, acidose metabólica, deficiência em insulina ou pseudohipocaliemia, ou da diminuição da excreção resultado de falência renal ou hipoaldosteronismo (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Por sua vez, a hipocaliemia é definida pela diminuição na concentração de potássio no plasma. Esta pode resultar da redistribuição celular devido a situações de alcalose metabólica, de tratamentos com insulina, β -agonistas ou tratamento de anemias. Também pode ser causada devido ao aumento da excreção urinária, por ação de diuréticos, em situações de hiperaldosteronismo ou de patologias tubulares ou devido ao aumento da excreção a nível intestinal em casos de diarreias ou vômitos intensos. Apesar de ser raro, pode também resultar de uma diminuição do consumo (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Cloreto

O íão cloreto é o anião em maior concentração no fluido extracelular nas concentrações de 98-108 mmol/L. O cloreto é obtido através da alimentação e eliminado a nível renal e gastrointestinal (Burtis *et al.*, 2015).

A diminuição dos níveis de cloreto séricos é designada por hipoclorémia e aumento por hiperclorémia. Estas alterações acompanham, em geral, as de sódio, dado que normalmente variam ambos em paralelo (Burtis *et al.*, 2015).

Marcadores da Função Renal

O rim desempenha um papel fundamental na homeostasia do organismo desempenhando funções de regulação da água, dos eletrólitos e do equilíbrio ácido-base, e de excreção de produtos do metabolismo como a ureia, creatinina, ácido úrico entre outros. A sua unidade funcional é o nefrônio, e como observado na Figura 13, é aí onde se realizam as funções de filtração a nível glomerular, de reabsorção nos túbulos proximal e coletor e de secreção no túbulo distal (Allan Gaw *et al.*, 2013).

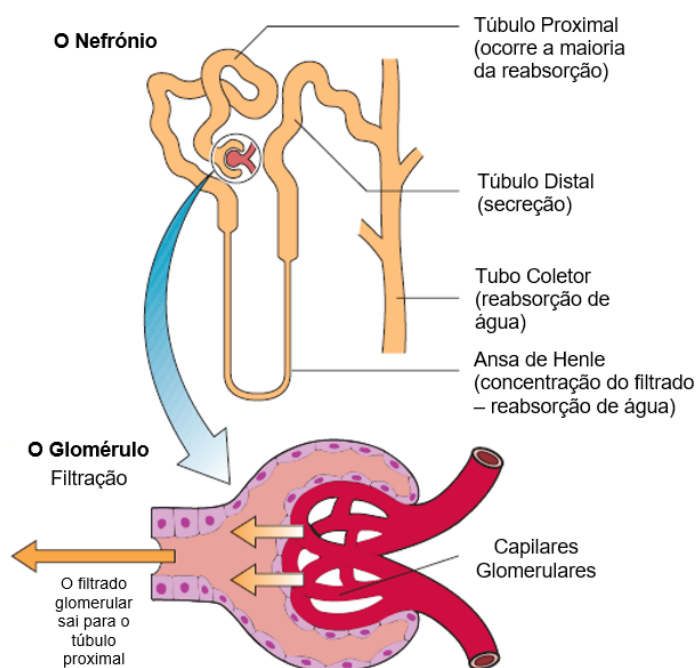


Figura 13 - Representação do nefrônio e do glomérulo renal e as respetivas funções (Adaptado de Allan Gaw *et al.*, 2013).

Sendo um órgão responsável pela eliminação de diversos catabolitos, nomeadamente, creatinina, ureia e ácido úrico e, por vezes, a única via de excreção dos mesmos, a determinação destes no sangue e, por vezes, na urina torna-se útil para avaliar o estado do rim bem como para o apoio no diagnóstico de patologias noutros órgãos. Abaixo, referem-se as determinações analíticas frequentemente efetuadas no âmbito da avaliação da função renal.

Creatinina Sérica

A creatinina é um produto da hidrólise da creatina, cuja concentração plasmática é mantida através da filtração glomerular, sendo assim usada a determinação da concentração sérica de creatinina para avaliação da função glomerular. É um marcador de baixa sensibilidade porque é necessária uma alteração significativa da taxa de filtração glomerular para que haja repercussão significativa na concentração sérica de creatinina. Na Figura 14, podemos

observar que apenas quando a taxa de filtração glomerular é inferior a 60 ml/min, a concentração sérica da creatinina ultrapassa os valores de referência (Allan Gaw et al., 2013).

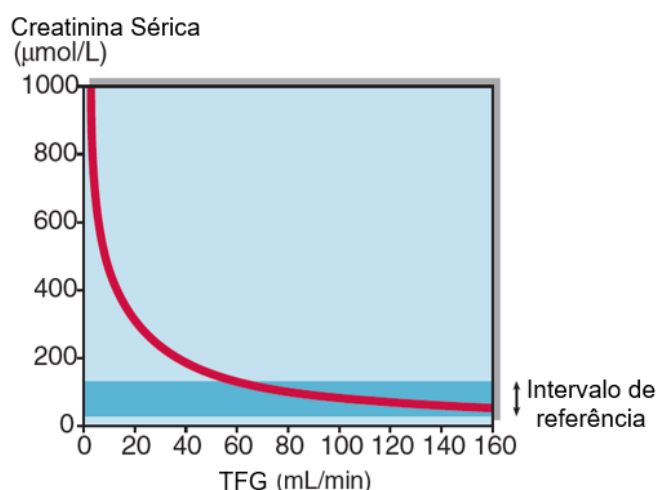


Figura 14 – Relação entre a Taxa de Filtração Glomerular e o aumento da concentração sérica da creatinina (Adaptado de Allan Gaw et al., 2013).

Taxa de filtração glomerular

A taxa de filtração glomerular (TFG) é definida pelo volume de plasma que é depurado de determinada substância, em determinado período de tempo, através da filtração glomerular (Allan Gaw et al., 2013). A creatinina e a cistatina C são duas das moléculas a partir das quais é possível avaliar a taxa de filtração glomerular, através dos "testes de clearance", que constituem os testes mais sensíveis para avaliação da função glomerular. O teste mais usado para a medição da TFG é o teste da clearance da creatinina (Allan Gaw et al., 2013).

A **clearance da creatinina** é calculada a partir da fórmula abaixo indicada, em que U é a concentração de creatinina na urina, P é a concentração plasmática de creatinina e V é o débito de urina eliminada (ml/mn), determinado a partir do volume de urina produzida em 24 h (Allan Gaw et al., 2013).

$$\text{Taxa de Filtração Clomerular (ml/min)} = \frac{(U \left(\mu \frac{\text{mol}}{\text{ml}} \right) \times (V \text{ (ml/ml)}))}{(P \text{ (}\mu\text{mol/ml)})}$$

A concentração plasmática da creatinina pode ser influenciada por diversos fatores extrarenais como o peso (massa muscular), a idade, o sexo e a etnia. Devido á importância da influência destes fatores é geralmente introduzindo nesta fórmula um fator de correção ($\times 1,73 \text{ m}^2$ (área média)/A (área corporal do paciente, em m^2) para a normalização relativa a uma pessoa de tamanho médio. De referir que esta determinação envolve a colheita da urina durante 24h, o que se torna incómodo para os utentes, podendo por vezes existir incertezas no volume. De forma a minimizar os efeitos destas variáveis na relação entre a TFG e a

clearance da creatinina foram propostos diversos modelos matemáticos sendo utilizadas fórmulas de cálculo, com base na concentração sérica da creatinina, das quais são referidas as mais utilizadas (Burtis *et al.*, 2015; Kaplan and Pesce, 2010).

Fórmula da Modificação da Dieta na Doença Renal (MDRD):

$$\text{TFG Estimada (ml/min/1.73m}^2\text{)} = (\text{concentração plasmática da creatinina (mg/dL)})^{-1.154} \times (\text{idade})^{-0.203} \times A$$

A = 1,210 se utente raça negra
= 0,742 se utente feminino

Fórmula de Cockcroft-Gault:

$$\text{Clearance da Creatinina Estimada (ml/min)} = \frac{[140 - \text{Idade (anos)}] \times [\text{Peso (Kg)}]}{[72 \times \text{Creatinina Sérica (mg/dL)}]} \times 0,85 \text{ (se mulher)}$$

Como descrito anteriormente, a TFG varia com o sexo e a idade entre outros fatores, sendo que para adultos jovens o valor de referência se encontra por volta de 125 mL/min/1,73 m. A diminuição da TFG abaixo dos valores de referência, para um dado sexo e uma dada idade, indica que existe insuficiência da função de filtração renal podendo indicar, em casos de um valor persistente abaixo de 60 ml/mn o desenvolvimento de Doença Renal Crónica (Burtis *et al.*, 2015).

Ureia

A ureia é o produto final do metabolismo das proteínas e aminoácidos, sendo essencialmente eliminada a nível renal. É livremente eliminada por filtração glomerular e não é reabsorvida ativamente ou secretada a nível tubular, no entanto 40-70% da ureia filtrada atravessa passivamente as células tubulares para o espaço intersticial, reentrando depois na corrente sanguínea (Burtis *et al.*, 2015).

O aumento da ureia na corrente sanguínea é um marcador pouco específico da função renal, dado que pode ser influenciado por diversos fatores externos como pela dieta, estado fisiológico ou fármacos. A determinação sérica da ureia é útil quando conjugada com a da creatinina de forma a avaliar se o seu aumento é devido a causa pré ou pós-renal. Se os valores das concentrações séricas da creatinina e a ureia se encontrarem muito aumentados trata-se de uma causa pós-renal. Por outro lado, se a ureia se encontrar aumentada e a creatina ligeiramente aumentada, ou mesmo dentro dos valores normais, poderá ser uma causa pré-renal (Burtis *et al.*, 2015).

Ácido Úrico

O ácido úrico é o produto resultante da degradação das purinas adenina e guanina. A sua concentração sérica é inespecífica para avaliação da função renal, dado que pode ser influenciada por fatores extra renais (Burtis *et al.*, 2015).

A hiperuricémia é definida por valores elevados de ácido úrico no sangue. Quando prolongada, a hiperuricémia pode levar ao desenvolvimento de doença renal, no entanto esta determinação é mais frequentemente para acompanhamento da gota. A diminuição das quantidades de ácido úrico no sangue, designada de hipouricémia, é menos frequente podendo resultar de defeitos a nível hepático ou na reabsorção a nível renal (Burtis *et al.*, 2015).

Proteinúria

A proteinúria refere-se à anormal excreção de proteína na urina. Esta pode ocorrer por vários mecanismos entre eles a perda/diminuição da função glomerular, o excesso de proteína de baixa massa molecular na corrente sanguínea ou a disfunção na reabsorção tubular (Allan Gaw *et al.*, 2013).

