



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Matilde Maria Melo Ferreira Pereira

RELATÓRIO DE ESTÁGIO  
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

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

Setembro de 2023





UNIVERSIDADE D  
**COIMBRA**

Matilde Maria Melo Ferreira Pereira

Relatório de Estágio  
Mestrado em Análises Clínicas

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

Setembro de 2023



## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de expressar a minha gratidão a todos aqueles que contribuíram de maneira significativa para a conclusão deste trabalho. O percurso contou com desafios e conquistas e apenas foi possível por todo o apoio que recebi.

Queria expressar o meu agradecimento à Professora Dra. Ana Miguel por todas as indicações e tempo dispensado, essencial para a conclusão deste relatório.

Queria agradecer à Dra. Carla Almeida, Diretora Técnica do laboratório SYNLABHEALTH CENTRO pelo acompanhamento constante e pelas indicações valiosas. Às colaboradoras do laboratório que acompanharam o meu dia-a-dia e foram peças chave neste percurso.

Um agradecimento especial aos meus pais que sempre foram pilares essenciais. Sempre deram exemplo pelo caráter, pela determinação e pelo carinho com o outro, mostrando-me sempre o melhor caminho a seguir. Encorajaram todos os meus sonhos e projetos sem nunca me cortar as pernas. Ao meu irmão e à minha família, os restantes pilares da minha vida, que sempre estiveram presentes. Por todos os almoços e todo o amor que sempre demonstraram o meu muito obrigado.

Aos amigos que trouxe comigo, que nunca me desampararam e aos novos que fiz nesta cidade, o meu muito obrigado pelos momentos, risadas e por tornarem esta jornada mais leve.

Por último, mas não menos importante queria agradecer ao Leandro, pelo amor incondicional em todas as horas e principalmente por todas as vezes que aturou o meu mau humor. Por todas as palavras no tempo certo, por todos os abraços e por partilhar este percurso comigo. A fé que depositou em mim, mesmo quando eu duvidava de mim, foi crucial para me manter no caminho certo.

Este trabalho não é apenas meu, mas o resultado de um esforço coletivo e por isso dedico os meus agradecimentos sinceros a todos que direta ou indiretamente contribuíram. A todos vós, muito obrigada!



## ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS</b> .....	9
<b>RESUMO</b> .....	11
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO DE ESTÁGIO</b> .....	14
<b>PROCESSO ANALÍTICO</b> .....	15
<b>CONTROLO DE QUALIDADE</b> .....	18
<b>ÁREAS DESENVOLVIDAS</b> .....	19
<b>HEMATOLOGIA</b> .....	19
<b>HEMOGRAMA</b> .....	20
<b>ERITRÓCITOS (eritrograma)</b> .....	20
<b>HEMATÓCRITO E ÍNDICES HEMATOLÓGICOS</b> .....	21
<b>LEUCÓCITOS (Leucograma)</b> .....	22
<b>PLAQUETAS</b> .....	23
<b>ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO</b> .....	24
<b>HEMOSTASE</b> .....	25
<b>FATORES DE COAGULAÇÃO</b> .....	26
<b>GRUPOS SANGUÍNEOS ERITROCITÁRIOS</b> .....	28
<b>SISTEMA AB0</b> .....	28
<b>SISTEMA RHÉSUS (Rh)</b> .....	28
<b>TESTE DE COOMBS INDIRETO</b> .....	29
<b>TESTE DE COOMBS DIRETO</b> .....	30
<b>BIOQUÍMICA</b> .....	31
<b>IMUNOLOGIA</b> .....	33
<b>MICROBIOLOGIA</b> .....	34
<b>ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE URINA</b> .....	34
<b>URINA TIPO II</b> .....	34
<b>PARÂMETROS QUÍMICOS DA URINA</b> .....	34
<b>SEDIMENTO URINÁRIO</b> .....	35
<b>UROCULTURA</b> .....	36
<b>ANTIBIOGRAMA</b> .....	36
<b>EXSUDADOS</b> .....	37
<b>COLORAÇÃO DE GRAM</b> .....	37
<b>FEZES</b> .....	38
<b>COPROCULTURA</b> .....	39
<b>HEMOCULTURA</b> .....	40

<b>CASOS CLÍNICOS</b> .....	41
<b>Caso Clínico nº1</b> .....	41
<b>Caso Clínico nº2</b> .....	44
<b>Caso Clínico nº3</b> .....	48
<b>Caso Clínico nº4</b> .....	53
<b>Caso Clínico nº5</b> .....	56
<b>Caso Clínico nº6</b> .....	58
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	61



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Diferenciação do eritrócito (eritropoiese) .....	20
<b>Figura 2</b> - Principais características morfológicas dos leucócitos. ....	22
<b>Figura 3</b> - Área mais comum para observar o esfregaço de sangue periférico.....	24
<b>Figura 4</b> - Células Sanguíneas observadas num esfregaço.....	24
<b>Figura 5</b> - Fatores de coagulação.....	26
<b>Figura 6</b> - Coagulação in vivo. ....	27
<b>Figura 7</b> - Cassete de reação para determinação de grupos eritrocitários.....	28
<b>Figura 8</b> - Teste de Coombs Indireto.....	29
<b>Figura 9</b> - Teste de Coombs Direto.....	30
<b>Figura 10</b> - Cristais de triplo fosfato (pH>7).....	35
<b>Figura 11</b> - cristais de oxalato de cálcio. ....	35
<b>Figura 12</b> - Diferenças nas paredes das bactérias gram negativas e gram positivas.....	38
<b>Figura 13</b> - Ovos de Enterobius Vermicularis no exame fresco das fezes. ....	55
<b>Figura 14</b> - Esfregaço de Sangue Periférico de Leucemia Linfoblástica Aguda.....	60

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Tubos de colheita de amostras de sangue venoso, pela ordem correta, identificados pelas cores das tampas que representam diferentes conteúdos consoante a amostra a obter e a análise a realizar. ....	16
<b>Tabela 2</b> - Equipamentos utilizados na avaliação de parâmetros nas diferentes áreas das análises clínicas (Bioquímica, Hematologia e Imunologia). ....	17
<b>Tabela 3</b> - Principais alterações morfológicas nos leucócitos.....	22
<b>Tabela 4</b> - Alterações dos eritrócitos e possíveis causas [9].....	25
<b>Tabela 5</b> - Amostras microbiológicas, respetivos meios, condições de incubação e pesquisa de microrganismos. ....	37
<b>Tabela 6</b> – Resultado analíticos de Hematologia. ....	41
<b>Tabela 7</b> – Resultados analíticos de Bioquímica (Amostra: Soro). ....	42
<b>Tabela 8</b> - Resultados analíticos de Hematologia. ....	44
<b>Tabela 9</b> - Resultados analíticos de Bioquímica e Imunologia (Amostra: Soro) ....	45
<b>*Tabela 10</b> - Valores de referência definidos pelo laboratório para a PCT.....	45
<b>Tabela 11</b> - Resultados analíticos de Hematologia.....	48
<b>Tabela 12</b> - Resultado da Tipagem ABO e Rh (D) e do Coombs Indireto.....	48
<b>Tabela 13</b> - Resultados analíticos de Bioquímica, Endocrinologia e Imunoserologia (Amostra: Soro).....	49
<b>Tabela 14</b> - Resultados analíticos da Urina, Doseamentos Urinários e Microbiologia (Amostra: Urina).....	50
<b>Tabela 15</b> - Resultado do Coombs Indireto 6 meses depois (Amostra: Soro). ....	50
<b>Tabela 16</b> - Resultados analíticos de Hematologia.....	51
<b>Tabela 17</b> - Imunoserologia (Amostra: Soro).....	51
<b>Tabela 18</b> - Microbiologia (Pesquisa de Streptococcus Grupo B no Exs Vaginal/Anal).....	51
<b>Tabela 19</b> - Resultados analíticos de Hematologia.....	53
<b>Tabela 20</b> - Resultados analíticos de Microbiologia. ....	53
<b>Tabela 21</b> - Resultados analíticos de Bioquímica e Imunologia (Amostra: Soro).....	54
<b>Tabela 22</b> - Resultados analíticos de Bioquímica (Amostra: Soro).....	56
<b>Tabela 23</b> - Resultados analíticos de Microbiologia (Amostra: urina). ....	56
<b>Tabela 24</b> - Resultados anlíticos de Hematologia.....	58
<b>Tabela 25</b> - Resultados analíticos de Bioquímica (Amostra: Soro).....	59

## ABREVIATURAS

**aPTT:** Tempo de Tromboplastina Parcial ativada

**CAN/CNA:** Gelose Columbia com 5% de sangue de carneiro, Colistina e Ácido Nalidíxico (Colistin and Nalidixic Acid agar)

**CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute

**CMHG:** Concentração Média da Hemoglobina Globular

**COS:** Gelose Columbia com 5% de sangue de carneiro (Columbia+Sheep Blood agar)

**CPSE:** chromID™ CPS® Elite

**EDTA:** Ácido Etilenodiaminotetra Acético

**EDTA-k<sub>3</sub>:** Ácido Etilenodiaminotetra Acético Tripotássico

**HAE:** Gelose de Chocolate Haemophilus

**HDL:** lipoproteína de alta densidade

**HGM:** Hemoglobina Globular Médio

**IgA:** Imunoglobulina A

**IgG:** Imunoglobulina G

**IgM:** Imunoglobulina M

**INSA:** Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

**LDL:** lipoproteína de baixa densidade

**LLC:** Leucemia Linfoblástica Crónica

**MALT:** *mucosa-associated lymphoid tissue*

**NaCl:** Cloreto de Sódio

**NEQAS:** *National External Quality Assessment Site*

**PT:** Tempo de Protrombina

**PVX:** Chocolate agar PolyViteX VCA

**RDW:** *Red Cell Distribution Width*

**Rh:** *Résus*

**RIQAS:** *Randox International Quality Assessment Scheme*

**SAB:** Gelose de *Sabouraud*

**STRB:** chromID™ Strepto B (*Streptococcus* do grupo B)

**Strepto:** *Streptococcus*

**TODD:** Todd Hewitt Broth

**UDP-NAG:** *Uridine diphosphate N-acetylglucosamine*

**UDP-NAM:** *Uridine diphosphate N-acetyl muramic*

**UFC:** Unidade Formadora de Colónias

**VCA:** Agar de Chocolate (Selective isolation of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*)

**VGM:** Volume Globular Médio

## **RESUMO**

No findar do percurso no mestrado em Análises Clínicas realiza-se o estágio curricular, com o objetivo de aplicar os conhecimentos adquiridos ao longo destes 2 anos e permitir um contacto direto com o dia-a-dia laboratorial.

Ao longo do estágio curricular, realizado no Laboratório SYNLABHEALTH CENTRO situado no Hospital da Luz em Coimbra, tive a oportunidade de contactar com as diferentes áreas analíticas: microbiologia, imunologia, bioquímica e hematologia.

Este relatório irá centrar-se especialmente nas áreas de microbiologia e hematologia.

## **ABSTRACT**

At the end of the course in the master's degree in Clinical Analysis, a curricular internship is carried out, with the aim of applying the knowledge acquired over these 2 years and allowing direct contact with the laboratory's day-to-day life.

Throughout the curricular internship, held at the SYNLABHEALTH CENTRO Laboratory located at Hospital da Luz in Coimbra, I had the opportunity to encounter the different analytical areas: microbiology, immunology, biochemistry and hematology.

This report will focus especially on the areas of microbiology and haematology.

## **INTRODUÇÃO**

O Mestrado em Análises Clínicas tem como principal objetivo conferir competências teóricas e científicas bem como conferir formação especializada e multidisciplinar na área do diagnóstico laboratorial.

O curso é bastante abrangente através da sua formação teórica consolidada, culminando com o estágio curricular no 2º ano, que permite uma formação completa para nos tornarmos profissionais a nível superior no ramo das análises clínicas.

O estágio curricular referido neste relatório foi realizado no Laboratório SYNLABHEALTH CENTRO situado no Hospital da Luz em Coimbra, com a duração de 6 meses e engloba a aplicação de conhecimento, retratando as variadas áreas analíticas nomeadamente a microbiologia, a imunologia, a bioquímica e a hematologia. Este relatório incidirá especialmente nas áreas de hematologia e microbiologia e contemplará a apresentação e discussão de casos clínicos.

A realização do estágio curricular é bastante útil de modo a perceber a importância do trabalho laboratorial analítico na área da saúde e conseqüentemente na nossa sociedade. O contexto profissional a que somos expostos faz-nos perceber que um bom diagnóstico passa por um processamento e acompanhamento correto das diferentes fases analíticas e de uma interpretação laboratorial de acordo com normas científicas e críticas.