A causa mais frequente é a perda da função de filtração glomerular. A barreira de filtração glomerular normalmente não permite a passagem de proteínas grandes como a albumina, devido à sua massa molecular e à sua carga elétrica negativa. Quando a albumina surge na urina é indicador que a barreira de filtração perdeu a sua função, permitindo a passagem de moléculas de maiores dimensões para o filtrado glomerular, que normalmente são retidas. (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Algumas proteínas de baixa massa molecular como a β -2-microglobulina ou a α -1-microglobulina podem passar livremente, mas são normalmente reabsorvidas nos túbulos. Quando a função de reabsorção tubular se encontra alterada, estas pequenas proteínas não são reabsorvidas e seguem no filtrado podendo ser detetadas na urina. A sua determinação na urina permite avaliar a função tubular (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Quando a concentração de proteínas de baixa massa molecular aumenta na corrente sanguínea devido a patologias extra renais, a capacidade tubular de reabsorção dessas proteínas é ultrapassada e as proteínas permanecem no filtrado glomerular e são eliminadas na urina. O mieloma múltiplo é uma patologia mieloproliferativa que resulta da expansão clonal de plasmócitos que produzem um dado tipo de imunoglobulina clonal em excesso. Paralelamente, ocorre um aumento exponencial das cadeias leves dessa imunoglobulina no plasma, que devido à sua baixa massa molecular, são filtradas facilmente o que leva ao aumento da sua

concentração no filtrado glomerular. Devido a este aumento, a capacidade de reabsorção tubular desta proteína é ultrapassada, passando a ser eliminada na urina, o que se designa de Proteinúria de Bence-Jones (Allan Gaw *et al.*, 2013).

A presença de proteína na urina pode ser detetada através do teste de pesquisa integrado na análise sumária de urina, que se trata de um teste semiquantitativo, ou pode ser determinada por métodos gerais de quantificação da proteína total na urina das 24h. (Allan Gaw *et al.*, 2013).

A proteinúria pode estar presente em situações não patológicas como pós-exercício físico intenso por aumento da pressão hidrostática no glomérulo, em estados febris ou por alteração postural, denominado de proteinúria ortostática (Burtis *et al.*, 2015).

Microalbuminúria

A determinação da microalbuminúria refere-se à quantificação da albumina numa amostra de urina, em quantidades muito pequenas, com recurso a métodos imunoquímicos específicos, quando os testes habituais de pesquisa de proteína na urina dão negativo. Esta determinação deve ser efetuada numa amostra de urina de 24h, mas pode também ser determinada na primeira urina da manhã ou numa amostra ao acaso através do rácio microalbuminúria/creatininúria. Considerando que a eliminação de creatinina num determinado utente é constante, a utilização deste rácio permite eliminar os problemas inerentes á colheita das 24h. Considera-se microalbuminúria quando a albumina está presente na urina em quantidades superiores a 30 mg/g de creatinina (Allan Gaw *et al.*, 2013; Burtis *et al.*, 2015).

A presença de microalbuminúria indica que existe lesão ou perda inicial da função glomerular, com algum aumento da permeabilidade glomerular que permite a passagem de pequenas quantidades de albumina. A presença de microalbuminúria é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de doença renal, especialmente em doentes diabéticos (Allan Gaw *et al.*, 2013; Burtis *et al.*, 2015).

Análise Sumária de Urina

A análise sumária de urina ou urina do tipo II é um teste de pesquisa de diversos compostos numa amostra da primeira urina da manhã e que inclui a análise microscópica do sedimento e a observação macroscópica da urina. Apesar de se tratar de uma análise de rotina, tem grande utilidade no despiste de algumas patologias renais.

O teste é realizado mergulhando uma tira de teste com diversos blocos coloridos numa alíquota da urina a analisar, retirando e aguardando de 30 segundos a 2 minutos e depois comparando os blocos coloridos com um quadro de referência. Estes blocos coloridos contêm os reagentes adequados a cada analito, que alteram de cor consoante a presença, a ausência e a quantidade dos analitos presentes. Trata-se de um método semiquantitativo colorimétrico, rápido e que fornece informação sobre a presença de diversos parâmetros como a glicose, a bilirrubina, o urobilinogénio, corpos cetónicos, densidade, pH, proteína, sangue/hemoglobina, nitritos e leucócitos (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Para além da pesquisa dos parâmetros bioquímicos já referidos e da determinação da densidade, a análise sumária da urina inclui ainda a observação macroscópica da urina para avaliar a aparência através da observação do volume, cor e turvação. Na observação microscópica do sedimento urinário é avaliada e confirmada a presença de eritrócitos, leucócitos, células epiteliais, cilindros e de cristais. Embora não se trate de uma análise bacteriológica, é também avaliada a presença de bactérias patogénicas que podem causar infeções urinárias dado que estas estão normalmente associadas a alteração na área dos nitritos na tira de teste. Um teste positivo na área das proteínas deve ser confirmado por métodos quantitativos para a determinação da concentração de proteínas totais ou para a quantificação da albuminúria, com recurso a métodos imunoquímicos (Allan Gaw *et al.*, 2013).

No AVELAB, a análise sumária de urina é realizada de forma automática pelos equipamentos *AutionMaxAX-4030* que executa e analisa as tiras de teste e *SediMax* que analisa o sedimento urinário por microscopia ótica. Os resultados são depois comunicados ao sistema *Apollo* onde são depois avaliados e validados.

Doenças Cardiovasculares e Marcadores Bioquímicos

O coração desempenha um papel vital no organismo garantindo o bombeamento do sangue para a circulação pulmonar de forma a obter oxigénio, e para a circulação periférica levando oxigénio e nutrientes a todos os órgãos e tecidos. As doenças cardiovasculares podem afetar diretamente ou indiretamente o coração, podendo, entre outras, dividir-se em síndromes coronárias agudas, insuficiência cardíaca congestiva e aterosclerose. O diagnóstico destas patologias é realizado conjugando o eletrocardiograma com os marcadores bioquímicos.

Aterosclerose e Marcadores de Risco Cardiovascular

A hipercolesterolemia é um dos marcadores mais relevantes para o risco de desenvolvimento de aterosclerose. O colesterol desempenha funções essenciais no organismo fazendo parte da composição das membranas celulares e sendo necessário para a síntese de hormonas e

também dos ácidos biliares. Pode ser obtido a partir da dieta ou da sua biossíntese endógena. Apesar de ser uma molécula essencial ao organismo, quando em concentração elevada na corrente sanguínea, em particular, associado às LDL, pode ser nocivo e contribuir para o processo aterosclerótico (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Os lípidos sintetizados no fígado são transportados na corrente sanguínea nas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Por ação da lipoproteína lípase (LPL) estas vão perdendo triglicerídeos, e por ação das lipoproteínas de alta densidade (HDL) ganham colesterol, formando as lipoproteínas de densidade intermédia (IDL) e por fim as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Allan Gaw *et al.*, 2013).

As LDL são responsáveis por transportar o colesterol para as células, que as incorporam após a sua ligação aos recetores de LDL. Normalmente o excesso de colesterol das células é removido pelas HDL que o retorna ao fígado, processo denominado por transporte reverso do colesterol, desempenhando assim uma função anti aterosclerótica (Burtis *et al.*, 2015).

A hipercolesterolemia está geralmente associada a uma maior quantidade de LDL na circulação e por consequência de vários fatores, estas tendem a acumular-se na íntima do endotélio vascular, onde permanecem durante mais tempo que o habitual. Esta acumulação desencadeia processos oxidativos e inflamatórios que culminam na formação da placa aterosclerótica. Assim, a aterosclerose é um processo inflamatório crónico que se caracteriza pela acumulação de LDL oxidadas na íntima do endotélio das artérias, formando placas ateroscleróticas. Estas placas vão progredindo e diminuindo o lúmen vascular, diminuindo assim, o aporte sanguíneo aos tecidos. Numa fase avançada podem romper dando origem a trombos que podem obstruir totalmente os vasos sanguíneos causando hipoxia nos tecidos. A formação de placas ateroscleróticas é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de síndromes coronárias agudas ou acidentes vasculares cerebrais (Burtis *et al.*, 2015).

Os marcadores de risco cardiovascular tradicionais prendem-se com a determinação das concentrações séricas dos triglicerídeos, do colesterol total, do colesterol HDL e do colesterol LDL. Quando a concentração sérica dos triglicerídeos é inferior a 300 mg/dL, o colesterol LDL é normalmente determinado pela Fórmula de Friedwal abaixo descrita:

$$\text{Colesterol LDL} = (\text{colesterol total}) - (\text{colesterol HDL}) \frac{(\text{triglicerídeos})}{5}$$

Têm sido demonstrado que concentrações séricas de colesterol total e de colesterol LDL elevadas, associadas a valores baixos de colesterol HDL são indicadores de elevado risco de

desenvolvimento de doença cardiovascular, devido ao papel que estes desempenham no processo aterogénico (Burtis *et al.*, 2015).

Para além dos marcadores de risco referidos, outros poderão ser apontados. A lipoproteína (a) é estruturalmente semelhante às LDL, contendo uma glicoproteína, a apolipoproteína (a), ligada covalentemente. Esta apolipoproteína é semelhante ao plasminogénio, no entanto não é capaz de ativar a plasmina, tendo uma ação anti-fibrinolítica. O seu aumento na corrente sanguínea contribui para o aumento do risco de doença cardiovascular (Lieberman and Peet, 2018).

A determinação das LDL oxidadas e dos anticorpos anti-LDL oxidadas podem ser bons indicadores para perceber a extensão do dano vascular após a instalação do processo aterosclerótico (Burtis *et al.*, 2015).

A Proteína reativa C (PCR) é uma proteína de fase aguda libertada durante processos inflamatórios. A determinação da PCR de alta sensibilidade (hsPCR) permite a avaliação do risco cardiovascular (Burtis *et al.*, 2015).

Síndromes Coronárias Agudas e Marcadores de Lesão Cardíaca

As síndromes coronárias agudas caracterizam-se pela ocorrência de eventos isquémicos no músculo cardíaco (miocárdio). Variam de gravidade, desde a angina de peito onde há um aporte inadequado de sangue ao miocárdio, mas que não chega a provocar morte celular, ao enfarte agudo do miocárdio onde a falta de aporte sanguíneo é tão extensa que causa a morte das células musculares cardíacas (miócitos). A causa mais comum das síndromes agudas coronárias é a aterosclerose (Burtis *et al.*, 2015).

Quando ocorre a morte ou dano dos miócitos, ocorre libertação do conteúdo intracelular. É na quantificação de algumas das moléculas libertadas para a corrente sanguínea que se baseia o diagnóstico destas patologias, nomeadamente, troponinas, creatina cinase e mioglobina (Burtis *et al.*, 2015).