## **CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO DE ESTÁGIO**

O estágio curricular decorreu no Laboratório SYNLABHEALTH CENTRO situado no piso 0 do Hospital da Luz em Coimbra.

O horário de funcionamento do laboratório ocorre de segunda a sexta-feira das 7h30 às 20h30, e ao sábado das 8h às 12h e possui atendimento de urgência disponível todos os dias da semana, 24h por dia.

O laboratório possui também diversos postos de colheita em Coimbra, Viseu, Leiria, Louriçal bem como acordos com hospitais privados, sendo o caso do Hospital da Luz de Cantanhede e o Hospital da Luz da Covilhã. Disponibiliza também serviços domiciliares de colheita a utentes com dificuldade de deslocação e colheitas em contexto de medicina no trabalho.

O Laboratório SYNLABHEALTH CENTRO conta com vários colaboradores, desde a Diretora Técnica, a Dra. Carla Almeida, Farmacêutica Especialista em Análises Clínicas, o Dr. César Gama, Farmacêutico Especialista em Análises Clínicas, Técnicas Superiores de Análises Clínicas, Técnicas de Análises Clínicas, administrativos e enfermeiros.



## **PROCESSO ANALÍTICO**

O processo analítico, do laboratório Synlab, como de qualquer outro laboratório de análises clínicas, compreende três fases: as fases pré-analítica, analítica e a pós-analítica.

A fase pré analítica tem início com a requisição da análise por parte do clínico, o registo do utente no laboratório, seguido da colheita com a correta identificação das amostras através de uma etiqueta de código de barras identificativa de cada utente. As colheitas são realizadas seguindo as boas práticas laboratoriais e antes da realização da mesma é obrigatório verificar se o utente reúne todas as condições de colheita (estar em jejum caso seja necessário, indicar possíveis medicações, entre outras). A amostra de sangue venoso é colhida para diferentes tubos com tampas de cores diferentes e tem de ser realizada por uma ordem específica. (Tabela I)

No caso das hemoculturas, o local de punção das mesmas só deve ser utilizado para este fim (não se deve aproveitar a existência de cateteres colocados no utente) e deve utilizar-se veias distintas para cada colheita de modo a facilitar a deteção de microrganismos em pequena quantidade e para garantir que estes organismos não são organismos contaminantes (bactérias da pele por exemplo.) [1]

**Tabela 1** - Tubos de colheita de amostras de sangue venoso, pela ordem correta, identificados pelas cores das tampas que representam diferentes conteúdos consoante a amostra a obter e a análise a realizar segundo as normas CLSI.

<b>Ordem de Colheita</b>	<b>Cor da tampa</b>	<b>Anticoagulante</b>	<b>Amostra obtida</b>	<b>Setor</b>
<b>1</b>	Verde (Aeróbios) Laranja (Anaeróbios) Amarelo (Pediátricos)	Tubo com meio	Sangue	Hemocultura
<b>2</b>	Azul	Citrato de sódio (1:9)	Plasma	Coagulação
<b>3</b>	Cinzenta/Preta	Citrato de sódio (1:4)	Sangue	Velocidade de sedimentação
<b>4</b>	Azul-escura	Tubo seco	Soro para metais	Bioquímica (B, Cu, Cr, Mn, Mo, Ni Se, Tl, V, Zn)
<b>5</b>	Vermelha/Amarela	Gel separador (ativa o coágulo)	Soro	Bioquímica Imunologia
<b>6</b>	Verde	Heparina-lítio	Plasma, Sangue	Bioquímica (Vitamina C)
<b>7</b>	Roxa	EDTA-k <sub>3</sub>	Sangue, Plasma	Hematologia Bioquímica
<b>8</b>	Azul-escura	EDTA-k <sub>3</sub>	Sangue para metais	Bioquímica (Alumínio, Magnésio e Zinco eritrocitário, As, Bi, Cd, Pb, Co, Cu, Sr, Hg)
<b>9</b>	Cinzenta	Fluoreto	Plasma	Glucose no Plasma

Esta etapa engloba também o processamento da amostra que consiste na centrifugação dos tubos de colheita, exceto dos tubos que se pretende obter sangue total como amostra, sendo o caso do tubo de EDTA e o tubo de Velocidade de Sedimentação (citrato de sódio 1:4) que são utilizados em análises hematológicas.

As amostras de fezes, urina e os exsudatos (por exemplo, exsudatos vaginais, retais, uretrais, profundos, superficiais, entre outros) são colhidos para recipientes próprios e processados na sala de microbiologia. As hemoculturas devem também ser encaminhadas para a sala de microbiologia após colheita.

A fase pré-analítica é a mais importante de todo o processo pois é também, a etapa com maior hipótese de erros e por isso tem de ser realizada de forma cuidada e consciente.

Segue-se a fase analítica, e após centrifugação e verificação da qualidade das amostras, estas são distribuídas de acordo com os equipamentos do laboratório. (Tabela 2)

*A fase analítica engloba também a realização de controlos e calibrações dos reagentes bem como a reposição de novos reagentes.*

**Tabela 2** - Equipamentos utilizados na avaliação de parâmetros nas diferentes áreas das análises clínicas (Bioquímica, Hematologia e Imunologia).

<b>Aparelho</b>	<b>Setor</b>	<b>Amostra</b>
ARCHITECT C. 8000	Bioquímica	Plasma (citrato, heparina-lítio), Plasma (EDTA), Soro, Urina
ARCHITECT I.2000	Imunologia	Plasma (citrato, heparina-lítio), Plasma (EDTA), Soro,
ARCHITECT C. 4000	Bioquímica	Plasma (citrato, heparina-lítio), Plasma (EDTA), Soro, Urina
ARCHITECT I.1000	Imunologia	Plasma (citrato, heparina-lítio), Plasma (EDTA), Soro,
BIORAD D10	Hematologia	Sangue total (EDTA)
SYSMEX CA-660	Hematologia	Plasma (citrato)
SYSMEX XN-550 (2x)	Hematologia	Sangue total (EDTA)
VES-MATIC 30	Hematologia	Sangue total (citrato)

Todas as amostras com requisições de análises cujas técnicas o laboratório não executa, são enviadas para outros laboratórios que pertencem ao grupo e com quem tem acordos, como por exemplo, laboratórios no Porto, Lisboa e Barcelona.

Por fim, na fase pós-analítica ocorre a validação analítica dos resultados pelos Farmacêuticos Especialistas em Análises Clínicas de acordo com os parâmetros avaliados, relacionados com a história clínica do utente, quando disponível. Em seguida ocorre a entrega do relatório analítico ao utente e por sua vez ao clínico.

## CONTROLO DE QUALIDADE

O sistema de gestão de qualidade inclui a estrutura organizacional, os procedimentos, os processos e os recursos utilizados na gestão da qualidade. A principal missão dos laboratórios clínicos é providenciar ao utente o melhor serviço garantindo a conformidade da exatidão e da precisão. Fazem parte da qualidade no laboratório o controlo de qualidade interno, a avaliação externa da qualidade bem como a calibração dos equipamentos e das técnicas.

O objetivo primordial das calibrações dos equipamentos, é assegurar a qualidade dos resultados garantindo a qualidade dos reagentes. Proceder-se a calibração sempre que se introduz um novo lote do reagente ou sempre que os controlos não se encontram dentro dos parâmetros estabelecidos nas cartas de Levey-Jenings. Após calibração de determinada análise sucede-se o respetivo controlo.

Relativamente ao controlo de qualidade interno, este realiza-se diariamente, antes de iniciar as análises diárias. A Diretora Técnica define o plano de controlo analítico. Os controlos da grande maioria das técnicas são realizados diariamente, não são realizados diariamente aqueles cujo número de análises não se justifica. Na área da bioquímica, da imunologia e da hematologia os controlos são efetuados todos os dias utilizando níveis alternados. A Diretora Técnica também estabelece intervalos de referências mais estreitos respeitando sempre os que são fornecidos pelas casas comerciais tendo por base as cartas de *Levey-Jennings*, de maneira a garantir a maior eficácia e controlo dos parâmetros. Se os controlos não cumprirem os parâmetros avalia-se a situação e estuda-se o melhor plano de ação, quer seja repetir controlos, calibrações ou até mesmo trocar de lote de reagente de modo a conseguir a maior precisão possível.

Na avaliação externa da qualidade, o laboratório utiliza amostras conhecidas de outra empresa em que o objetivo é avaliar os parâmetros pedidos (os valores das mesmas são conhecidos por quem fornece os controlos), e realiza um relatório que é enviado à entidade externa, de maneira a comparar o desempenho dos métodos utilizados no laboratório SYNLABHEALTH CENTRO com outros laboratórios aderentes. Assim, consegue-se melhorar e assegurar a exatidão dos métodos utilizados no dia-a-dia do laboratório, assegurando sempre o melhor serviço para o utente. O laboratório SYNLABHEALTH CENTRO participa em vários programas de avaliação externa da qualidade sendo o caso do RIQAS, NEQAS, INSA, entre outros.

## ÁREAS DESENVOLVIDAS

### HEMATOLOGIA

A hematologia clínica é uma especialidade exigente, e importante no estudo da etiologia, diagnóstico, prognóstico e prevenção de doenças sanguíneas. [2]

Em seguida irão ser abordadas as técnicas mais frequentemente realizadas no laboratório.

Nesta área, realizam-se diferentes determinações como o hemograma e provas de coagulação (PT, aPTT e fibrinogênio). Para o hemograma é utilizado sangue venoso colhido para um tubo com anticoagulante ácido etilendiaminotetra acético (EDTA). As provas de coagulação são realizadas em plasma obtido após centrifugação de sangue colhido em tubo com citrato de sódio (1:9). Em casos específicos e em confirmação de resultados, pode ser realizado o hemograma usando o tubo de citrato de sódio. Tanto o EDTA como o citrato de sódio complexam o cálcio, removendo-o, para que não ocorra coagulação. [3]

O laboratório utiliza equipamentos SYSMEX XN-550 para determinar os parâmetros de hematologia, como o Eritrograma (contagem de Eritrócitos, Hemoglobina, Hematócrito, Volume Globular Médio, Hemoglobina Globular Média, Concentração Média da Hemoglobina Globular Média, *Red Cell Distribution Width*, reticulócitos), o Leucograma (contagem de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos), e o Plaquetograma (contagem de plaquetas e do volume plaquetar médio) através de citometria de fluxo de fluorescência. No SYSMEX CA-660 o princípio para medir os parâmetros de coagulação (PT, aPTT e fibrinogênio) é através do método Coagulométrico que determina o tempo de formação de coágulo.

A citometria de fluxo permite a realização de uma caracterização e contagem de um grande número de células tendo por base o seu tamanho e complexidade. Esta técnica baseia-se numa alíquota de sangue total diluído. As células são encaminhadas num canal em fluxo, esse fluxo é atravessado por um laser que é captado por vários detetores. Quando as células passam existe um impedimento e a luz sofre reflexão para várias direções o que permite avaliar o tamanho da célula (*forward-scatter*). Outra parte sofre refração permitindo avaliar a complexidade, núcleo e grânulos (*side-scatter*). [4]

## HEMOGRAMA

O hemograma contempla três determinações básicas que incluem a avaliação dos eritrócitos (série vermelha), dos leucócitos (série branca) e das plaquetas (série plaquetária) e fornece informação diferencial dos diferentes subgrupos de glóbulos brancos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos). [5]

Este exame fornece informações importantes para poder realizar o diagnóstico de patologias como, anemias, cânceros hematológicos, infecções, estados hemorrágicos agudos e imunodeficiências. [6]

### ERITRÓCITOS (eritrograma)

Os eritrócitos são células em forma de disco bicôncavo, não possuem núcleo e possuem um diâmetro entre os 6 e os 9  $\mu\text{m}$ . O facto de possuírem uma área de superfície maior em comparação com o volume permite-lhes que alterem a forma e passem, com facilidade pelos vasos capilares, a fim de realizar trocas gasosas e outras substâncias. A hemoglobina, principal constituinte do eritrócito, é uma proteína rica em ferro que conferem a cor à célula e é responsável pelo transporte de oxigénio até aos tecidos e de dióxido de carbono até aos pulmões. [6]

A formação de eritrócitos ocorre na medula óssea e é denominada de eritropoiese. Ocorre a diferenciação do precursor eritróide, o proeritroblasto em eritroblasto basófilo, eritroblasto policromático, eritroblasto ortocromático e por fim em reticulócito que é libertado na circulação. (Figura 1) Após 1 a 2 dias o reticulócito converte-se em eritrócito e passa a apresentar uma forma bicôncava. Possuem o tempo de semivida de 90 a 120 dias e após este período são destruídos no baço. O eritrograma avalia quantitativamente (quantidade de hemoglobina) e qualitativamente os eritrócitos e quando numa amostra existe uma variabilidade de tamanho das hemácias, estamos perante um caso de anisocitose, se a alteração for na forma estamos perante uma poiquilocitose. [7]

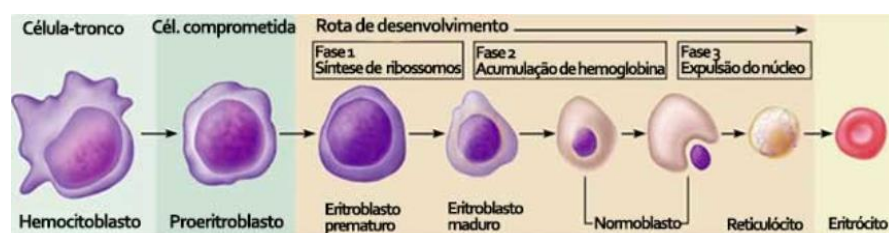


Figura 1 - Diferenciação do eritrócito (eritropoiese). [7]

## HEMATÓCRITO E ÍNDICES HEMATOLÓGICOS

O Hematócrito (Ht) corresponde à percentagem de eritrócitos existentes num dado volume de sangue e pode ser expresso em percentagem ou em Litro por Litro. [3]

Os índices hematológicos utilizam fórmulas matemáticas que dependem de valores referentes às contagens de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito. Os índices hematológicos incluem:

- O Volume Globular Médio (VGM) que é o volume ocupado pelos eritrócitos dividido pelo número total dos mesmos. O resultado é expresso em fentolitros; [3]
- A Hemoglobina Globular Média (HGM) que corresponde à divisão da hemoglobina pelo número total de eritrócitos, ou seja, à quantidade de hemoglobina que existe em cada eritrócito. Habitualmente é expresso em picogramas; [3]
- A Concentração Média da Hemoglobina Globular (CMHG) que corresponde à concentração de hemoglobina presente em cada eritrócito. O resultado é expresso, normalmente, em grama por decilitro; [3]
- A RDW ou *Red Cell Distribution Width* representa a variação do tamanho de eritrócitos na amostra. No fundo o RDW mede o índice de anisocitose eritrocitária que ocorre e é expressa em percentagem. [3]

Todos os parâmetros referidos fazem parte do hemograma e cada um deles é necessário para o diagnóstico e caracterização de patologias. A quantificação de eritrócitos e a concentração de hemoglobina são parâmetros que ajudam a classificar as anemias e a análise morfológica dos eritrócitos auxilia a identificação da causa. [8]

Quando um paciente com anemia (valor de Hemoglobina abaixo do valor padrão) apresenta VGM e HGM diminuídos a anemia denomina-se de anemia microcítica e hipocrómica. Por outro lado, se os valores de VGM e HGM estiverem dentro dos parâmetros de referência de normalidade, a anemia denomina-se de anemia normocítica e normocrómica. Por sua vez, se o valor de VGM estiver elevado a anemia é do tipo macrocítica. [5]

## LEUCÓCITOS (Leucograma)

Os leucócitos são uma peça chave de um complexo sistema imunitário e são úteis ao organismo no combate contra as infeções e outras anomalias. O processo de produção, maturação, desenvolvimento e especialização de leucócitos denomina-se de leucopoiese. A produção de leucócitos ocorre nos órgãos leucopoiéticos primários (medula óssea e timo) e nos órgãos leucopoiéticos secundários (baço, gânglios linfáticos e tecido linfóide associado à mucosa-MALT). Na corrente sanguínea possuem uma vida média de 12h a 3 dias (granulócitos) ou de 100 a 300 dias (agranulócitos). Os leucócitos que possuem grânulos (granulócitos) são os neutrófilos, basófilos e eosinófilos e os agranulócitos são os linfócitos e monócitos. (Figura 2) [9]







	Segmentado	Cayado	Eosinófilo	Basófilo	Linfocito	Monocito
Imagem						
Ø	De 10 a 15 µm	De 10 a 15 µm	De 10 a 15 µm	De 10 a 15 µm	De 8 a 15 µm	De 12 a 20 µm
Núcleo	De 3 a 5 lóbulos	No lóbulos formas en U o S	2 lóbulos	Difícil de observar	Ovalado, intensa coloración	Ameionada o lobulada. Coloración menos intensa que linfocitos
Citoplasma	Gránulos neutrófilos	Gránulos neutrófilos	Gránulos esféricos anaranjados	Gránulos esféricos de gran tamaño color azul oscuro	Gránulos púrpuras ocasionalmente Poco abundantes	Color azul gris, en ocasiones con vacuolas Mas abundante

Figura 2 - Principais características morfológicas dos leucócitos. [9]

A análise do leucograma ou série branca avalia as contagens totais e diferenciais dos leucócitos bem como a morfologia dos neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos. Quando os valores de leucócitos se encontram acima do valor padrão denomina-se leucocitose e quando estão abaixo, leucopenia. A Tabela 3 apresenta as principais alterações morfológicas nos leucócitos. [5]

Tabela 3 - Principais alterações morfológicas nos leucócitos.

Célula	Núcleo	Citoplasma	Associado a
<b>Neutrófilos</b>	Pelger-Huet (hiposegmentação)	—	Herança autossómica recessiva. Doenças mieloproliferativas
<b>Neutrófilos</b>	—	Vacúolos	Intoxicação por benzeno, Infeções bacterianas
<b>Neutrófilos</b>	Hipersegmentação	—	Deficiência de Vitamina B12 e folatos
<b>Neutrófilos</b>	Múltiplos (hipersegmentação ou hiposegmentação)	—	Síndrome Mielodisplásica (SMD)
<b>Neutrófilos</b>	—	Granulação tóxica	Infeções bacterianas, Inflamação, gestação
<b>Linfócitos</b>	Atípico	—	Infeções virais



## PLAQUETAS

A formação de plaquetas deriva de um processo chamado megacariopoiese, que termina com a fragmentação do citoplasma dos megacariócitos que geram as plaquetas (1000 a 5000 por megacariócito). No geral, existem em circulação sanguínea cerca de  $10^{11}$  plaquetas. O baço tem a função de eliminar plaquetas “velhas” para que o número se mantenha constante. A célula estaminal hematopoiética encontra-se na medula óssea rodeada por osteoblastos. No processo de diferenciação há a replicação do DNA, mas não ocorre a divisão do núcleo e do citoplasma fazendo com que os megacarioblastos aumentem de tamanho e aumente o número de proteínas essenciais para a constituição dos grânulos das plaquetas. No final da diferenciação para megacariócito, a célula desloca-se para um nicho sinusoidal formando pseudópodes (pequenas extensões), avançando através da parede dos vasos sanguíneos libertando uma grande quantidade de plaquetas neste local. [4]

As plaquetas possuem a principal função de servirem como tampões mecânicos e quando ocorre lesão (ruptura das células endoteliais) estas aderem à parede do vaso sanguíneo ocorrendo uma interação plaqueta-parede do vaso sanguíneo e por fim uma agregação (interação plaqueta-plaqueta) aumentando o potencial de tampão. Esta agregação é potencializada pelo Fator de *von Willebrand* (glicoproteína que ocorre naturalmente no plasma e é sintetizado quer nas células endoteliais quer nos megacariócitos). [4]

Após agregação plaquetar e libertação, os fosfolípidos da membrana intervêm em duas reações dependentes de cálcio, na cascata da coagulação: na ativação do fator X em fator Xa e na ativação da protrombina (fator II) em trombina (IIa). [4]

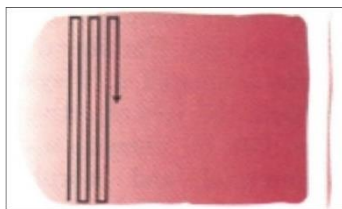
Devido à sua função tampão e à promoção de desencadeamento da coagulação sanguínea, a contagem de plaquetas e a análise da sua morfologia são muito importantes no auxílio ao diagnóstico. Situações que causam trombocitopenia (produção insuficiente, destruição aumentada ou consumo excessivo de plaquetas) induzem ao sangramento. Por outro lado, em situações em que o número de plaquetas esteja dentro dos valores normais, mas há ausência de grânulos (plaquetas cinzentas) ocorre hemorragia devido a uma dificuldade plaquetária. O número elevado de plaquetas denomina-se de trombocitose e pode ocorrer devido a: anemia ferropriva, hemorragias agudas, inflamações e infecções crônicas, anemias hemolíticas, leucemias e policitemia vera. No caso da trombocitemia essencial, o número de plaquetas é muito elevado resultante de uma patologia mieloproliferativa que desencadeia a formação descontrolada dos megacariócitos, precursores das plaquetas. [5]

Pode também ocorrer interferências técnicas resultantes da contagem dos auto-analisadores, como por exemplo presença de agregados plaquetares ou em situações patológicas (por exemplo em casos de microesferocitose) onde o tamanho reduzido de eritrócitos pode conduzir a pseudo-trombocitose. A contagem de plaquetas deverá ser confirmada recorrendo a colheitas com outro anticoagulante ou feita em Câmara Neubauer. [5]

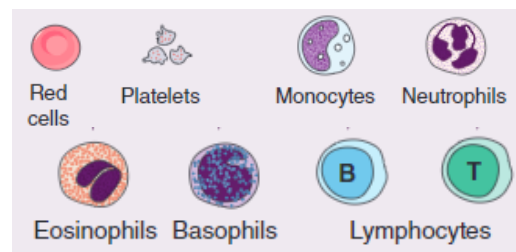
## ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO

A avaliação dos esfregaços de sangue periférico auxilia e complementa um possível diagnóstico bem como a confirmação visual dos resultados obtidos no hemograma.

Realiza-se com uma gota de sangue colocada numa lâmina enquanto outra lâmina é mantida numa inclinação média de 30 a 45 graus de forma a espalhar o sangue pela lâmina sem aplicar muita pressão. Os esfregaços não podem ser muito curtos nem muito espessos. As colorações mais utilizadas são: Wright ou May-Grunwald-Giemsa. Geralmente, os esfregaços são avaliados na objetiva de x100 e nesta ampliação as três séries (hemácias, leucócitos e plaquetas) de elementos sanguíneos devem ser avaliadas morfológicamente. (Figura 4) A área mais elegível para observar o esfregaço é na parte interna da borda onde termina o esfregaço. (Figura 3) [6]



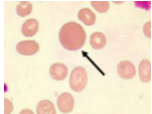
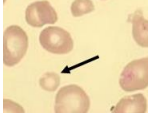
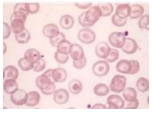
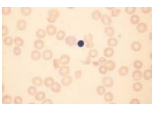
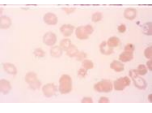
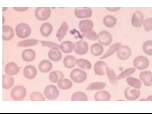
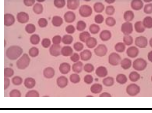
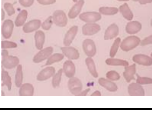
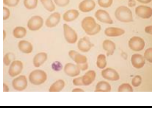
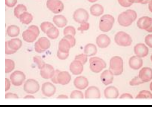
**Figura 4** - Área mais comum para observar o esfregaço de sangue periférico. [6]



**Figura 3** - Células Sanguíneas observadas num esfregaço. [4]

As morfologias de eritrócitos, leucócitos e plaquetas dever ser observada tendo como base o tamanho, a forma, a coloração celular e as inclusões. As alterações que mais se observam são as anomalias de eritrócitos e alguns exemplos estão representados na Tabela 4.

**Tabela 4 - Alterações dos eritrócitos e possíveis causas. [9]**

	<b>Alterações dos Glóbulos Vermelhos</b>	<b>Causas</b>
	<b>Macrocitose</b>	Doença Hepática, Alcoolismo, Anemia megaloblástica
	<b>Microcitose</b>	Deficiência de ferro, Hemoglobinopatias
	<b>Células Alvo</b>	Deficiência de ferro, Doença Hepática, Hemoglobinopatias, Pós-Esplenectomia
	<b>Equinócito</b>	Doença Hepática, Pós-Esplenectomia
	<b>Acantócito</b>	Doença Hepática, Falha Renal, Abetalipoproteinemia
	<b>Drepanócitos (Em foice)</b>	Anemia Falciforme
	<b>Esferócito</b>	Esferocitose Hereditária, Anemia Hemolítica autoimune, Septicemia
	<b>Eliptócito</b>	Eliptocitose Hereditária
	<b>Dacriócitos (Em gota/lágrima)</b>	Mielofibrose, Hematopoiese Extramedular
	<b>Corpo de Howell-Jolly</b>	Pós-Esplenectomia, Hipoesplenismo

## HEMOSTASE

A Hemostasia ou Hemostase é um processo fisiológico que permite que o sangue circule nos vasos sanguíneos sem a ocorrência de hemorragias ou trombozes. Este processo conta com uma simbiose entre a parede do vaso sanguíneo, as plaquetas e os fatores de coagulação. Sendo constituído por 5 fatores que trabalham em conjunto:

- Plaquetas;
- Fatores de coagulação;

- Inibidores da coagulação: para impedir que a coagulação ocorra descontroladamente e leve à formação de um trombo;
- Fibrinólise: para realizar a degradação dos trombos;
- Vasos sanguíneos. [4]

Em meio laboratorial quantifica-se o número de plaquetas e avaliam-se as vias (intrínseca e extrínseca) da cascata da coagulação (PT, aPTT e fibrinogénio) para apoiar o diagnóstico de patologias associadas à hemostase.