Troponinas

As troponinas são proteínas envolvidas no processo de contração muscular, compostas por três subunidades: C, T e I. Todas as subunidades estão presentes nas células musculares cardíacas e esqueléticas. Apenas a troponina T e I possuem isoformas específicas do músculo cardíaco, sendo as troponinas cardíacas c (cTnT) e I (cTnI) específicas do mesmo. A troponina C (TnC) está presente em maiores quantidades no músculo esquelético, podendo ser útil no diagnóstico de outras patologias (Burtis *et al.*, 2015).

As troponinas são libertadas mais rapidamente e em maiores quantidades para a corrente sanguínea que os restantes marcadores, atingindo o seu pico máximo ao fim de 12 horas e mantendo-se elevadas durante uma a duas semanas. Devido à sua especificidade e sensibilidade, as troponinas têm-se tornado um marcador de eleição no diagnóstico do enfarte agudo do miocárdio (Burtis *et al.*, 2015).

No AVELAB é determinada a troponina cardíaca I de alta sensibilidade (hs cTnI), através de métodos imunoquímicos que permite detetar esta troponina em baixas concentrações na corrente sanguínea.

Creatina Cinase

A creatina cinase (CK) é uma enzima presente nas células musculares cardíacas e esqueléticas e no cérebro. Foram identificadas três isoenzimas da CK no citoplasma, a CK-1, CK-2 e a CK-3. A isoforma CK-I ou CK-BB é a predominante no cérebro, a CK-3 ou CK-MM é predominante nas células musculares esqueléticas e cardíacas e a CK-2 ou CK-MB é a forma mais específica das células do músculo cardíaco, onde existe numa concentração relativa mais elevada que nos outros tecidos (Burtis *et al.*, 2015).

Tal como as troponinas, a CK-MB atinge o seu pico máximo após cerca de 12 horas da lesão, no entanto esta isoenzima é libertada em menor quantidade e mantém-se durante menos tempo na circulação sanguínea (Burtis *et al.*, 2015).

Mioglobina

A mioglobina é uma proteína que liga o oxigénio que se encontra presente nas células musculares cardíacas e esqueléticas sendo, por isso, um parâmetro pouco específico. A concentração na corrente sanguínea aumenta rapidamente após a lesão (cerca de uma hora), no entanto é eliminada rapidamente e pode ser libertada por qualquer lesão muscular (Burtis *et al.*, 2015).

Insuficiência Cardíaca Congestiva e Marcadores de Stress Cardíaco

A insuficiência cardíaca congestiva é uma síndrome caracterizada pela anormal retenção de sódio e água que se manifesta por falta de ar e edema. Inicialmente, não há morte dos miócitos, mas sim um esforço das células musculares para manter o normal bombeamento sanguíneo (Burtis *et al.*, 2015).

Peptídeo Natriurético B

O peptídeo natriurético B (Brain Natriuretic Peptide – BNP) é uma hormona libertada pelas células cardíacas em situações de *stress*. Têm diversas funções, entre elas, promover a excreção de sódio a nível renal. A concentração sérica de BNP é dependente de sexo e idade encontrando-se aumentada em situações de insuficiência cardíaca congestiva devido ao esforço das células musculares (Burtis *et al.*, 2015).

Marcadores Hepáticos

O fígado desempenha diversas funções no organismo, nomeadamente no metabolismo dos lípidos, proteínas e hidratos de carbono, na destoxificação e eliminação de substância endógenas e exógenas e na síntese de diversas moléculas como hormonas e proteínas (Burtis *et al.*, 2015).

Marcadores de Lesão Hepatocelular

O dano hepatocelular pode ocorrer devido a lesão nos hepatócitos que causa o aumento das aminotransferases na corrente sanguínea, ou devido a dano hepatobiliar, com lesão dos canalículos biliares e aumento plasmático da fosfatase alcalina (ALP) e da gama-glutamil transpeptidase (γ -GT). É importante notar que todos estes marcadores são enzimas que se encontram presentes em diversos tecidos, pelo que a sua análise deve ser realizada em conjunto e com outros marcadores hepáticos e não isoladamente (Burtis *et al.*, 2015).

Aminotransferases

A alaninamainotranferase (ALT) e a aspartatoaminotranferase (AST) são enzimas que se encontram presentes em vários tecidos. A AST é encontrada em grandes quantidades no coração, fígado, músculo esquelético e rim. A ALT é mais específica, sendo encontrada em maiores quantidades no fígado e no rim. Devido à elevada quantidade em que se encontram presente nos hepatócitos, ambas são usadas em conjunto como indicadores de lesão hepática (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Em quase todos os insultos hepáticos, a ALT está mais elevada que a AST exceto em casos de hepatite alcoólica, cirrose ou neoplasia hepática em que se verifica um aumento da AST superior ao da ALT. Nas hepatites agudas (de causa viral ou outra), os valores das aminotransferases podem estar aumentados antes dos sinais clínicos. A permanência de ALT elevada seis meses após um episódio de hepatite aguda é indicador de hepatite crónica (Allan Gaw *et al.*, 2013; Burtis *et al.*, 2015).

No AVELAB, as aminotransferases são consideradas elevadas para valores superiores a 30 U/L nas mulheres e superiores a 50 U/L nos homens. Os aumentos mais comuns que observei eram resultado de infecções virais provocadas, por exemplo, pelo EBV, hepatite C ou de casos de consumo elevado de álcool.

ALP e γ -GT

A fosfatase alcalina é uma enzima presente no osso, fígado, intestino delgado, placenta e rim. Normalmente, valores elevados de fosfatase alcalina no plasma provêm essencialmente do fígado e osso (Burtis *et al.*, 2015).

A síntese de ALP pelas células hepáticas aumenta em situações de obstrução da árvore biliar (colestase intra ou extra-hepática). Os seus valores plasmáticos podem aumentar até dez vezes nestas situações, voltando ao normal após a desobstrução. A fosfatase alcalina pode também estar aumentada em situações de neoplasia hepática, cirrose ou em situações de atividade osteoclástica aumentada (Burtis *et al.*, 2015).

A γ -GT é uma enzima que se encontra presente nos túbulos proximais renais, no fígado, pâncreas, intestino e placenta (Burtis *et al.*, 2015). Tal como a fosfatase alcalina, o aumento da γ -GT ocorre frequentemente em situações de colestase podendo alcançar valores cinco vezes superiores aos valores de referência. Pode também estar aumentada em situações de neoplasia hepática, hepatites virais, cirrose e em situações de alcoolismo (Burtis *et al.*, 2015).

Marcadores da Função Hepática

Função de Excreção

A função de excreção do fígado pode ser avaliada pela determinação da bilirrubina. A bilirrubina resulta principalmente do metabolismo do grupo heme presente na hemoglobina e noutras hemoproteínas. O ferro do grupo heme é reutilizado enquanto o anel de protoporfirina é convertido a bilirrubina. Esta não é solúvel em água, por isso é transportada na corrente sanguínea até ao fígado ligada à albumina, tendo o nome de bilirrubina não conjugada ou indireta. No fígado, a bilirrubina indireta é conjugada com o ácido glucorónico, formando a bilirrubina conjugada ou direta, solúvel em água, que é excretada para a vesícula biliar. A vesícula biliar drena a bilirrubina conjugada para o intestino onde esta pode ser convertida a estercobilinogénio pela flora intestinal, ser reabsorvida e voltar a ser excretada no intestino e ser excretada pela urina na forma de urobilinogénio (Allan Gaw *et al.*, 2013).

O aumento da bilirrubina indireta pode ocorrer por aumento da sua produção causada por mecanismos de hemólise dos eritrócitos que libertam hemoglobina, devido à deficiência do seu transporte para o interior do hepatócito (como nos casos de hepatite aguda) ou deficiência da sua conjugação no fígado que pode ser devida a defeitos enzimáticos congénitos ou lesão hepática grave (Burtis *et al.*, 2015).

O aumento da bilirrubina conjugada está principalmente associado a mecanismos de colestase ou obstrução das vias biliares e a hepatites agudas. Nos casos de obstrução, a conjugação já ocorreu, mas não há drenagem adequada para a vesícula biliar o que leva à sua acumulação na corrente sanguínea. Quando em excesso na corrente sanguínea, a bilirrubina conjugada pode ser excretada a nível renal sendo detetada na urina (Burtis *et al.*, 2015).

A acumulação de bilirrubina na corrente sanguínea pode causar icterícia que se caracteriza pela acumulação de bilirrubina nos tecidos e confere cor amarela à pele (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Verifiquei que nos casos em que os valores de bilirrubina se encontravam aumentados, o soro analisado por vezes apresentava uma tonalidade amarela, mais ou menos intensa.

Função de Síntese

A função de síntese do fígado pode ser avaliada através da determinação da albumina sérica e dos fatores de coagulação.

Albumina Sérica

A albumina é uma proteína exclusivamente sintetizada pelo fígado e tem um longo tempo de semivida no plasma, de cerca de 20 dias, pelo que por vezes o valor da albumina pode ainda estar dentro dos valores de referência, mas já existir insuficiência hepática (Allan Gaw *et al.*, 2013).

A hipoalbuminémia, consiste na diminuição dos níveis de albumina plasmáticos, está normalmente associada a casos de cirrose, hepatites autoimunes e alcoólicas (Burtis *et al.*, 2015).

Tempo de Protrombina

Os fatores de coagulação de natureza proteica envolvidos no processo hemostático são sintetizados no fígado, pelo que a alteração na sua síntese se vai refletir nos tempos de coagulação. O tempo de protrombina é o teste mais utilizado para avaliar a capacidade de síntese hepática dos fatores de coagulação. O aumento do tempo de protrombina pode indicar

diminuição da produção dos fatores de coagulação e, portanto, da capacidade de síntese (Burtis *et al.*, 2015).

Função Metabólica/Destoxificação

A função de destoxificação do organismo pode ser avaliada pela determinação da amónia na corrente sanguínea. A amónia circulante resulta essencialmente da desaminação dos aminoácidos podendo também resultar do metabolismo bacteriano intestinal. É eliminada pelo ciclo da ureia que ocorre no fígado. A amónia é neurotóxica e quando se encontra em excesso na corrente sanguínea tende a acumular-se a nível do sistema nervoso central, principalmente no cérebro, dando origem à Encefalopatia Hepática (Burtis *et al.*, 2015).

A hiperamonémia pode ser de causa hepática devido a hepatites fulminantes ou cirrose onde a degradação dos hepatócitos compromete o metabolismo normal da amónia (Burtis *et al.*, 2015).