## FATORES DE COAGULAÇÃO

A coagulação sanguínea *in vivo*, considerada a hemostase secundária, ocorre através da ativação sequencial de cascatas de proteínas precursoras (enzimas do fator de coagulação) e proteólises terminando na formação de trombina. Por sua vez a trombina regula a conversão de fibrinogénio solúvel em fibrina. Desta forma a fibrina envolve os agregados plaquetares nos locais onde existe uma lesão vascular, fortalecendo-os. [10]

Os fatores de coagulação (figura 5) intervêm nas reações químicas da coagulação, sendo a maior parte enzimas proteolíticas (específicas da corrente sanguínea) que são ativas através de um sistema de cascata. [4]

Factor number	Descriptive name	Active form
I	Fibrinogen	Fibrin subunit
II	Prothrombin	Serine protease
III	Tissue factor	Receptor/cofactor*
V	Labile factor	Cofactor
VII	Proconvertin	Serine protease
VIII	Antithaemophilic factor	Cofactor
IX	Christmas factor	Serine protease
X	Stuart-Prower factor	Serine protease
XI	Plasma thromboplastin antecedent	Serine protease
XII	Hageman (contact) factor	Serine protease
XIII	Fibrin-stabilizing factor	Transglutaminase
	Prekallikrein (Fletcher factor)	Serine protease
	HMWK (Fitzgerald factor)	Cofactor*

HMWK, high molecular weight kininogen.  
\* Active without proteolytic modification.

**Figura 5 - Fatores de coagulação.**

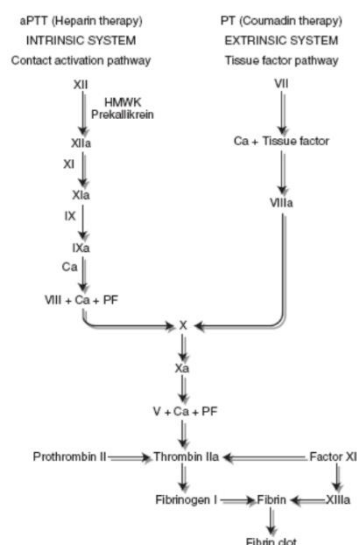
Este processo começa com uma lesão do endotélio mais especificamente com a perda da integridade endotelial, levando à exposição de proteínas de superfície pelas células endoteliais, em particular à exposição do fator tecidual. O fator VII está presente na corrente sanguínea, sendo que apenas uma pequena parte já se encontra ativa. O fator VII liga-se ao fator tecidual e o complexo fator tecidual-fator VIIa é capaz de ativar o restante fator VII em circulação que se liga ao fator tecidual desencadeando a coagulação sanguínea. Na presença de cálcio, este processo desencadeia a ativação do fator IX e do fator X. [4]

O fator X, quando ativado e na presença de fosfolípidos da membrana plaquetar, é capaz de ativar o fator II, designado de protrombina. Esta quando é ativado transforma-se em trombina, em pequenas quantidades (picomolar). [4]

A trombina que foi formada ativa o fator V, VIII e XI. Por sua vez o fator XIa ativa o fator IX que na presença do cofator VIIIa, ativa uma maior quantidade de fator X. Na presença do cofator Va, o fator Xa forma uma grande quantidade de trombina que leva a uma formação elevada de monómeros de fibrina. Esta fibrina não é suficiente para dar consistência ao coágulo e por isso a trombina ativa também o fator XII que estabelece ligações covalentes com os monómeros de fibrina e torna a molécula num polímero consistente. [4]

Os dois testes de coagulação mais utilizados em meio laboratorial são o tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT) e o tempo de protrombina de modo a avaliar as vias de ativação da coagulação: intrínseca e extrínseca, respetivamente (figura 6). Na avaliação de um processo de coagulação, a determinação destes fatores não é muito linear, por exemplo, as deficiências do fator VII ou VIII causam prolongamento do aPTT mas apenas a deficiência do fator VIII está associado a um evento hemorrágico. Além disso, há evidências de que a ativação do fator IX (via intrínseca) pelo fator VII ativado (via extrínseca) é essencial para estabelecer a coagulação após estímulo inicial do fator tecidual-fator VIIa ativado pelo fator X. [3]

Distúrbios na coagulação podem ser hereditários ou adquiridos, sendo que a doença hepática grave pode comprometer a hemóstase porque todos os fatores de coagulação são produzidos no fígado (pelas células endoteliais sinusoidais hepáticas e pelos hepatócitos) e neste caso tanto o PT como o aPTT vão se encontrar aumentados. [11]

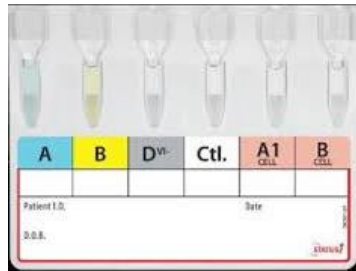


**Figura 6 - Coagulação in vivo. [36]**

## GRUPOS SANGUÍNEOS ERITROCITÁRIOS

Os eritrócitos possuem à superfície da membrana vários antígenos, que são determinados geneticamente e que definem qual o grupo sanguíneo eritrocitário.

Em meio laboratorial determina-se os de maior importância clínica, os sistemas AB0 e Rh.



**Figura 7** - Cassete de reação para determinação de grupos eritrocitários.

### SISTEMA AB0

É definido pela presença de eritrócitos do antígeno A (grupo A), antígeno B (grupo B), dos dois antígenos A e B (grupo AB) ou de nenhum deles (grupo 0), à superfície da membrana. Em termos laboratoriais, é necessário identificar os antígenos eritrocitários com reagentes anti-A, anti-B e anti-A,B previamente conhecidos, através do teste globular e confirmar os resultados através da presença dos anticorpos correspondentes no plasma que é testada através de hemácias A1 e B. [12]

A prova globular pesquisa antígenos à superfície dos eritrócitos através do sangue total e de anti-soros e a prova sérica pesquisa os anticorpos do glóbulo vermelho no plasma/soro do doente. [13]

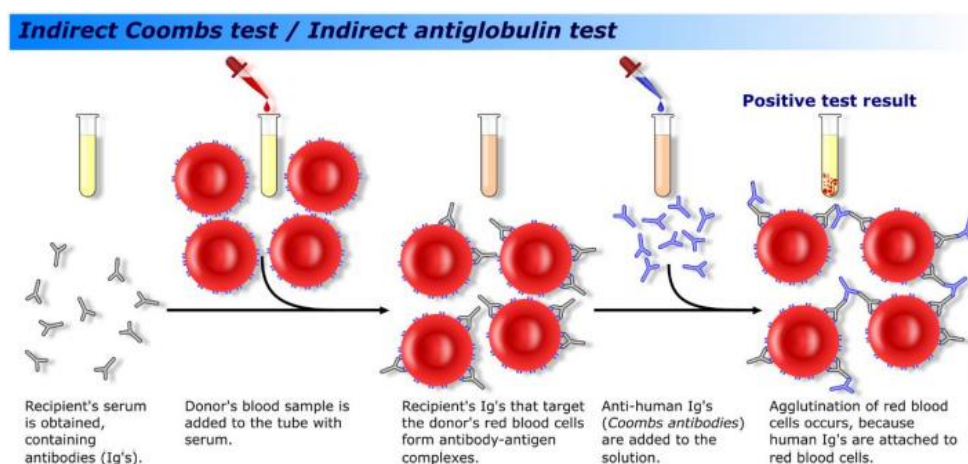
### SISTEMA RHÉSUS (Rh)

O sistema Rhésus (Rh) é o sistema mais complexo de grupos sanguíneos, englobando vários antígenos, sendo que o mais conhecido é o antígeno D. Os indivíduos que expressam este antígeno à superfície dos eritrócitos expressam-se como Rh positivos. A detecção deste parâmetro dá-se pela adição de um soro anti-D aos eritrócitos em estudo, caso ocorra aglutinação os indivíduos são do tipo Rh positivo. [12]

Este sistema é importante em termos clínicos, nomeadamente em reações hemolíticas transfusionais, em anemias auto-imunes hemolíticas e na mais conhecida, na doença hemolítica do recém-nascido. [13]

## TESTE DE COOMBS INDIRETO

O teste de coombs indireto ou teste da anti-globulina indireta (PAI) é a pesquisa de anticorpos anti-eritrocitários presentes no soro ou do plasma. O objetivo é realizar a pesquisa de anticorpos IgG que não aglutinam os eritrócitos em solução salina. É utilizado soro de Coombs monoespecífico (anti-IgG) e soro de Coombs poliespecífico (anti-IgG e anti-C3d; soro anti-humano) que são capazes de detetar IgG e IgG/fracção do complemento C3d, respetivamente. (figura 8) [14]



**Figura 8** - Teste de Coombs Indireto. [13]

Normalmente os anticorpos IgG reagem a 37°C (anticorpos quentes), já os anticorpos IgM reagem a temperaturas >32° sendo que a melhor reatividade ocorre aos 4°C (anticorpos frios). Assim os mais utilizados em meio laboratorial são os IgG. Este teste não deve ser realizado em eritrócitos RhD positivo, porque detetaria somente anti-D e não os anticorpos significativamente importantes clinicamente. [14]

Cerca de 1% das grávidas apresenta anticorpos antieritrocitários (que causam a Doença Hemolítica do recém-nascido) pois têm a capacidade de atravessar a placenta e ligar-se às hemácias fetais diminuindo a sobrevivência fetal. Desta forma o PAI é realizado em gestantes RhD negativas para detetar anti-D e autoanticorpos. [14]

## TESTE DE COOMBS DIRETO

O teste de antiglobulina direto (TAD) realiza a pesquisa da fração C3d ou de anticorpos IgG presentes na membrana eritrocitária. O TAD é realizado com eritrócitos do paciente que são previamente lavados com NaCl 0,9% e com adição de soro de Coombs. (Figura 9)

A realização deste teste é recomendada em casos de anemia hemolítica autoimune ou induzida por fármacos. Também é recomendada a realização do teste no caso de anemia hemolítica do recém nascido e em caso de reação de transfusão de sangue. [14]

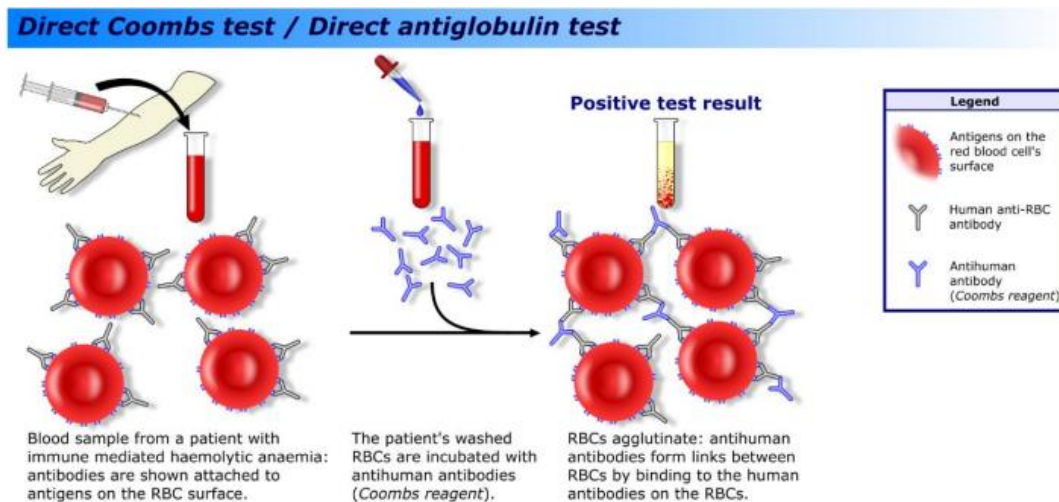


Figura 9 - Teste de Coombs Direto. [13]



## BIOQUÍMICA

Na área de bioquímica clínica, a determinação de parâmetros é realizada através de equipamentos que utilizam várias metodologias, tal como, espectrofotometria, potenciometria e a turbidimetria, consoante o parâmetro analítico a avaliar. São utilizados os modelos ARCHITECT C 8000 e ARCHITECT C4000 para avaliar os parâmetros bioquímicos.

A espectrofotometria baseia-se na medição de absorvância, quantidade de luz que é absorvida pela solução ou amostra, num determinado comprimento de onda. Este sistema baseia-se na passagem de um feixe de luz por uma cubete transparente de reação que contém a substância a ser determinada. O feixe de luz que atravessa a cubete de reação contendo a amostra pode ser absorvido, refletido ou transmitido. Parte da luz que atravessa a cubete contendo a amostra é absorvida e, segundo a Lei de Beer-Lambert, ocorre uma relação de proporcionalidade direta entre a quantidade de luz absorvida e a concentração de analito presente na solução. Quanto maior a concentração de analito maior a absorção de luz, que pode ser determinada a partir da transmitância (razão entre a quantidade de luz que incide sobre um corpo e a quantidade que luz que o atravessa). [15] Esta técnica é utilizada na quantificação de maior parte dos parâmetros de bioquímica, tais como, Glucose, Proteínas totais, Albumina, Colesterol total, Colesterol-HDL, Colesterol-LDL, Triglicerídeos, Bilirrubina (total e direta), Amónia, Alanina aminotransferase, Aspartato aminotransferase, Fosfatase Alcalina, Gama Gutamiltransferase, Creatinina, Ureia, Ácido úrico, Cálcio, Fosfato e Magnésio.

O método potenciométrico tem como objetivo principal avaliar iões sódio, cloreto e potássio. Permite medir, de forma indireta, a concentração de iões numa amostra através da diferença de potencial elétrico entre um eletrodo seletivo de iões e um eletrodo de referência, dando a informação relativa à atividade iónica que por sua vez nos dá a informação sobre a concentração de ião na solução. [16]

Existe também o método de turbidimetria que permite determinar a concentração de um analito numa determinada solução. Esta técnica baseia-se num feixe de luz, com um comprimento de onda conhecido, que incide sobre a amostra/solução, ocorrendo dispersão de luz e, dependendo da concentração do analito, ocorrendo a diminuição da luz transmitida (devido à turbidez da amostra). Grande parte destas técnicas utiliza anticorpos para formar imunocomplexos para garantir a especificidade da reação. O método de Turbidimetria/Imunoturbidimetria é utilizado na quantificação de Imunoglobulinas (IgG, IgA, IgM), da Proteína C reativa e da Proteína C reativa ultrasensível, da Lipoproteína (a), da Microalbuminúria e das proteínas da urina. [16]

Para grande parte dos parâmetros analisados nesta área a amostra utilizada é o soro que é obtido por colheita de sangue venoso para um tubo com gel separador e ativador de coágulo. Alguns parâmetros detetados são a Creatinina, a Glicose, Ureia, o Colesterol, entre outros. Também se pode utilizar Tubos de heparina-lítio sendo que a heparina é considerada um anticoagulante “natural” devido à sua presença no sangue (evita a hemólise) e não altera a morfologia e tamanho das células. [17] Neste caso a amostra a ser obtida é o plasma, que permite a detecção de alguns parâmetros como determinações de pH, cálcio ionizado e gasometria. Também se utilizam tubos de citrato de sódio (1:9) para efetuar a mediação, por exemplo, de D-Dímeros, no plasma.

## IMUNOLOGIA

A determinação dos parâmetros de imunologia é habitualmente efetuada por técnicas manuais e por técnicas automatizadas. As técnicas automatizadas utilizam, habitualmente, métodos de Imunofixação e de Quimioluminescência. À semelhança da bioquímica também se utilizam aparelhos ARCHITECT nomeadamente o ARCHITECT Ci 8200 e o ARCHITECT Ci 4100.

Estes aparelhos utilizam métodos de quimioluminescência, este método consiste na medição de partículas de luz emitidas, após uma reação química. Em avaliações imunológicas quanto mais complexos antígenos-anticorpo formados maior a intensidade da luz medida. [16]

No laboratório também se realizam técnicas de eletroforese e de imunofixação, por exemplo, quando há suspeita de paraproteínas no soro. A eletroforese permite separar proteínas do soro do utente, e com a técnica de imunofixação procede-se à precipitação das mesmas com anti-soros (anti-imunoglobulinas). Este procedimento é efetuado em gel de agarose e pode-se observar o resultado após corar o gel. [16]

Tal como referido anteriormente, o laboratório também realiza técnicas manuais no âmbito da imunologia clínica, tais como os testes rápidos por imunocromatografia. O objetivo primordial destes testes é detetar o antígeno (em alguns casos o anticorpo) numa cassette. A cassette contém uma linha de controlo e uma linha de teste e para que o teste seja considerado válido a linha de controlo tem de ser positiva. São utilizados para diagnóstico de SARS-COV-2, teste de sangue oculto nas fezes, deteção de *Clostridium difficile* nas fezes, entre outros.

## **MICROBIOLOGIA**

O objetivo da microbiologia nas análises clínicas é isolar, identificar e analisar as bactérias patogénicas. Ter conhecimento sobre a fisiologia e a estrutura microbiana é de extrema importância na cultura de organismos, na caracterização e identificação de organismos isolados e na interpretação de testes de suscetibilidade antimicrobiana. [18]

Os temas abordados em seguida neste relatório, abrangem as principais práticas laboratoriais, que o laboratório realiza diariamente, na área de microbiologia.

### **ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE URINA**

A amostra da urina é o tipo de amostra mais analisado no laboratório de microbiologia. A colheita é feita, tipicamente, pelo utente e as instruções de colheita fornecidas pelo profissional de saúde devem ser claras e simples para que o utente compreenda e siga as recomendações corretamente.

A primeira amostra de urina da manhã é a preferida por fornecer uma amostra mais concentrada. O utente deve assegurar a limpeza da área genital antes de efetuar a colheita de modo a reduzir a contaminação de flora nativa na hora de identificação microbiológica. [18]

O paciente deverá efetuar a colheita do jato intermédio, descartando o inicial de modo a descartar os contaminantes da uretra e fazendo uma representação precisa da urina na bexiga, pela porção intermédia da mesma. [18]

### **URINA TIPO II**

O estudo da urina tipo II no diagnóstico laboratorial engloba dois parâmetros: a análise físico-química da urina e a observação do sedimento urinário ao microscópio.

### **PARÂMETROS QUÍMICOS DA URINA**

A deteção dos parâmetros físico-químicos urinários é realizada antes de centrifugar a urina e utilizando tiras de teste que reagem em contacto com a amostra. Estes parâmetros são os leucócitos, os nitritos, o urobilinogénio, as proteínas, o pH, a hemoglobina, a densidade, os corpos cetónicos, a bilirrubina e a glucose. As amostras de urina após colocadas em frascos de aproximadamente 10 mL, são introduzidas no iCHEM VELOCITY que faz a leitura das tiras automaticamente, medindo os parâmetros através de fotometria de refletância e o método de índice de refração ótica. [19]

Independentemente do resultado obtido nas provas das tiras, este teste tem sempre de ser complementado com a observação do sedimento urinário.

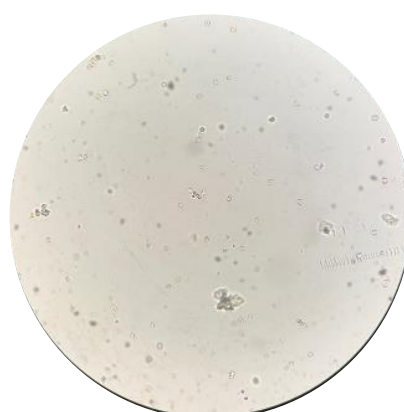
## SEDIMENTO URINÁRIO

O sedimento urinário possibilita a visualização de achados patológicos que estão presentes na via urinária descendente e nos rins. [20] Após centrifugar a urina deposita-se duas gotas do precipitado numa lâmina com a lamela por cima e observa-se num microscópio com objetiva de 40x. Na observação microscópica podemos visualizar vários achados:

- As células epiteliais, que numa quantidade moderada são normais de uma natural descamação. [20]
- Os Leucócitos, quando estão presentes no sedimento em abundância podem ser sinal de um processo infeccioso que está a ocorrer. Normalmente os leucócitos apresentam-se como células redondas cujo citoplasma é ocupado por um ou vários núcleos. [20]
- As Hemácias caracterizam-se pela sua forma bicôncava e sem núcleo, elemento diferenciador de leucócitos e células epiteliais, mas também podem apresentar outras formas, como por exemplo, como acantócitos (com espículas nítidas), esquinócitos (os espículos são menos salientes), esferócitos (forma muito redonda), septados, entre outros. A forma destes glóbulos vermelhos normalmente está associada a diferentes patologias e a presença na urina é sempre um sinal de alerta. [20]
- Os cristais que mais comumente se observam são os de ácido úrico, oxalato de cálcio (Figura 11), uratos, fosfatos amorfos e triplo fosfato (figura 10). A formação de cristais está associada a transtornos metabólicos e de formação de cálculos. [20]
- Também se observam bactérias, parasitas e até mesmo espermatozoides. [20]



**Figura 10** - Cristais de triplo fosfato (pH>7).



**Figura 11** - cristais de oxalato de cálcio.

## **UROCULTURA**

A urocultura é um dos exames mais requisitados no laboratório sendo uma técnica quantitativa que tem por objetivo fazer o diagnóstico de infeções do trato urinário com base no número de unidades formadoras de colónias por mililitro de urina (UFC/mL), identificar o agente causal da infeção e avaliar a suscetibilidade da bactéria aos antimicrobianos. Desta forma utiliza-se em meio de cultura cromogénico, o CPSE, que identifica o patogénio urinário, exibindo uma coloração específica e de fácil diferenciação de culturas mistas. [21]

Procede-se à homogeneização da urina e com uma ansa calibrada de 1 microlitro, realiza-se o esgotamento do produto numa linha central e em seguida em estrias horizontais. Incuba-se a placa durante 18-24h a 37°C para observar ou não o crescimento de microrganismos.

## **ANTIBIOGRAMA**

Para que o laboratório esteja em concordância com as boas práticas do plano do utente é necessário compreender o papel da terapia antimicrobiana no cuidado de pacientes com infeções. O ideal seria realizar a terapia antimicrobiana depois de se obter a identificação microbiana e o resultado dos testes de suscetibilidade. Sendo que em meio hospitalar não é possível, a identificação e os testes de suscetibilidade realizam-se após o início da toma do antibiótico, e caso haja alguma discrepância na resistência bacteriana, o utente é contactado pelo médico para que ocorra a troca de fármaco.

Após o isolamento da colónia segue-se a suspensão da mesma em NaCl 0,9% e a leitura num equipamento que lê a turbidez utilizando a escala de McFarland. Habitualmente os valores que o laboratório aceita de turbidez são de 0.55 a 0.65 McFarland, sendo a turbidez ótima de 0.6 McFarland. O aparelho VITEK 2 controla todos os passos subsequentes de incubação e leitura, e através dos códigos de barras previamente introduzidos de cada amostra o aparelho apresenta os resultados. [22]

O aparelho apresenta não só os resultados de resistência e sensibilidade dos microrganismos como também, a prévia identificação bacteriana. O processo de identificação bacteriana e de antibiograma feito no VITEK 2 Compact, é automatizado e o aparelho possui uma base de dados completa que possui múltiplas variantes identificadas para cada microrganismo com o intuito de incluir a diversidade de espécies e assegurar a segurança e exatidão do método. [23]

## EXSUDADOS

Outra amostra frequente no laboratório são os exsudados para realizar exame microbiológico. Normalmente os exsudados são colhidos em zaragatoas e procede-se à identificação do agente patogénico por cultura do microrganismo e, em alguns casos, pela posterior observação microscópica. É o exemplo da *Gardnerella* em que é obrigatório o gram para a observação das *Clue Cells*.

As espécies mais identificadas em laboratório encontram-se na seguinte Tabela 5.

**Tabela 5** - Amostras microbiológicas, respetivos meios, condições de incubação e pesquisa de microrganismos.

Amostras	Meios	Condições de incubação	Lâminas	Pesquisa
Vaginal/Retal Strepto B	STRB TODD	24h/37°C		<i>Streptococcus do Grupo B</i>
Vaginal	COS; CAN/SAB PVX/VCA; HAE	48h/37°C 72h/37°C; 5%CO <sub>2</sub>	Gram	<i>Streptococcus do Grupo B</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Mycoplasma/Ureoplasma</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Candida Albicans</i>
Uretral (masculino)	CNA/ COS; CAN/SAB PVX/VCA; HAE	48h/37°C 72h/37°C; 5%CO <sub>2</sub>	Gram	<i>Mycoplasma/Ureoplasma</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Candida Albicans</i>

## COLORAÇÃO DE GRAM

A coloração de Gram é uma técnica laboratorial preliminar utilizada para classificar e identificar bactérias com base na estrutura da sua parede. É comumente utilizada para avaliação preliminar de exsudados e confirmação de algumas espécies bacterianas.