Marcadores da Função Tiroideia

A tiroide sintetiza, armazena e secreta as hormonas tiroideias, a tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), que são essenciais para o desenvolvimento do organismo e para o seu metabolismo. Estas circulam na corrente sanguínea maioritariamente ligadas a proteínas, no entanto, apenas a porção livre possui efeitos biológicos. A produção destas hormonas é regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise sob mecanismos de *feedback*. A hormona libertadora de tirotrófina (TRH) libertada pelo hipotálamo induz a síntese da hormona tiroestimulante (TSH) que por sua vez atua na tiroide levando à produção de T3 e T4 (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Para efeitos de diagnóstico clínico, as determinações frequentes no AVELAB são as da TSH, da T3 e T4 totais e livres.

Um valor elevado de TSH na presença de uma T4 livre diminuída indica um hipotiroidismo primário, onde se observa perda da função da própria tiroide, enquanto o hipertiroidismo se caracteriza por níveis séricos de T4 livre elevados e de TSH diminuídos ou indetetáveis (Allan Gaw *et al.*, 2013).

Proteínas Plasmáticas

A análise das proteínas séricas inclui a determinação da concentração das proteínas totais, da concentração de albumina e de globulinas, a análise eletroforética e a determinação da concentração da proteína C reativa.

Proteínas Totais

O aumento e diminuição das proteínas totais no plasma podem estar associados a processos patológicos, no entanto não fornecem informação sobre quais os órgãos afetados. O grau de hidratação é um fator relevante que influencia a concentração das proteínas totais no plasma, sendo que a hiperproteinemia indica, frequentemente, estados de desidratação e hipoproteinemia, retenção de água pelo organismo. O aumento significativo da síntese de proteínas anômalas, tais como imunoglobulinas, a sua perda através do rim ou diminuição da síntese por insuficiência hepática, são causas a ter em conta na alteração da proteinemia total (Burtis *et al.*, 2015).

Albumina Sérica

A albumina é a proteína mais abundante no plasma constituindo mais de metade das proteínas plasmáticas. Tem como principais funções a manutenção da pressão oncótica do plasma e a ligação e transporte de diversas moléculas no plasma, tais como a bilirrubina, as hormonas tiroideias, diversos fármacos e os ácidos gordos livres (Burtis *et al.*, 2015).

O aumento dos níveis de albumina no plasma, designado hiperalbuminemia, está normalmente associado a estados de desidratação. Pode também estar aumentada quando o torniquete é aplicado durante muito tempo durante a colheita da amostra (Burtis *et al.*, 2015).

A hipoalbuminemia indica a diminuição dos níveis de albumina no plasma. Esta pode ser causada por estados inflamatórios, que causam o aumento da permeabilidade vascular, permitindo a passagem de albumina para o espaço extracelular. Pode também resultar de doença hepática associada a uma deficiência da capacidade de síntese, de insuficiência renal com perda urinária por alteração da permeabilidade glomerular, de perdas gastrointestinais ou queimaduras extensas. A hipoalbuminemia pode originar edema ou ascite devido à diminuição da pressão oncótica e à redistribuição da água nos espaços extracelulares (Burtis *et al.*, 2015).

Globulinas Séricas

As globulinas representam a restante fração proteica do plasma para além da albumina. A sua concentração é determinada por cálculo subtraindo o valor da albumina ao valor da concentração das proteínas totais.

Podem ser divididas através de eletroforese em α -, β - e γ -globulinas que podem ser separadas e quantificadas por eletroforese das proteínas plasmáticas (Burtis *et al.*, 2015).

Proteína C Reativa

A PCR é uma proteína de fase aguda. As proteínas de fase aguda encontram-se aumentadas durante processos inflamatórios, infecciosos ou quando ocorre lesão tecidual, desempenhando funções no combate aos agentes infecciosos. A PCR é uma das proteínas de fase aguda mais reativa, sendo possível detectar o aumento dos seus níveis séricos 6 a 12 horas após o insulto, atingindo o seu pico após 48 horas (Burtis *et al.*, 2015).

A PCR surge aumentada em várias situações como no enfarte agudo do miocárdio, stress, trauma, infeções, processos inflamatórios, como Lupus Eritematoso Sistémico, neoplasias ou no período pós-cirúrgico (Burtis *et al.*, 2015).

Eletroforese das Proteínas Séricas

A eletroforese das proteínas plasmáticas permite separar e quantificar as diferentes frações proteicas, de acordo com a sua carga elétrica, em cinco regiões que representam a albumina, α 1-globulinas, α 2-globulinas, β -globulinas e γ -globulinas, como evidenciado na Figura 20 (Burtis *et al.*, 2015).

A banda da albumina, representada mais à esquerda na Figura 20, é a mais marcada, o que demonstra a sua elevada quantidade no plasma quando comparada com as restantes bandas (Burtis *et al.*, 2015).

A banda das α 1- globulinas engloba diversas proteínas plasmáticas sendo a α 1-antitripsina, proteína inibidora da serina protease, a mais abundante. A α 1-antitripsina pode aumentar em casos de gravidez ou de toma de contraceptivos orais ou diminuir em casos de pancreatite severa ou perda de proteína devida a insuficiência renal (Burtis *et al.*, 2015).

Na banda das α 2- globulinas, a α 2-macroglobulina é a proteína em maior quantidade. Esta pode estar aumentada em casos de síndrome nefrótica, ao contrário das restantes proteínas plasmáticas que se encontram diminuídas nestes casos. Pode estar diminuída em casos de pancreatite aguda e carcinoma da próstata (Burtis *et al.*, 2015).

A banda β -globulinas é também composta por diversas proteínas, sendo a transferrina a mais abundante. As variações das quantidades de transferrina no plasma são discutidas mais à frente, no âmbito do metabolismo do ferro (Burtis *et al.*, 2015).

A banda das γ -globulinas engloba, essencialmente, as imunoglobulinas e a proteína C reativa. A imunoglobulinas são produzidas pelos linfócitos B como resposta a agentes imunogénicos externos. A proliferação clonal de células B irá levar ao aumento da concentração plasmática

de determinada imunoglobulina que se manifesta na eletroforese de zona por uma banda estreita e mais escura na zona das γ -globulinas. A produção desregulada de cadeias leves, característico do mieloma múltiplo, também pode originar uma banda mais saliente nesta zona, em particular, na eletroforese das proteínas eliminadas na urina (Burtis et al., 2015).

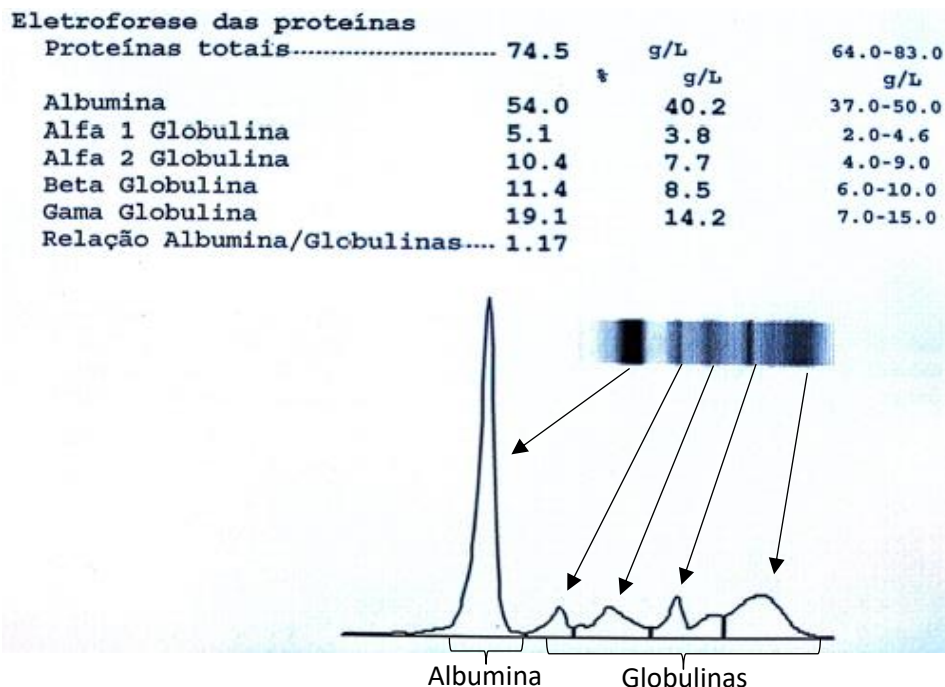


Figura 15 - Padrão normal de uma eletroforese das proteínas plasmáticas obtido no Laboratório Avelab.

Diabetes Mellitus

A Diabetes *Mellitus* é uma das patologias mais frequentes na prática clínica. É definida como uma síndrome caracterizada por hiperglicemia, ou seja, a glicose sanguínea encontra-se acima dos valores de referência e é classificada de acordo com a causa. A Diabetes *Mellitus* Tipo I é caracterizada pela ausência de produção de insulina pelas células β -pancreáticas, enquanto a Diabetes *Mellitus* Tipo II se caracteriza por uma resistência à atuação da insulina nos tecidos periféricos (Norma 033/2011 da DGS).

Segundo a Direção Geral da Saúde, o diagnóstico da diabetes é feito com base nos seguintes parâmetros:

Glicémia Plasmática

A medição da glicémia plasmática consiste na determinação dos níveis de glicose na corrente sanguínea em miligrama de glicose por decilitro (mg/dL) de sangue. Valores de glicémia plasmática inferiores a 70 mg/dl são definidos como hipoglicémia e superiores a 110 mg/dl

como hiperglicémia. A sua avaliação deve ter em consideração o estado de jejum ou pós-prandial (Burtis *et al.*, 2015).

A glicémia plasmática pode ser determinada em jejum ou ocasionalmente, sendo que os resultados têm significados distintos. Segundo a DGS uma glicémia de jejum ≥ 126 mg/dl ou uma glicémia ocasional ≥ 200 mg/dl em conjunto com sintomas clássicos são indicadores para o diagnóstico de diabetes *Mellitus* (Norma 033/2011 da DGS).

Para além de ser usada no diagnóstico da diabetes *Mellitus*, a glicémia plasmática pode ser usada como um marcador de risco para o desenvolvimento desta patologia. Uma glicémia em jejum entre 110 mg/dL e 126 mg/dL é indicador para diagnóstico de hiperglicemia intermédia que é considerada um fator de risco para o desenvolvimento da diabetes *Mellitus* (Norma 033/2011 da DGS).

Prova de Tolerância Oral à Glicose

A prova de tolerância oral à glicose (PTGO) consiste na ingestão de uma solução concentrada contendo 75 g de glicose e medição da glicémia plasmática ao fim de 2h. Se o valor for superior a 200 mg/dL ao fim de 2h, o diagnóstico de diabetes *Mellitus* é estabelecido, se o valor se encontrar entre 140 mg/dL e 200 mg/dL trata-se de um caso de hiperglicemia intermédia (Norma 033/2011 da DGS).

No AVELAB, é frequente a realização desta prova em grávidas. Nestes casos, a medição da glicémia plasmática é realizada às 0 horas (jejum) e 1h e 2h pós a ingestão da glicose. Se a glicémia em jejum for igual ou superior a 92 mg/dL e/ou à 1h for igual ou superior a 180 mg/dL e/ou às 2h for igual ou superior a 153 mg/dL, é feito o diagnóstico de diabetes gestacional. Caso o valor da glicémia em jejum, na primeira consulta, seja <92 mg/dl, a mulher grávida é aconselhada a efetuar a PTGO às 24-28 semanas, de acordo com a Norma 033/2011 da DGS.

Hemoglobina Glicada

Como já atrás referido no tópico “Eletroforese das Hemoglobinas e Hemoglobina Glicada”, um valor de hemoglobina glicada superior a 6,5% é um indicador de diagnóstico de diabetes *Mellitus* segundo a Norma 033/2011 da DGS. Além disso, este parâmetro é extremamente útil e muito utilizado para fazer o controlo da terapêutica nos doentes diabéticos. Nestes doentes, valores muito superiores a 6,5% dão a informação de que a hiperglicemia não foi devidamente controlada num período anterior à análise de cerca de três meses, período de vida média dos eritrócitos.

Metabolismo do Ferro

O ferro é um elemento essencial ao organismo sendo o constituinte do grupo heme da hemoglobina que liga ao oxigénio e é responsável pelo seu transporte no organismo. O ferro é obtido a partir da dieta e não é conhecido nenhum mecanismo de controlo da sua excreção (Allan Gaw *et al.*, 2013).

A absorção do ferro a nível intestinal é controlada pela hepcidina. Depois de atravessar a mucosa intestinal através da ferroportina, o ferro entra na corrente sanguínea onde é, devido á toxicidade do ferro sérico, transportado pela transferrina, até aos eritroblastos onde será utilizado na síntese da hemoglobina, ou é armazenado sob a forma solúvel na ferritina ou insolúvel na hemossiderina (Burtis *et al.*, 2015).

Durante a prática laboratorial, a avaliação do metabolismo do ferro é normalmente realizada, em conjunto com parâmetros hematológicos, para o diagnóstico e acompanhamento das anemias ferroprivas.

Ferro Sérico

O ferro sérico nem sempre está diminuído em casos de deficiência de ferro pelo que a sua análise deve ser efetuada em conjunto com outros parâmetros (Burtis *et al.*, 2015).

A ferropénia caracteriza-se pela diminuição do ferro sérico e é comum em casos de anemias ferropénicas, por exemplo, durante a menstruação, após doação de sangue ou hemorragias extensas. Os níveis de ferro sérico podem estar aumentados devido a uma elevada absorção de ferro que origina a hemocromatose, que pode ocorrer após transfusões sanguíneas e nutrição parenteral inadequadas e após a toma de ferro oral (Burtis *et al.*, 2015).

Transferrina e Capacidade Total de Ligação do Ferro

Em condições fisiológicas normais, a saturação de ferro da transferrina encontra-se à volta dos 30%. A diminuição da saturação da transferrina para valores inferiores a 15% indica uma possível diminuição do ferro sérico. Por outro lado, saturações de transferrina muito elevadas indicam excesso de ferro (Allan Gaw *et al.*, 2013)

A capacidade de ligação total do ferro (Total Iron Binding Capacity - TIBC) indica a concentração máxima de ferro à qual a transferrina se consegue ligar. A TIBC está aumentada em casos de ferropénia, uma vez que não há ferro disponível para ligar e a transferrina se encontra mais disponível para esta ligação. Encontra-se diminuída em situações de excesso de

ferro que podem ser causadas por transfusões sanguíneas, envenenamento por ferro ou como consequência da hemocromatose (Burtis *et al.*, 2015).

Ferritina

A ferritina encontra-se em baixas concentrações na corrente sanguínea, mas normalmente a sua concentração é proporcional ao ferro presente no organismo (Burtis *et al.*, 2015).

A diminuição da concentração de ferritina no sangue ocorre muito precocemente nos casos de deficiência de ferro, mesmo antes dos parâmetros eritrocitários e do ferro sérico (Burtis *et al.*, 2015).

A ferritina é também uma proteína de fase aguda pelo que o seu aumento na corrente sanguínea pode estar associado a outros processos patológicos de infeção ou inflamação (Burtis *et al.*, 2015).

Imunologia

A Imunologia é a área que estuda o sistema imunológico. O setor encontra-se maioritariamente automatizado havendo, no entanto, algumas técnicas manuais. Como referido anteriormente, no AVELAB as áreas de Bioquímica e Imunologia encontram-se interligada pelo analisador *Alinity ci* que realiza diversos parâmetros imunológicos, tais como, marcadores sorológicos da toxoplasmose, das hepatites virais e de outros vírus, como o HIV, o citomegalovírus, o vírus da rubéola, entre outros.

Na sala de imunologia encontra-se o analisador *Phadia 250* que realiza testes para as alergias através da determinação da IgE total e específica e testes para autoimunidade. Alguns testes são realizados por técnicas manuais, como é caso do ensaio *venereal disease research laboratory* (VDRL), o *treponema pallidum hemagglutination assay* (TPHA), as reações de *Widal*, *Weil-Felix* e de *Wright*, entre outras.

Microbiologia

A Microbiologia aplicada à clínica compreende o estudo dos microrganismos que podem causar doença ao Homem. No AVELAB, o setor da microbiologia realiza a pesquisa de diversos agentes infecciosos em diversos materiais biológicos como urina, fezes, sangue, sêmen, unhas, expetoração, exsudatos vaginais e uretrais, da orofaringe e de feridas. Algumas técnicas são manuais, como a inoculação de meios, a coloração de Gram e o espermograma. A observação do sedimento urinário pode ser manual, por observação ao microscópio ótico após centrifugação ou por visualização das imagens obtidas pelo equipamento *SediMax*. A identificação de bactérias e respetivo antibiograma é realizado pelo sistema automático *Vitek 2 Compact*.

As culturas são realizadas em meios cromogénicos e seletivos que permitem a identificação presuntiva e o isolamento de alguns tipos de bactérias. Após inoculação, os meios são incubados numa estufa segundo indicado nas fichas técnicas, após o qual são observadas. Verifica-se se houve ou não crescimento, a existência de colónias bacterianas patogénicas, se há necessidade de fazer repicagem para meios mais seletivos ou enriquecidos e prossegue-se para a identificação presuntiva e definitiva.

A urocultura consiste na pesquisa de microrganismos patogénicos na urina e é uma das análises mais realizadas neste setor. É realizada a partir de urina do tipo II, que é separada em alíquotas para a análise sumária, de forma a não ocorrer contaminação da amostra. Após análise do sedimento urinário, o meio é semeado e incubado durante 18-24h a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$. Após a incubação, as placas são observadas e é feita a identificação presuntiva através da cor das colónias e de testes bioquímicos de forma a escolher qual a carta de identificação e o antibiograma adequados. Após a preparação das suspensões e das cartas estas são colocadas no equipamento *Vitek 2 Compact* que irá fazer a identificação e o antibiograma. Os resultados são depois validados tecnicamente e posteriormente pelos especialistas e enviados ao utente.

Quando são identificados microrganismos de notificação obrigatória, tais como *Staphylococcus aureus*, resistente à metilina (MRSA), *Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase* (KPC) resistente à vancomicina, ou Enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro alargado (ESBL), estes são comunicados ao Instituto Nacional Ricardo Jorge.

Casos Clínicos

Caso Clínico nº 1

Jovem do sexo masculino de 21 anos apresenta-se no laboratório a fim de realizar análises. Quando questionado sobre o motivo das análises refere mau estar geral, febre com início há três dias e cansaço.

Tabela IV - Hemograma e Provas da Coagulação - Caso Clínico nº1

ERITROGRAMA	Resultado		Valores de Referência
Eritrócitos	4,73x10 ¹² /L		4,50-5,50
Hemoglobina	14,6 g/L		13,0-17,0
Hematócrito	42,7%		40,0-50,0
VGM	90,3 fL		83,0-101,0
HGM	30,9 pg		27,0-34,0
CHGM	34,2 g/dL		31,5-34,5
RDW	12,5%		11,5-14,5
LEUCOGRAMA			
Leucócitos	19,15 x 10 ⁹ /L		4,00-11,00
Neutrófilos	4,6 x 10 ⁹ /L	23,8%	1,5-6,9
Eosinófilos	0,0 x 10 ⁹ /L	0,2%	< 0,4
Basófilos	0,3 x 10 ⁹ /L	0,3%	< 0,1
Linfócitos	11,9 x 10 ⁹ /L	62,2%	1,5-4,0
Monócitos	2,3 x 10 ⁹ /L	2,3%	0,2-0,8
Plaquetas	171 x10 ⁹ /L		150-400
Velocidade de Sedimentação	30 mm		< 20
Tempo de Protrombina (TP)	16.5 segundos	Controlo	13,3 segundos
INR	1.25		
Tempo de Tromboplastina Parcialmente Ativada (TTPA)	32.0 segundos	Controlo	30,0 segundos

Tabela V - Parâmetros Bioquímicos - Caso Clínico nº1

BIOQUÍMICA		
Glicose	75 mg/dL	70-110 mg/dL
Creatinina	0,77 mg/dL	0,72-1,18 mg/dL
Ácido úrico	4,7 mg/dL	3,5-7,2 mg/dL
Colesterol total	111 mg/dL	< 190 mg/dL
Colesterol HDL	10 mg/dL	Favorável > 45 mg/dL Desfavorável < 35 mg/dL
Triglicerídeos	144 mg/dL	< 150 mg/dL
AST/TGO	287 U/L	< 50 U/L
ALT/TGP	447 U/L	< 50 U/L
Fosfatase Alcalina	188 U/L	40-150 U/L
Gama-G.T.	208 U/L	12-64 U/L
Proteína Reativa C	73 mg/L	< 5 mg/dL
Creatinina Fosfocinase	73 U/L	< 171 U/L