A coloração de Gram divide as bactérias em dois grupos: gram-positivo (azul ou roxo) e gram-negativo (rosa). A estrutura da parede celular define o tipo de coloração de gram de uma bactéria. [18]

Esta coloração consiste na fixação do esfregaço, por uma fonte de calor, e pela adição de quatro componentes corantes: cristal violeta (corante primário, 1 minuto), o soluto de lugol (o mordente ou fixador, 1 minuto), álcool ou uma solução álcool-acetona (descolorante que tem de ser lavado rapidamente) e Fucsina (contra coloração, 30 segundos). [24]

Quando as estruturas celulares são cobertas com cristal violeta, todas as bactérias coram-se de roxo. Quando o lugol é adicionado forma-se o complexo iodo-pararosanilina que tem como

função fixar o corante primário às estruturas já coradas. Este processo permite que quando se adiciona o álcool, um agente descorante, as estruturas que não foram fixadas pelo corante primário, ou seja, que não foram fixadas de roxo percam a cor lentamente. As estruturas que foram descoradas são, depois, coradas pelo corante secundário, a fucsina. [24]

Bactérias gram positivas que contêm paredes celulares compostas por mureína (peptidoglicano-peptídeo de ácido n-acetil murâmico) retêm o corante primário durante a descoloração por álcool-acetona. As bactérias gram negativas com paredes compostas predominantemente por ácidos gordos (lipopolissacarídeos e lipoproteínas) perdem o complexo lugol-cristal violeta e assumem a cor do corante de fundo, ou seja, o rosa. (Figura 12) [24]

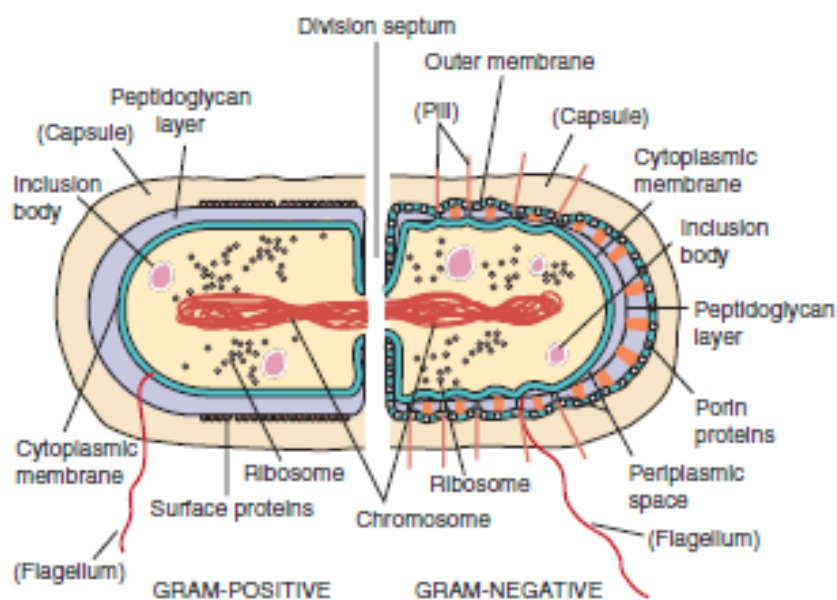


Figura 12 - Diferenças nas paredes das bactérias gram negativas e gram positivas [25]

## FEZES

A amostra de fezes é ideal para a detecção de microrganismos gastrointestinais e pode realizar-se a colheita e posterior análise através de diferentes formas.

Através da colheita em recipiente estéril (a amostra de fezes deve ter o tamanho de meia noz) para pesquisa de bactérias em meios de cultura (Coprocultura). Neste exame bacteriológico é obrigatória a pesquisa de *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* e *Shigella*.

Pode também ser realizada uma colheita de fezes, durante três dias alternados, no período máximo de 10 dias para fazer a detecção de ovos e outras estruturas parasitárias. A amostra é



preparada por concentração pelo método de Ritchie que se baseia no processo de centrifugação e sedimentação das formas parasitárias num solvente de acetato de etilo. [1]

No caso da deteção de sangue oculto nas fezes, a amostra é recolhida num frasco estéril e em meio laboratorial utiliza-se um teste imunocromatográfico de fluxo lateral, posteriormente à diluição da amostra, de modo a detetar a hemoglobina. O teste possui uma linha de controlo para assegurar a precisão do mesmo. Este exame é pedido quando há a suspeita de problemas gastrointestinais como úlceras, hemorroidas, doença inflamatória intestinal, entre outras, e tem de ser sempre complementado com outros exames, por exemplo com uma colonoscopia. [1]

## **COPROCULTURA**

Os meios utilizados para coprocultura são o de MacConkey, Hecktoen, CAM (campylobacter) em microaerofilia, para ocorrer um crescimento seletivo e próprio de cada agar. As placas são incubadas durante 18 a 24h a 37°C.

Posteriormente a semear a amostra nos meios acima indicados, é colocada uma pequena quantidade de fezes num meio de enriquecimento de SELENITO para que ocorre um crescimento bacteriano e passado 24h possa ocorrer a passagem de meio líquido (da suspensão de fezes com o meio de enriquecimento) para a placa de Hecktoen.

Na gelose de MacConkey o objetivo é encontrar colónias fermentadoras da lactose uma vez que este meio é seletivo para bactérias gram negativas e um meio diferencial pois permite distinguir bactérias fermentadoras e não fermentadoras da lactose. O meio contém sais biliares e cristal violeta que inibe as bactérias gram positivas. Quando as bactérias são fermentadoras da lactose o meio muda para rosa/vermelho quando não são fermentadoras da lactose o meio altera-se para amarelo. [1]

Na gelose de Hecktoen a colónia apresenta-se incolor se a bactéria é fermentadora de lactose, sacarose e salicina (característico de *Shigella*). Se a colónia produzir sulfureto de hidrogénio (H<sub>2</sub>S) a colónia apresenta um centro negro característico de *Salmonella*. [1]

A agar de Campyloset apenas é seletiva para *Campylobacter jejuni*, que origina colónias redondas e não hemolíticas e a placa tem que ser incubada em atmosfera de microaerofilia (pouca concentração de oxigénio e cerca de 5 a 10% de dióxido de carbono). [1]

O objetivo do caldo de enriquecimento de SELENITO é inibir coliformes e outras espécies da flora intestinal como por exemplo estreptococos. Possui propriedades para enriquecer a *Salmonella sp.* e *Shigella sp.* (principais patogénicos das infeções gastrointestinais). [1]

## HEMOCULTURA

As amostras de sangue são colhidas em frascos específicos e são incubados na estufa para que ocorra crescimento bacteriano. Caso o processo fosse automatizado o equipamento detectaria o dióxido de carbono resultante do metabolismo microbiano através de espectrofotometria de infravermelhos. [1]

Os resultados negativos são reportados ao 7º dia (resultado final) e as amostras positivas são logo reportadas e estão sujeitas a exame microscópico do esfregaço corado com a coloração de Gram, a exame cultural em meio de COS (meio de sangue de coelho) e posterior identificação e execução do teste de suscetibilidade antimicrobiano.

O microrganismo mais frequentemente isolado no estágio foi *Escherichia coli*.

## CASOS CLÍNICOS

### Caso Clínico nº1

Homem com 69 anos, apresenta-se ao laboratório a fim de realizar análises clínicas. Os resultados são os seguintes:

Tabela 6 – Resultado analíticos de Hematologia.

<b>ERITROGRAMA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Eritrócitos	4,80	$\times 10^{12}/L$	4,50-5,60
Hemoglobina	15,0 g/dL	g/dL	13,7-17,2
Hematócrito	45,9	%	40,0-50,0
Vol. Glob. Médio (VGM)	96	fL	83-98
Hgb. Glob. Média (HGM)	31	pg	28-32
Conc. Hgb. Glob. Média (CHGM)	33	g/dL	32-36
RDW (índice distrib. Eritrocit.)	11,8	%	11,6-14,2
<b>LEUCOGRAMA</b>			
Leucócitos	6,11	$\times 10^9/L$	3,70-9,50
- Neutrófilos	3,95	$\times 10^9/L$	1,50-6,50
- Eosinófilos	0,13	$\times 10^9/L$	0,02-0,67
- Basófilos	0,01	$\times 10^9/L$	<0,13
- Linfócitos	1,59	$\times 10^9/L$	1,10-3,50
- Monócitos	0,43	$\times 10^9/L$	0,21-0,92
<b>Plaquetas</b>	<b>92</b>	$\times 10^9/L$	170-430
<b>VPM (vol. Plaq. Médio)</b>	9,9	fL	7,9-11,3
<b>Reticulóticos (%)</b>	<b>1,7</b>	%	0,5-1,5
-Valor absoluto	83	$\times 10^9/L$	19-109
-Equivalente de Hemoglobina dos Reticulócitos (Ret-He)	31,2	pg	<28,2
-% Eritrócitos Hipo-Hemoglobinizados (Hypo-He)	0,1	%	<1,6
<b>Velocidade de Sedimentação (VS)</b> Amostra: Sangue Total	8	mm/h	<10
<b>Tempo de protrombina</b> Amostra: plasma	11.1	seg.	10,5-12,9
-INR	1.03		Variável c/ patologias
<b>Tempo Trombina Parcial ativada (aPTT)</b> Amostra: plasma	25.9	seg.	21,8-28,0
<b>Fibrinogénio</b>	380	mg/dL	150-400

### Estudo morfológico do sangue periférico

(Mét.: microscopia ótica | Amostra: Sangue Total)

- Série Vermelha: sem alterações significativas
- Série branca: Raros neutrófilos hipossegmentados.
- Plaquetas: Trombocitopenia confirmada em lâmina.

**Tabela 7 – Resultados analíticos de Bioquímica (Amostra: Soro).**

<b>BIOQUÍMICA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Amostra: Soro			
Ureia	41	mg/dL	17-49
Creatinina	1,02	mg/dL	0,70-1,30
Ácido úrico	6,1	mg/dL	3,7 – 7,7
Triglicéridos	104	mg/dL	<150
Colesterol total	200	mg/dL	<200
Colesterol da fração HDL	58		>40
-índice apterogénio- COL T/ HDL: (cálculo)	3,42	mg/dL	<5,00
Ferro (Siderémia)	111	µg/dL	41-141
Ferritina	75	µg/L	29,0-248,0
Saturação da transferrina	35	%	20-50
Vitamina B12 (cianocobalamina)	<b>1558</b>	ng/L	160-950
Acido fólico (Folatos)	16,6	ng/mL	3,1-20,5
Bilirrubina Total	0,68	mg/dL	0,20-1,20
Bilirrubina Conjugada	0,25	mg/dL	<=0,50
Aspartato-aminotransferase (AST/GOT)	19	UI/L	5-34
Alanina-aminotransferase (ALT/GPT)	22	UI/L	<45
Fosfatase alcalina	59	UI/L	40-150
Gamaglutamil transferase (GGT)	22	UI/L	<55
Desidrogenase láctica (LD/LDH)	178	UI/L	125 - 220
Creatina Quinase (CK/CPK)	68	UI/L	30 - 200
Proteínas totais	6,5	g/dL	6,4 – 8,2
Albumina	4,5	g/dL	3,2 – 4,6
Beta-2-microglobulina	1,78	mg/dL	0,94 – 2,64
<b>Ionograma (Na, K, Cl)</b>			
Sódio (Na)	143	mmol/L	136 - 145
Potássio (K)	4,6	mmol/L	3,5 – 5,1
Cloro (Cl)	109	mmol/L	98 - 107

## DISCUSSÃO

Como se pode observar pelas tabelas acima, o utente possui todos os parâmetros normais à exceção do número de plaquetas e da quantificação da Vitamina V12 ou cianocobalamina.

Para confirmar estes dados, procedeu-se à realização de um esfregaço de sangue periférico. Confirmou-se que o número de plaquetas era reduzido, que não havia nenhuma causa analítica por trás, e que o utente possuía uma trombocitopenia.

Outro parâmetro bastante alterado é a vitamina B12 que se encontra muito elevada. A vitamina B12 ou cianocobalamina é essencial para a formação e amadurecimento dos eritrócitos e para a síntese do ácido desoxirribonucleico (ADN), o material genético das células. A principal fonte da vitamina B12, na dieta, são as carnes vermelhas e ao contrário da maioria das vitaminas, esta é armazenada no fígado, em quantidades substanciais, até ser utilizada. [26]

O utente apresentava o VGM dentro dos parâmetros normais, mas muito próximos do limite de referência máximo. O utente poderia ter historial de macrocitose e poderia realizar suplementação para esta patologia, ela encontrava-se controlada, com os valores de VGM dentro dos parâmetros de referência. Visto que as anemias macrocíticas estão muito associadas ao défice de Vitamina B12 (anemias macrocíticas megaloblásticas), o utente provavelmente fará uma suplementação que contém Vitamina B12.