Tabela VI - Parâmetros Serológicos - Caso Clínico nº1

SEROLOGIA		
Coronavírus SARS-CoV 2 PCR	Negativo	
Pesquisa de Streptococcus Pyogenes Grupo A	Negativo	
Anticorpo Anti-HCV	0,11 S/CO	Reativo \geq 1,00 Não Reativo $<$ 1,00
Antigênio HBs (HBsAg)	0,26 S/CO	Reativo \geq 1,0 Não Reativo $<$ 1,0
Anticorpo Anti-HBs (HBsAc)	214,5 mLU/mL	Reativo $<$ 10 Não Reativo \geq 10
Anticorpo Anti-HBc (HBcAc)	0,17 S/CO	Reativo \geq 1,0 Não Reativo $<$ 1,0
HIV1/2 (Detecção-Ac. HIV1/2 e Ag p24 de 4ª Geração)	0,08 S/CO	Reativo \geq 1,0 Não Reativo $<$ 1,0
Reação de Paul-Bunnell	Positiva	
Anticorpo Anti-Citomegalovírus (IgG)	0,20 UA/mL	Reativo \geq 6 Não Reativo $<$ 6
Anticorpo Anti-Citomegalovírus (IgM)	0,11 Índice	Não Reativo $<$ 0,85 Reativo \geq 1,00 Indeterminado 0,85-0,99

Tabela VII - Resultado do Exame Sumário de Urina - Caso Clínico nº 1

SUMÁRIA URINA		
	Resultado	Valores de Referência
Cor	Amarelo escuro	
Aspetto	Límpida	
Densidade	1.023	1.003-1.030
Ph	7.0	5.0-8.0
Proteínas	30 mg/dL	
Glicose	Não acusou	
Corpos cetônicos	Não acusou	
Bilirrubina	2.00 mg/dL	
Hemoglobina	Não acusou	
Urobilinogênio	2.0 mg/dL	
Nitritos	Negativo	

Tabela VIII - Resultados do Exame Microscópico do Sedimento - Caso Clínico nº 1

EXAME MICROSCÓPICO DO SEDIMENTO		
Células Epiteliais de Descamação	$<$ 2	$<$ 2
Leucócitos	$<$ 5	$<$ 5
Eritrócitos	$<$ 5	$<$ 5
Muco	Alguns Filamentos	

Esfregaço de Sangue Periférico

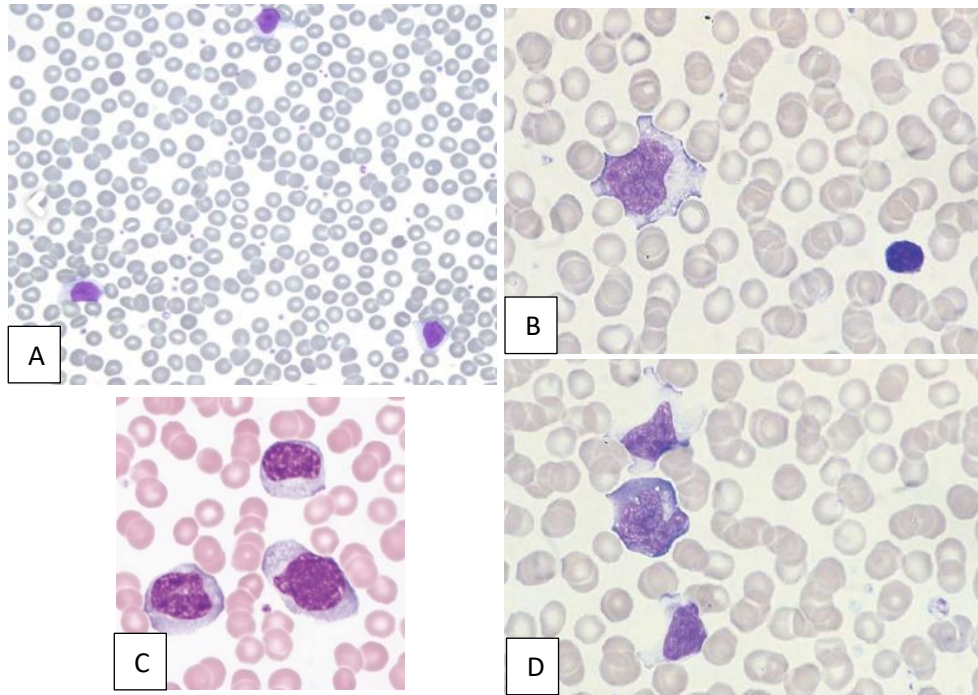


Figura 16 - Esfregaço de sangue periférico observado ao microscópio óptico, do doente do Caso Clínico nº 1. **A**, ampliação de 50 vezes; **B**, **C** e **D**, ampliação de 100 vezes.

No hemograma apresentado na Tabela IV podemos observar que os parâmetros eritrocitários e as plaquetas não apresentam alterações significativas. Por outro lado, verifica-se uma leucocitose causada pela linfocitose. O esfregaço de sangue periférico, apresentado na Figura 21, confirma a linfocitose com presença de linfócitos atípicos designados de linfócitos reativos, característicos das infeções virais. Os linfócitos reativos caracterizam-se por terem grandes dimensões, núcleo de cromatina dispersa quando comparada com um linfócito em repouso, citoplasma, grande basofílico, vacuolizado e com contornos irregulares.

O painel serológico evidenciado na Tabela VI apresenta resultados negativos para a pesquisa de SARS-CoV 2, para a pesquisa de *Streptococcus Pyogenes* do grupo A e para pesquisa de anticorpos anti-citomegalovírus (CMV) IgM e IgG. Os testes para pesquisa das Hepatites B e C são negativos para infeção recente por estes vírus, sendo o título elevado de anticorpos anti-HBs com ausência de anticorpos anti-HBc, o que é compatível com um quadro de vacinação para o vírus da Hepatite B. A pesquisa de anticorpos anti-HIV 1 e 2 bem como a pesquisa da proteína p24 da cápside do vírus é negativa, o que descarta uma possível infeção pelo Vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV).

A reação de Paul-Bunnell é positiva. Este teste tem como objetivo a pesquisa da presença de anticorpos heterófilos contra eritrócitos de ovelha e cavalo no soro do utente. Estes anticorpos são produzidos como parte da resposta imunitária contra a infeção pelo Vírus de

Epstein–Barr (EBV), o principal agente etiológico da Mononucleose Infeciosa (ou Doença do Beijo).

Os parâmetros bioquímicos apresentados na Tabela V encontram-se dentro dos valores de referência à exceção dos parâmetros hepáticos e da proteína c-reativa. Os valores aumentados de AST e ALT, da fosfatase alcalina e da γ -GT indicam lesão hepatocelular. O aumento da ALT mais acentuado que da AST é compatível com o quadro de infecção viral. O principal alvo de infecção do EBV são os linfócitos B, no entanto pode ocorrer infecção das células hepáticas como parte da infecção generalizada, o que causa dano nestas células e leva ao aumento destes marcadores.

As provas da coagulação apresentadas na Tabela IV estão ligeiramente alteradas. O aumento do TTPA, do TP e do INR pode ser causado pelo dano hepatocelular que pode levar a alguma perda da função de síntese hepática que se manifesta na diminuição da síntese dos fatores de coagulação.

A velocidade de sedimentação e a proteína c-reativa aumentadas estão em concordância com sintomas febris e com os restantes parâmetros apresentados dado que a infecção viral desencadeia a libertação da proteína c-reativa e de outras proteínas de fase aguda que, por sua vez, causam aumento da velocidade de sedimentação.

O exame microscópico do sedimento urinário apresentado na Tabela VIII não evidencia alterações. O exame sumário de urina apresentado na Tabela VII demonstra a presença de pequena concentração de proteína na urina que pode estar relacionado com o aumento de proteínas de fase aguda no plasma, de relativa baixa massa molecular. A presença de bilirrubina e urobilinogénio na urina devem-se ao dano hepatocelular que causa aumento dos níveis de bilirrubina conjugada na corrente sanguínea e consequentemente a sua excreção na urina.

Os parâmetros bioquímicos e hematológicos, nomeadamente a presença de linfócitos ativados, são consistentes com uma infecção viral. A reação de Paul-Bunnell confirma a infecção pelo Vírus de *Epstein–Barr* (EBV).

O EBV transmite-se por contacto com secreções orais como a saliva, sendo que cerca de 90% da população mundial apresenta anticorpos contra o EBV. Nos países desenvolvidos, a infecção pode acontecer em duas fases, em idade pré-escolar onde normalmente os infetados são assintomáticos ou em adolescentes e adultos jovens que frequentemente desenvolvem a síndrome de mononucleose infecciosa. O vírus infeta o epitélio da orofaringe e das glândulas salivares, ocorrendo replicação inicial a nível da porta de entrada. Os linfócitos B são infetados por contacto com as células epiteliais da orofaringe e difundem-se por via linfática e sanguínea infetando novos linfócitos B.

Caso Clínico nº 2

Jovem do sexo feminino com 17 anos apresenta-se no laboratório para realizar análises. Os resultados são os seguintes:

Tabela IX - Hemograma e Provas da Coagulação - Caso Clínico nº2

ERITROGRAMA	Resultado		Valores de Referência
Eritrócitos	4,75x10 ¹² /L		3,80-4,80
Hemoglobina	7,8 g/L		12,0-15,0
Hematócrito	29,2%		36,0-46,0
VGM	59 fL		83,0-101,0
HGM	15,8 pg		27,0-34,0
CHGM	26,7 g/dL		31,5-34,5
RDW	22,2 %		11,5-14,5
LEUCOGRAMA			
Leucócitos	6,02 x10 ⁹ /L		4,00-11,00
Neutrófilos	2,3 x 10 ⁹ /L	37,6%	1,5-6,9
Eosinófilos	0,1 x 10 ⁹ /L	1,8%	< 0,4
Basófilos	0,1 x 10 ⁹ /L	1,0%	< 0,1
Linfócitos	3,1 x 10 ⁹ /L	51,0%	1,5-4,0
Monócitos	0,5 x 10 ⁹ /L	8,6%	0,2-1,0
Plaquetas	434 x10 ⁹ /L		150-400
Velocidade de Sedimentação	30 mm		< 20
Tempo de Protrombina (TP)	13,9 segundos	Controlo	12,9 segundos
INR	1,08		
Tempo de Tromboplastina Parcialmente Ativada (TTPA)	28,6 segundos	Controlo	30,0 segundos
Antitrombina III	106%		80-120

Tabela X - Parâmetros Bioquímicos - Caso Clínico nº 2

BIOQUÍMICA		
Glicose	83 mg/dL	70-110 mg/dL
Creatinina	0,65 mg/dL	0,57-1,11 mg/dL
Ureia	27 mg/dL	15-40 mg/dL
Ácido úrico	3,9 mg/dL	2,6-6,0 mg/dL
Colesterol total	122 mg/dL	< 190 mg/dL
Colesterol HDL	54 mg/dL	Favorável > 45 mg/dL Desfavorável < 35 mg/dL
Triglicerídeos	27 mg/dL	< 150 mg/dL
Ferro	13 µg/dL	50-170 µg/dL
Ferritina	3 µg/dL	10-150 µg/dL
AST/TGO	13 U/L	< 35 U/L
ALT/TGP	9 U/L	< 35 U/L
Fosfatase Alcalina	45 U/L	40-150 U/L
Gama-G.T.	10 U/L	9-36 U/L

Bilirrubina Total	0,6 mg/dL	0,1-1,0 mg/dL
Bilirrubina Conjugada	0,2 mg/dL	0,0-0,3 mg/dL
Proteína Reativa C	73 mg/L	< 5 mg/dL
Creatinina Fosfocinase	73 U/L	< 171 U/L

Tabela XI - Exame Sumário de Urina - Caso Clínico nº2

SUMÁRIA URINA		
	Resultado	Valores de Referência
Cor	Amarelo	
Aspeto	Límpida	
Densidade	1,025	1,003-1,030
Ph	5,5	5,0-8,0
Proteínas	Não acusou	
Glicose	Não acusou	
Corpos cetónicos	Não acusou	
Bilirrubina	Não acusou	
Hemoglobina	Não acusou	
Urobilinogénio	Normal	
Leucócitos	Não acusou	
Nitritos	Negativo	

Esfregaço de Sangue Periférico

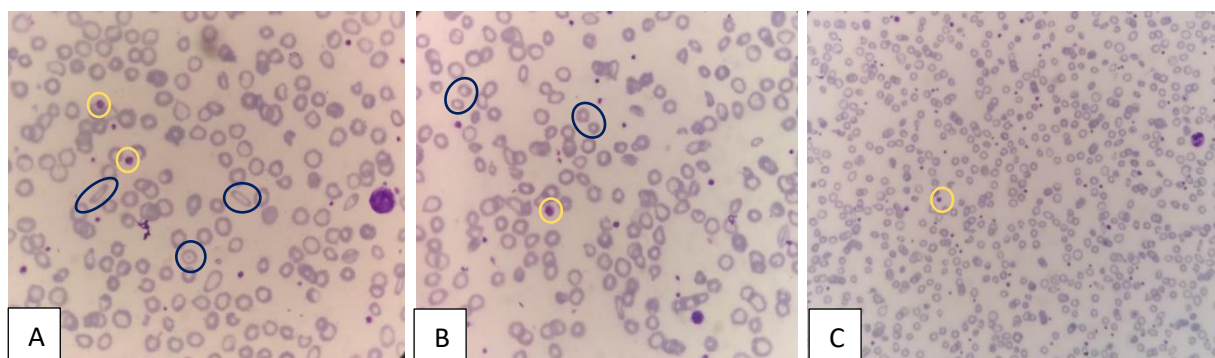


Figura 17 - Esfregaço de sangue periférico observado ao microscópio ótico, do doente do Caso Clínico nº2. A e B, ampliação de 100 vezes. C, ampliação de 50 vezes

O hemograma apresentado na Tabela IX apresenta valores de hemoglobina, hematócrito, VGM, HGM e CHCM diminuídos e valores de RDW e plaquetas aumentados. Os restantes parâmetros encontram-se dentro dos valores de referência.

O valor de hemoglobina está muito abaixo dos valores de referência, o que indica anemia. O hematócrito diminuído é consistente com o quadro de anemia. Os valores de VGM, HCM e CHCM diminuídos permitem classificar a anemia como microcítica e hipocrómica. O Valor de RDW aumentado indica a presença de anisocitose.

O esfregaço de sangue periférico ilustrado na Figura 22 confirma os parâmetros eritrocitários. Os eritrócitos descorados, portanto, hipocrómicos, confirmam os valores baixos de

hemoglobina. Assinalado a azul é possível observar eritrócitos com diferentes formas estando na presença de poiquilocitose, nomeadamente, formas em charuto e em alvo características das anemias ferropénicas. O esfregaço evidencia também eritrócitos com tamanhos diferentes indicando anisocitose, e mais pequenos denominados de micrócitos que confirmam o aumento do RDW e diminuição do VGM respetivamente. A amarelo encontram-se assinaladas as plaquetas gigantes.

A análise sumária de urina apresentada na Tabela XI não apresenta alterações relevantes.

Os parâmetros bioquímicos presentes na Tabela X encontram-se dentro dos valores de referência, à exceção do ferro e da ferritina que se encontram ambos bastante diminuídos. A diminuição das reservas de ferro e do ferro sérico leva à diminuição do aporte do mesmo aos eritroblastos em desenvolvimento na medula óssea e, portanto, à diminuição da síntese do heme e da produção da hemoglobina.

A diminuição do ferro sérico associado à diminuição da ferritina num quadro de anemia com presença de microcitose e hipocromia e de anisopoiquilocitose acentuada com presença de eritrócitos em charuto e em alvo, permite classificá-la como anemia ferropénica.

A causa mais comum das anemias microcíticas hipocrómicas por falta de ferro é a diminuição da concentração de ferro no organismo. Isto pode ser causado por diminuição do consumo ou pela sua malabsorção, ou por aumento da perda do ferro, normalmente associado a hemorragias gastrointestinais ou uterinas. Dado o diagnóstico e atendendo á idade da utente seria de interesse exames complementares para despiste de possíveis causas de hemorragia. Os tempos de coagulação apresentados na Tabela IX estão dentro dos valores de referência, o que permite excluir possíveis problemas nos mecanismos de hemostase que possam provocar hemorragias descontroladas. Outros exames de interesse seriam a pesquisa de *Helicobacter pylori*, o despiste de doença celíaca, o despiste de possíveis menorragias entre outros.

Caso Clínico nº 3

Homem de 68 anos apresenta-se no laboratório para realização de análise. Os resultados são os seguintes:

Tabela XII - Hemograma - Caso Clínico nº3

ERITROGRAMA	Resultado		Valores de Referência
Eritrócitos	$5.28 \times 10^{12}/L$		4.50-5.50
Hemoglobina	15.6 g/L		13.0-17.0
Hematócrito	46.5 %		40.0-50.0
VGM	88.1 fL		83.0-101.0
HGM	29.5 pg		27.0-34.0
CHGM	33.5 g/dL		31.5-34.5
RDW	14.5%		11.5-14.5
LEUCOGRAMA			
Leucócitos	$28.18 \times 10^9/L$		4.00-11.00
Neutrófilos	$5.5 \times 10^9/L$	21.1%	1.5-6.9
Eosinófilos	$0.36 \times 10^9/L$	1.3%	< 0.4
Basófilos	$0.11 \times 10^9/L$	0.4%	< 0.1
Linfócitos	$19.27 \times 10^9/L$	68.4%	1.5-4.0
Monócitos	$2.49 \times 10^9/L$	8.8%	0.2-0.8
Plaquetas	$238 \times 10^9/L$		150-400

Esfregaço de Sangue Periférico

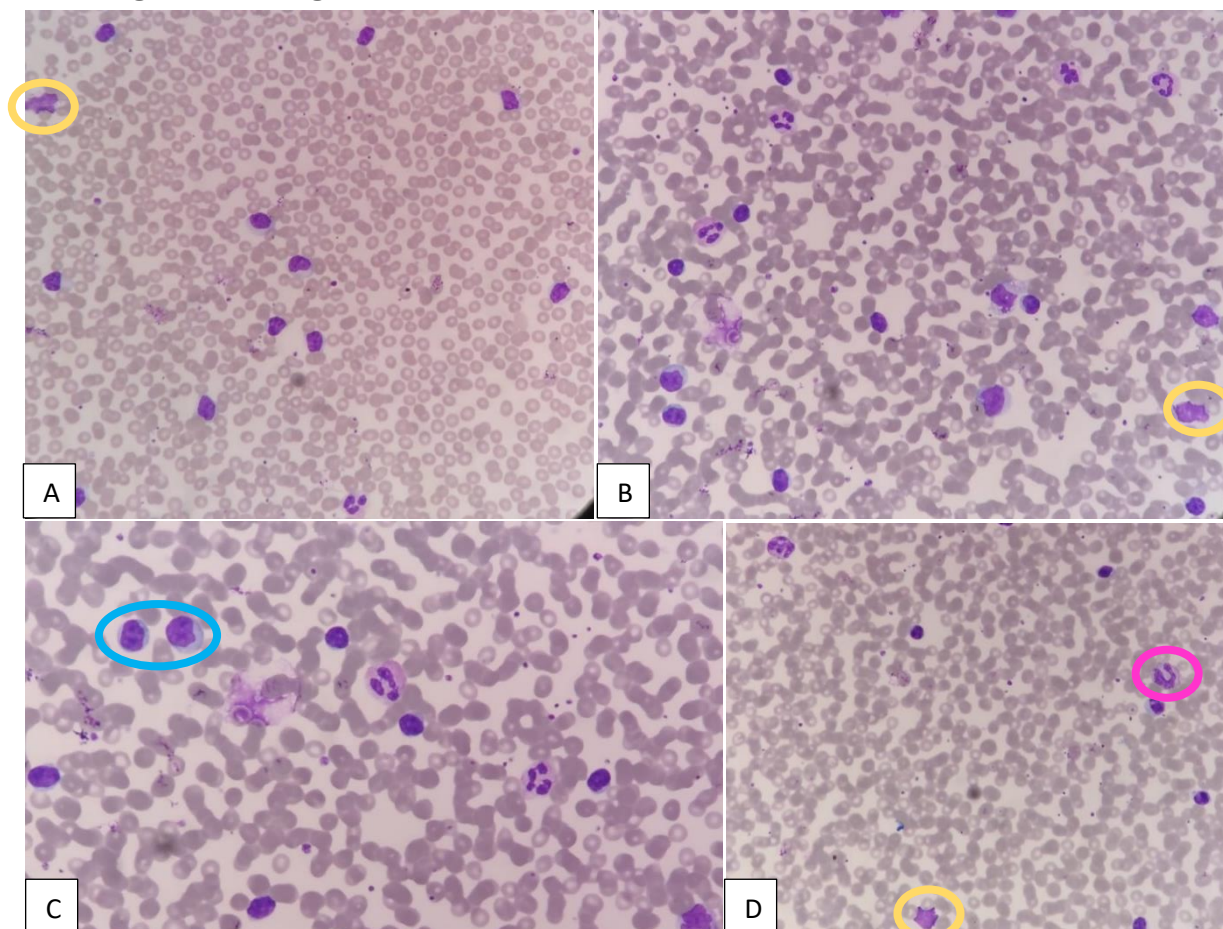


Figura 18 - Esfregaço de sangue periférico do doente do Caso Clínico nº 3, observado ao Microscópio óptico. **A, B, C e D** com ampliação de 100 vezes

O hemograma do utente demonstrado na Tabela XII apresenta valores de eritrograma dentro dos parâmetros normais. O leucograma evidencia leucocitose acentuada com linfocitose marcada.