Desta forma, podemos supor que há um aumento exponencial deste parâmetro devido à suplementação, uma vez que o utente não possui défice de Vitamina B12.

## Caso Clínico nº2

Homem de 72 anos que apresentava febre alta e diarreia. Tinha notado alguma perda ponderal e dor abdominal.

**Tabela 8 - Resultados analíticos de Hematologia.**

<b>ERITROGRAMA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Eritrócitos	5,03	$\times 10^{12}/L$	4,50-5,60
Hemoglobina	<b>13,5</b>	g/dL	13,7-17,2
Hematócrito	42,8	%	40,0-50,0
Vol. Glob. Médio (VGM)	85	fL	83-98
Hgb. Glob. Média (HGM)	27	pg	28-32
Conc. Hgb. Glob. Média (CHGM)	32	g/dL	32-36
RDW (índice distrib. Eritrocit.)	12,9	%	11,6-14,2
<b>LEUCOGRAMA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Leucócitos	<b>12,10</b>	$\times 10^9/L$	3,70-9,50
-Neutrófilos	<b>10,29</b>	$\times 10^9/L$	1,50-9,50
-Eosinófilos	0,00	$\times 10^9/L$	0,02-0,67
-Basófilos	0,06	$\times 10^9/L$	<0,13
-Linfócitos	1,15	$\times 10^9/L$	1,10-3,50
-Monócitos	0,61	$\times 10^9/L$	0,21-0,92
<b>Plaquetas</b>	342	$\times 10^9/L$	<b>Val. Ref.</b> 170-430
<b>VPM (vol. Plaq. Médio)</b>	9,3	fL	7,9-11,3
<b>Velocidade de Sedimentação (VS)</b> Amostra: Sangue Total	<b>76</b>	mm/h	<10
<b>Tempo de protrombina</b> Amostra: plasma	<b>12,9</b>	seg.	10,5 – 12,9
-INR	1,19		Variável c/ patologias
<b>Tempo Trombina Parcial ativada (aPTT)</b> Amostra: plasma	<b>28,0</b>	seg.	21,8 – 28,0

**Tabela 9** - Resultados analíticos de Bioquímica e Imunologia (Amostra: Soro).

<b>BIOQUÍMICA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Amostra: Soro			
Ureia	46	mg/dL	17-49
Creatinina -Taxa de Filtração Glomerular (TFGe)	1,06 -69	mg/dL mL/min/1,73m <sup>2</sup>	0,70-1,30
Bilirrubina Total	0,61	mg/dL	0,20-1,20
Bilirrubina Conjugada	0,26	mg/dL	<=0,50
Aspartato- aminotransferase (AST/GOT)	<b>63</b>	UI/L	5-34
Alanina-aminotransferase (ALT/GPT)	<b>60</b>	UI/L	<45
Fosfatase alcalina	108	UI/L	40-150
Gamaglutamil transferase (GGT)	<b>152</b>	UI/L	<55
Desidrogenase láctica (LD/LDH)	<b>350</b>	UI/L	125-220
Creatina Quinase (CK/CPK)	<b>256</b>	UI/L	30-200
Cálcio (Ca)	9,7	mg/dL	8,8-10,0
Proteína C reativa (PCR)	<b>24,40</b>	mg/dL	<0,80
Procalcitonina (PCT)	<b>0,41*</b>	mg/dL	<0,10
Proteínas totais	8,2	g/dL	6,4-8,3
Albumina	4,2	g/dL	3,2-4,6
<b>Ionograma (Na, K, Cl)</b>			
Sódio (Na)	<b>135</b>	mmol/L	136-145
Potássio (K)	4,1	mmol/L	3,5-5,1
Cloro (Cl)	<b>96</b>	mmol/L	98-107
<b>IMUNOLOGIA</b>			
Interleucina 6 (IL6)	<b>84,7</b>	pg/mL	<4,4

**\*Tabela 10** - Valores de referência definidos pelo laboratório para a PCT.

<b>&lt;0,10</b>	Ausência de infecção bacteriana
<b>0,10 – 0,25</b>	Uso de antibióticos desencorajado
<b>0,25 – 0,50</b>	Uso de antibióticos recomendado
<b>&gt;0,50</b>	Uso de antibióticos fortemente recomendado
<b>&gt;2,00</b>	Sepsis provável
<b>&gt;10,00</b>	Sepsis grave com choque séptico provável

## MICROBIOLOGIA

Realizaram-se três colheitas de Hemocultura e nas três o resultado foi o mesmo. No exame direto observou-se bactérias gram negativas e o exame cultural feito com galerias de identificação detetou bactérias do grupo *Salmonella*: *Salmonella enteritidis*. Realizaram-se galerias

de antibiograma para detetar a sensibilidade de *Salmonella* grupo c2. Detetou-se sensibilidade para Amoxicilina e ácido Clavulânico, Ampicilina, Cefotaxima e Gentamicina. O equipamento que realiza o antibiograma não detetou resistências relativamente a esta bactéria.

No exame microbiológico da urina (urocultura e urina tipo II) não foram detetadas qualquer alteração.

## DISCUSSÃO

O utente apresenta valores elevados de leucócitos sendo que 85% dos mesmos são neutrófilos apresentando uma neutrofilia.

A Velocidade de Sedimentação encontra-se com valores elevados. A velocidade de sedimentação é o tempo, medido em milímetros por hora, que as células sanguíneas, principalmente glóbulos vermelhos, levam a depositar através da gravidade. Este parâmetro é utilizado como um indicador inespecífico de inflamação e/ou de um processo infeccioso.

A PCR, proteína de fase aguda, está elevada em processos inflamatórios. A par da leucocitose, podemos supor que está a decorrer um processo infeccioso ativo.

A nível hepático a AST e a ALT (enzimas encontradas no interior das células do fígado) encontram-se elevadas demonstrando uma lesão a nível hepatocelular. A GGT indica uma lesão a nível colestática (pós-hepática). Estes valores isolados não têm grande significado clínico e é necessário realizar mais exames uma vez que as bilirrubinas, tanto conjugada como total se encontram normais.

Os marcadores de lesão celular e muscular, LDH e CK, encontram-se alterados, sendo que é essencial realizar mais medições analíticas uma vez que estes parâmetros não são específicos.

A PCT é detetada na circulação em situações de *stress* (inflamação) e atua como marcador de infeção bacteriana. Neste caso a infeção ainda é tratável com o uso de antibiótico e ainda não evoluiu para septicémia. (Tabela 10)

A interleucina-6 secretada por células T e macrófagos estimula a reação imune em casos de infeção. Atuam também na resposta inflamatória aguda e na libertação de proteínas de fase aguda do fígado. Desta forma o aumento da mesma comprova a infeção, corroborada com os restantes parâmetros.

Através da hemocultura podemos então comprovar que a infeção é causada por uma bactéria, neste caso por *Salmonella Enteritidis*. Podíamos também realizar a prova de Widal que quantifica



os anticorpos anti-O e anti-H no soro por aglutinação com suspensões antigénicas de *Salmonella*. No entanto este teste não é tão específico como a hemocultura. [27]

No que diz respeito à antibioterapia esta bactéria encontra-se sensível a antibióticos da classe da penicilina (Amoxicilina + Ácido Clavulânico e Ampicilina), da classe das Cefalosporinas (Cefotaxima) e da classe dos aminoglicosídeos (Gentamicina). As penicilinas são antibióticos beta-lactâmicos, anti-parietais que atuam na membrana externa ligando-se irreversivelmente às PBP (Penicilin Binding Protein) da parede inibindo a formação do peptidoglicano e consequentemente da parede celular. [28]

A *Salmonella enteritidis* é uma espécie bacteriana que não produz beta-lactamases e, portanto, não apresenta mecanismos de resistência intrínsecos a este antibiótico. As cefalosporinas apresentam o mesmo mecanismo das penicilinas. [29]

Relativamente aos antibióticos inibidores da síntese proteica (aminoglicosídeos), estes atravessam a parede celular e consequentemente a membrana através de transportadores da cadeia respiratória ligando-se irreversivelmente às proteínas 30s do ribossoma, fazendo uma leitura errada do mRNA e formando proteínas *non sense*. A atividade destes antibióticos está relacionada com a necessidade da cadeia respiratória para atravessar a membrana, presente nesta bactéria gram negativa aeróbia. [30]

Desta forma, podemos concluir que a causa provável da infeção neste utente é a *Salmonella enteritidis* causando salmonelose que pela sua virulência, explica os parâmetros analíticos alterados. Após tratamento, novas análises deveriam ser realizadas para avaliar novamente a função hepática e assim perceber se o aumento das transaminases se relacionava com esta patologia.

### Caso Clínico nº3

Uma utente de 34 anos procurou o Hospital da Luz na sequência de confirmação de gravidez pela primeira vez. Dirigiu-se a uma consulta de obstetrícia onde o médico lhe receitou as seguintes análises.

**Tabela 11** - Resultados analíticos de Hematologia.

<b>ERITROGRAMA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Eritrócitos	4,08	$\times 10^{12}/L$	3,90-5,10
Hemoglobina	12,4	g/dL	12,0-15,2
Hematócrito	38,2	%	37,0-46,0
Vol. Glob. Médio (VGM)	94	fL	85-98
Hgb. Glob. Média (HGM)	30	pg	28-32
Conc. Hgb. Glob. Média (CHGM)	32	g/dL	32-36
RDW (índice distrib. Eritrocit.)	12,9	%	12,0-14,7
<b>LEUCOGRAMA</b>			
Leucócitos	8,40	$\times 10^9/L$	4,00-10,00
-Neutrófilos	5,11	$\times 10^9/L$	1,80-7,00
-Eosinófilos	0,07	$\times 10^9/L$	<0,50
-Basófilos	0,04	$\times 10^9/L$	<0,10
-Linfócitos	2,59	$\times 10^9/L$	1,00-4,00
-Monócitos	0,60	$\times 10^9/L$	0,20-1,00
<b>Plaquetas</b>	203	$\times 10^9/L$	150-400
<b>VPM (vol. Pla. Médio)</b>	10,4	fL	7,9-11,3
<b>Tempo de protrombina</b> Amostra: plasma	10,9	seg.	10,5-12,9
-INR	0,94		Variável c/ patologias
<b>Tempo Trombina Parcial ativada (aPTT)</b> Amostra: plasma	25,9	seg.	21,8-28,0

**Tabela 12** - Resultado da Tipagem AB0 e Rh (D) e do Coombs Indireto.

<b>Tipagem AB0 e Rh (D)</b> Amostra: sangue total	0 Negativo
<b>Coombs indirecto (qualitativo)</b> Amostra: soro	Negativo

**Tabela 13 - Resultados analíticos de Bioquímica, Endocrinologia e Imunoserologia (Amostra: Soro).**

<b>BIOQUÍMICA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Amostra: Soro			
Glucose	87	mg/dL	70-105
Creatinina	0,65	mg/dL	0,57-1,11
Ácido úrico	6,1	mg/dL	2,5-6,2
Ferritina	7,8	µg/L	10,0-150
Aspartato-aminotransferase (AST/GOT)	14	UI/L	5-34
Alanina-aminotransferase (ALT/GPT)	13	UI/L	0-55
Fosfatase alcalina	49	UI/L	40-150
Gamaglutamil transferase (GGT)	10	UI/L	<38
Desidrogenase láctica (LD/LDH)	143	UI/L	125-220
Proteínas totais	7,2	g/dL	6,4-8,3
<b>Endocrinologia</b>			
Hormona tireostimulante (TSH)	1,70	mUI/L	0,34-4,25 valores de referência na Gravidez: 1º trimestre: 0,1-2,5 2º trimestre: 0,2-3,0 3º trimestre: 0,3-3,0
Tiroxina livre (FT4)	14,3	pmol/L	9,0-19,1
HIV (ag p24 + Ac HIV1/2)	Negativo		
Hepatite B, Ag HBS	Negativo (índice: 0,30)	Negativo: <1,00 Positivo: >=1,00	
Hepatite C, Ac Anti-VHC	Negativo		
Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgG	Negativo (0,1 UI/mL)	Negativo: <1,6 Título baixo: 1,6-10,0 Positivo: >=10,0	
Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM	Negativo (índice: 0,06) Ausência de imunidade. Vigilância serológica na gravidez	Negativo: <0,50 Duvidoso: 0,50-0,59 Positivo: >=0,60	
Ac Anti-Vírus da Rubéola IgG	<b>Positivo (14,1 UI/mL)</b>	Negativo: <5 Duvidoso: 5-15 Positivo: >=15	
Ac Anti-Vírus da Rubéola IgM	Negativo (índice: 0,13) Compatível com Imunidade. A confirmar após 3 semanas	Negativo: <1,20 Duvidoso: 1,2-1,59 Positivo: >=1,60	
Ac Anti-Citomegalovírus (CMV) IgG	<b>Positivo (248,10 UA/mL)</b>	Negativo: <10 Título baixo: 10-15 Positivo: >=15	
Ac Ati-Citomegalovírus (CMV) IgM	Negativo (índice: 0,10)	Negativo: <0,85 Duvidoso: 0,85-1,00 Positivo: >=1,00	
VRDL	Negativo		