O esfregaço de sangue periférico apresentado na Figura 23 permite confirmar a linfocitose absoluta e relativa dado que se observa a prevalência de linfócitos sob os neutrófilos no campo, com presença de linfócitos atípicos, marcados a azul, e manchas de Gumprecht, marcadas a amarelo e a presença de neutrófilos em bastão, marcados a rosa.

As manchas de Gumprecht, marcadas a amarelo na Figura 23, resultam da desintegração dos linfócitos anormalmente frágeis, “in vitro”, durante a realização do esfregaço sanguíneo. Estas células estão normalmente associadas à leucemia linfocítica crónica, no entanto podem surgir em casos de doentes sujeitos a quimioterapia.

A presença de linfocitose acentuada associada á presença das manchas de *Gumprecht* e linfócitos atípicos é sugestivo de leucemia linfocítica. A presença das outras linhagens em valores normais e ausência de blastos sugere leucemia linfocítica crónica, dado que nos casos de leucemia linfocítica aguda é comum a presença de blastos no sangue periférico e a diminuição das restantes linhagens.

As leucemias linfocíticas crónicas caracterizam-se pela acumulação de linfócitos B ou T maduros na circulação sanguínea. No geral, estas patologias não têm cura, mas respondem favoravelmente aos tratamentos disponíveis, tornando-se crónicas com períodos de remissão. O seu pico de incidência ocorre entre os 60 e os 80 anos, ao passo que na leucemia linfocítica aguda tem maior incidência nas crianças jovens. Normalmente, os pacientes com leucemia linfocítica crónica são assintomáticos, sendo identificados na maioria das vezes em análises de rotina.

De forma a confirmar o diagnóstico e classificar corretamente este tipo de patologia linfoproliferativa, devem ser realizados exames complementares de imunofenotipagem e de citogenética.

Conclusão

Este estágio foi de enorme importância a nível pessoal, académico e profissional uma vez que me permitiu entrar em contacto com o dia-a-dia da rotina de um laboratório de análises clínicas e aplicar os conhecimentos adquiridos durante o meu percurso académico, principalmente os adquiridos no Mestrado em Análises Clínicas.

Durante a minha permanência nos diversos setores, foi-me permitido realizar diversas técnicas manuais e automáticas desde a triagem de amostras, ao seu processamento e eliminação. Tive também oportunidade de assistir e participar em diversos procedimentos de controlo de qualidade, nomeadamente a calibração e controlo dos equipamentos, bem como a análise e o envio de resultados do controlo de qualidade externo. Pude também acompanhar a validação técnica dos resultados e perceber os diversos critérios de validação em cada setor. As áreas com as quais tive menos contacto foram a área das colheitas e da receção e inscrição de utentes. Todo o meu trabalho foi sempre acompanhado e supervisionado pela equipa técnica que, por vezes sobrecarregada de trabalho, sempre me auxiliou e esclareceu as dúvidas da melhor forma.

De salientar, que o estágio me dotou de competências indispensáveis ao trabalho na área das análises clínicas. Permitiu desenvolver o meu espírito crítico em relação à qualidade das amostras, a capacidade de resolução de problemas decorrentes da rotina laboratorial e o sentido de responsabilidade para com a qualidade dos resultados fornecidos aos utentes. A capacidade de trabalho de equipa revelou-se uma ferramenta fundamental, e juntamente com as competências mencionadas anteriormente, será uma das principais valências a levar destes seis meses.

Por fim, dizer que este estágio me fez sentir mais segura e preparada para o ingresso no mercado e trabalho.

Bibliografia

Apple F. S., Goetze J. P., Jaffe A. S., Cardiovascular Disease in: Burtis C. A., Brunis D. E., **TIETZ FUNDAMENTALS OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS** (7ª Ed.), Saunders: Elsevier Inc, pp.632-648, 2015.

Bain B. J., **BLOOD CELLS A PRACTICAL GUIDE** (5ª Ed.) Chichester: John Wiley & Sons Ltd, cap.3, 6, 2015.

Bain B.J., Basic Haematological Techniques in: Bain B. J., Bates I, Laffan M. A and Lewis S. M., **DACIE AND LEWIS PRACTICAL HAEMATOLOGY** (12ªed.) Elsevier Health Sciences, pp.35-36, 2017.

Briggs C. and Bain B. J., Preparation and Staining Methods for Blood and Bone Marrow Films in: Bain B. J., Bates I, Laffan M. A and Lewis S. M., **DACIE AND LEWIS PRACTICAL HAEMATOLOGY** (12ªed.) Elsevier Health Sciences, pp.50-57, 2017.

Despacho nº10009/2019, de 5 de novembro, Diário da República nº212/2019, Série II de 2019-11-05, pp-66-80.

Direção-Geral da Saúde. Abordagem, Diagnóstico e Tratamento da Ferropénia no Adulto. DGS. 030/2013 atualizada a 09/04/2015, 1-37, 2013.

Direção-Geral da Saúde. Diagnóstico e Classificação da Diabetes *Mellitus*. DGS 002/2011, 1-13, 2011.

Direção-Geral da Saúde. Prescrição e Determinação da Hemoglobina Glicada A1c. DGS. 033/2011, 1-10, 2011.

Dufour D. R., Liver Disease in: Burtis C. A., Brunis D. E., **TIETZ FUNDAMENTALS OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS** (7ª Ed.), Saunders: Elsevier Inc, pp.704-719, 2015.

Gaw A., Murphy M. J., Srivastava R., Cowan R. A., O'Reilly D. S., **CLINICAL BIOCHEMISTRY** (5ªEd), Churchill Livingstone: Elsevier, pp.12-25, 2013.

Gaw A., Murphy M. J., Srivastava R., Cowan R. A., O'Reilly D. S., **CLINICAL BIOCHEMISTRY** (5ªEd), Churchill Livingstone: Elsevier, pp.28-39, 2013.

Gaw A., Murphy M. J., Srivastava R., Cowan R. A., O'Reilly D. S., **CLINICAL BIOCHEMISTRY** (5ªEd), Churchill Livingstone: Elsevier, pp.132-135, 2013.

Gaw A., Murphy M. J., Srivastava R., Cowan R. A., O'Reilly D. S., **CLINICAL BIOCHEMISTRY (5^aEd)**, Churchill Livingstone: Elsevier, pp.54-55, 2013.

Gaw A., Murphy M. J., Srivastava R., Cowan R. A., O'Reilly D. S., **CLINICAL BIOCHEMISTRY (5^aEd)**, Churchill Livingstone: Elsevier, pp.88-93, 2013.

Gaw A., Murphy M. J., Srivastava R., Cowan R. A., O'Reilly D. S., **CLINICAL BIOCHEMISTRY (5^aEd)**, Churchill Livingstone: Elsevier, pp.114-115, 2013.

Higgins T., Eckfeldt J. H., Barton J. C. and Doumas B. T., Hemoglobin, Iron, and Bilirubin in: Burtis C. A., Bruns D. E., **TIETZ FUNDAMENTALS OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS (7^a Ed.)**, Saunders: Elsevier Inc, pp.508-512, 2015.

Hoffbrand Av, Moss PAH, **Essential Haematology (8^a Ed.)** Chichester: John Willey & Sons Ltd, cap.1, 2, 7, 8, 2020.

Hoffbrand Av, Moss PAH, **Essential Haematology (8^a Ed.)** Chichester: John Willey & Sons Ltd, pp.72, 73, 373-380, 2020.

Hoffbrand Av, Moss PAH, **Essential Haematology (8^a Ed.)** Chichester: John Willey & Sons Ltd, cap.24, 27, 28, 2020.

Hortin G. L., Amino Acids, Peptides, and Proteins in: Burtis C. A., Bruns D. E., **TIETZ FUNDAMENTALS OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS (7^a Ed.)**, Saunders: Elsevier Inc, pp.293-316, 2015.

Kaplan J. M. and First M. R., Renal Function in: Kaplan L. A. and Pesce A. J., **CLINICAL CHEMISTRY THEORY ANALYSIS CORRELATION (5^a Ed.)**, C.V. Mosby Company, pp.567-583, 2010.

Laffan M. A. and Manning, Investigation of Haemostasis in: Bain B. J., Bates I, Laffan M. A and Lewis S. M., **DACIE AND LEWIS PRACTICAL HAEMATHOLOGY (12^aed.)** Elsevier Health Sciences, pp.380-383, 2017.

Lamb E. J. and Price C. P., Kidney Function Tests- Creatinine, Urea, and Uric Acid in: Burtis C. A., Bruns D. E., **TIETZ FUNDAMENTALS OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS (7^a Ed.)**, Saunders: Elsevier Inc, pp.364-374, 2015.

Lieberman M. and Peet A., **MARK'S BASIC MEDICAL BIOCHEMISTRY: A CLINICAL APPROACH (5^a Ed.)**, Wolters Kluwer, pp.1482-1487, 2018.

Norma ISO 15189:2012 "Laboratórios Clínicos - Requisitos particulares para a qualidade e competência".

Osei-Bimpong A. and Burthemin J., Supplementary Techniques Including Blood Parasite Diagnosis in: Bain B. J., Bates I, Laffan M. A and Lewis S. M., **DACIE AND LEWIS PRACTICAL HAEMATHOLOGY** (12^aed.) Elsevier Health Sciences, pp.93-97, 2017.

Panteghini M. and Baisin R., Serum Enzymes in: Burtis C. A., Bruns D. E., **TIETZ FUNDAMENTALS OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS** (7^a Ed.), Saunders: Elsevier Inc, pp.322-327, 2015.

Remaley A., Rifai N., Warnick G. R., Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiac Risk Factors in: Burtis C. A., Bruns D. E., **TIETZ FUNDAMENTALS OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS** (7^a Ed.), Saunders: Elsevier Inc, pp.388-409, 2015.

Rodak B. F., Carr J. H. **CLINICAL HEMATOLOGY ATLAS** (4^a Ed.) Saunders: Elsevier Inc, pp.13, 2013.

Schindler E. I., Scott M. G., Physiology and Disorders of Water, Electrolyte, and Acid-Base Metabolism in: Burtis C. A., Bruns D. E., **TIETZ FUNDAMENTALS OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS** (7^a Ed.), Saunders: Elsevier Inc, pp.413-419, 2015.

Scott M. G., LeGrys V. A., A. M. T., Schindler E. I., Electrolytes and Blood Gases in: Burtis C. A., Bruns D. E., **TIETZ FUNDAMENTALS OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS** (7^a Ed.), Saunders: Elsevier Inc, pp.413-419, 2015.

Thachil J. and Bates I., Approach to the Diagnosis and Classification of Blood Cell Disorders in: Bain B. J., Bates I, Laffan M. A and Lewis S. M., **DACIE AND LEWIS PRACTICAL HAEMATHOLOGY** (12^aed.) Elsevier Health Sciences, pp. 499, 2017.