**Tabela 14** - Resultados analíticos da Urina, Doseamentos Urinários e Microbiologia (Amostra: Urina).

<b>Urina II (exame sumário da urina)</b> Amostra: Urina	
<b>Características gerais</b>	
Cor	Amarelado
Aspeto	Límpido
Densidade	1,015
pH	6,0
<b>Elementos Anormais</b>	
Proteínas	Não revelou
Glucose	Não revelou
Corpos cetónicos	Não revelou
Urobilinogénio	Não revelou
Bilirrubina	Não revelou
Nitritos	Não revelou
Hemoglobina	Não revelou
<b>Ex Microscópico do sedimento</b>	
Células epiteliais	Raras
Leucócitos	l/campo
<b>Urina, Exame Microbiológico (urocultura)</b> Amostra: Urina	
<b>Exame citológico</b>	
Células epiteliais	Raras
Leucócitos	l/campo
<b>Ex. Cultural</b>	
Resultado:	Negativo

Após 6 meses do último boletim de análises a utente voltou ao hospital para realizar novo controlo que se encontra abaixo:

**Tabela 15** - Resultado do Coombs Indireto 6 meses depois (Amostra: Soro).

<b>Coombs indirecto (qualitativo)</b> Amostra: soro	<b>Positivo</b>
--	-----------------

**Tabela 16 - Resultados analíticos de Hematologia.**

<b>ERITROGRAMA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Eritrócitos	4,43	$\times 10^{12}/L$	3,90-5,10
Hemoglobina	13,4	g/dL	12,0-15,2
Hematócrito	41,9	%	37,0-46,0
Vol. Glob. Médio (VGM)	95	fL	85-98
Hgb. Glob. Média (HGM)	30	pg	28-32
Conc. Hgb. Glob. Média (CHGM)	32	g/dL	32-36
RDW (índice distrib. Eritrocit.)	13,1	%	12,0-14,7
<b>LEUCOGRAMA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Leucócitos	10,99	$\times 10^9/L$	3,90-11,00
-Neutrófilos	7,81	$\times 10^9/L$	1,80-7,40
-Eosinófilos	0,09	$\times 10^9/L$	<0,50
-Basófilos	0,06	$\times 10^9/L$	<0,13
-Linfócitos	2,32	$\times 10^9/L$	1,10-3,50
-Monócitos	0,71	$\times 10^9/L$	0,21-0,92
<b>Plaquetas</b>	241	$\times 10^9/L$	170-430
<b>VPM (vol. Plaq. Médio)</b>	10,2	fL	7,9-11,3

**Tabela 17 - Imunoserologia (Amostra: Soro).**

<b>IMUNOSEROLOGIA (INFECIOLOGIA)</b>	
<b>Hepatite C, Ac Anti-VHC</b> Amostra: soro	Negativo

**Tabela 18 - Microbiologia (Pesquisa de Streptococcus Grupo B no Exs Vaginal/Anal).**

<b>MICROBIOLOGIA</b>	
<b>Exs Vaginal/Anal, Pesquisa Streptococcus Grupo B*</b>	<b>Positivo</b>

\*Nota: pesquisa de interesse clínico no último trimestre de gestação (35<sup>a</sup> - 37<sup>a</sup> semana gestacional), de acordo com a N.º 037/2011 da DGS

## DISCUSSÃO

No primeiro boletim de análises o médico confirmou a tipagem AB0 e Rh (D) da utente, O Rh negativo e pediu o teste de Coombs indireto sendo o resultado negativo.

O teste de Coombs indireto consiste na pesquisa de anticorpos no soro/plasma do utente, no caso da gravidez e do pai ser Rh positivo, para perceber se a grávida está a produzir anticorpos que destruam os glóbulos vermelhos Rh positivos do feto, ou seja se produz anticorpos anti-Rh.

Na primeira gravidez, por volta da 28ª semana a grávida é imunizada artificialmente com uma vacina de Imunoglobulinas (IgG) anti-D para que possa ser protegida contra os glóbulos vermelhos Rh positivos do feto e se formem complexos de glóbulos vermelhos revestidos com anti-D que são eliminados pelo sistema imune. Assim, ocorre a prevenção do desenvolvimento de anticorpos que são a resposta ao sangue Rh positivo do feto. No segundo boletim de análises a utente apresenta o Teste de Coombs Indireto positivo após a imunização.

A utente também se encontra imune contra o vírus da Rubéola e Citomegalovírus. A positividade dos anticorpos anti-vírus da Rubéola IgG e anticorpos Anti-Citomegalovírus, significa que existe uma resposta imunitária, ou seja, uma imunização relativamente a estes vírus. As IgM são produzidas numa fase precoce da resposta imunitária enquanto, as classes IgG são produzidas numa fase mais tardia e duradoura da resposta imunitária, por isso quando a última classe se encontra reativa e a classe IgM não reativa é provável que a utente tenha sido imunizada pelo próprio vírus ou por uma vacina, antes da gravidez. No caso do vírus da Rubéola a imunidade é provavelmente justificada uma vez que a vacina consta no Plano Nacional de Vacinação.

De acordo com o SNS, o rastreio universal de *Streptococcus* do grupo B deve se realizar em todas as grávidas entre a 35ª e a 37ª semana de gravidez, permitindo identificar o risco de o recém-nascido contrair sépsis neonatal. Habitualmente, a bactéria habita o trato gastrointestinal e geniturinário e a infeção da mulher ocorre quando, a partir do reto, a bactéria coloniza a vagina e migra pelo colo do útero desenvolvendo infeção. Em mulheres grávidas a bactéria pode alterar o muco cervical e provocar a rutura prematura das membranas, iniciando o parto precoce. A transmissão vertical mãe-filho ocorre fundamentalmente após o início de trabalho de parto ou quando as membranas sofrem a rutura sendo o recém-nascido infetado in útero ou quando atravessa o canal de parto. [31]

O espetro de infeção do bebé vai desde a bacteriemia assintomática ao choque séptico.

Esta utente, tendo testado positivo para *Streptococcus* do grupo B terá de estar vigilante e iniciar a profilaxia antibiótica de penicilina intraparto, conforme a recomendação do médico.

## Caso Clínico nº4

Criança (sexo masculino) de 11 anos com dores de barriga. A mãe notou que apareciam algumas “bolas” brancas nas fezes da criança e encaminhou-a para o médico que prescreveu as seguintes análises:

**Tabela 19** - Resultados analíticos de Hematologia.

<b>ERITROGRAMA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Eritrócitos	4,62	$\times 10^{12}/L$	4,00-5,20
Hemoglobina	12,6 g/dL	g/dL	11,5-15,5
Hematócrito	38,7	%	35,0-45,0
Vol. Glob. Médio (VGM)	84	fL	77-95
Hgb. Glob. Média (HGM)	27	pg	25-33
Conc. Hgb. Glob. Média (CHGM)	33	g/dL	31-37
RDW (índice distrib. Eritrocit.)	13,1	%	11,6-14,1
<b>LEUCOGRAMA</b>			
Leucócitos	5,92	$\times 10^9/L$	5,00-13,00
-Neutrófilos	2,48	$\times 10^9/L$	2,00-8,00
-Eosinófilos	0,46	$\times 10^9/L$	0,10-1,00
-Basófilos	0,02	$\times 10^9/L$	0,02-0,10
-Linfócitos	2,58	$\times 10^9/L$	1,00-5,00
-Monócitos	0,38	$\times 10^9/L$	0,20-1,00
<b>Plaquetas</b>	280	$\times 10^9/L$	170-450
<b>VPM (vol. Plaq. Médio)</b>	9,9	fL	7,9-11,3
<b>Velocidade de sedimentação (VS)</b> Amostra: sangue total	4	mm/h	<15

**Tabela 20** - Resultados analíticos de Microbiologia.

<b>MICROBIOLOGIA</b>		<b>Val. Ref.</b>
<b>Campylobacter, Pesquisa nas fezes</b> Amostra: Fezes	Negativo	
<b>Teste respiratório para estudo de <i>Helicobacter pylori</i></b> Amostra: Ar Expirado -Valor aos 0 min: -Valor aos 30 min: -Diferença T30-T0 <b>Conclusão:</b>	-23,10 % $\delta$ PDB -5,59 % $\delta$ PDB 17,51 % $\delta$ PDB <b>POSITIVO</b>	Positivo se diferença > 5,0% $\delta$ PDB
<b>Fezes, Exame microbiológico (coprocultura)</b> Ex. Cultural	Negativo para <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> e <i>Campylobacter</i>	
<b>Fezes, exame parasitológico</b>	Observaram-se muitos ovos de <i>Enterobius vermicularis</i> (Oxyuros)	

**Tabela 21** - Resultados analíticos de Bioquímica e Imunologia (Amostra: Soro).

<b>BIOQUÍMICA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Amostra: Soro			
Glucose	87	Mg/dL	60-100
Ureia	36	mg/dL	16-45
Creatinina	0,60	mg/dL	0,57-0,80
Triglicéridos	57	mg/dL	<150
Colesterol total	<b>170</b>	mg/dL	<170
Colesterol da fração HDL	80	mg/dL	>40
-índice apterogénio-COL T/ HDL: (cálculo)	2,12		<5,00
Colesterol da fração LDL	78	mg/dL	<116
Ferritina	43	µg/L	29,0 – 248,0
Aspartato-aminotransferase (AST/GOT)	21	UI/L	15-40
Alanina-aminotransferase (ALT/GPT)	11	UI/L	<45
Fosfatase alcalina	260	UI/L	<500
Gamaglutamil transferase (GGT)	12	UI/L	<55
Desidrogenase láctica (LD/LDH)	198	UI/L	125 - 220
Amilase	60	UI/L	25-101
Lipase	68	UI/L	8 - 78
Vitamina D (25-Hidroxicálcifeno)	24,4	ng/dL	20-100
Proteína C reativa (PCR)	0,02	mg/dL	<0,80
Proteínas totais	6,8	g/dL	6,0-8,0
Albumina	4,4	g/dL	3,8-5,4
<b>Ionograma (Na, K, Cl)</b>			
Sódio (Na)	139	mmol/L	138 - 145
Potássio (K)	4,3	mmol/L	3,4 – 4,7
Cloro (Cl)	107	mmol/L	98 - 107
<b>IMUNOLOGIA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Amostra: Soro			
<b>Imunoglobulina A (IgA)</b>	97	mg/dL	21-291
<b>Ac Anti-Transglutaminase tecidual IgG</b>	Negativo (<0,6 UA/mL)	UA/mL	Negativo: <7,0 Duvidoso: 7,0-10,0 Positivo: >=10,0
<b>Ac Anti-Transglutaminase tecidual (tTG) IgA</b>	Negativo (0,6 UA/mL)	UA/mL	Negativo: <7,0 Duvidoso: 7,0-10,0 Positivo: >=10,0
<b>Calprotectina nas fezes</b>	11	µg/g de fezes	<50



## DISCUSSÃO

Neste caso, após a criança mostrar algumas evidências de parasitose, esta testou positivo para *Enterobius Vermicularis*.

Ao realizar o exame a fresco nas fezes conseguiu-se observar a presença abundante de ovos de *Enterobius vermicularis*.

*Enterobius vermicularis* pertence à classe dos Nematodas (vermes redondos) e as fêmeas férteis depositam os ovos no intestino do hospedeiro. Os ovos são eliminados nas fezes e para o meio ambiente, podendo sofrer maturação e acabam por se tornar infestantes para o novo hospedeiro. A doença causada por *Enterobius vermicularis*, a Oxiuríase é considerada uma parasitose comum nas crianças e a causa de epidemia familiar sendo a principal contaminação a mão-boca. Os ovos são ovais, com um dos lados achatados e são incolores e transparentes. [32] (Figura 13)



**Figura 13** - Ovos de *Enterobius Vermicularis* no exame fresco das fezes.

A criança realizou também o teste respiratório para o estudo de *Helicobacter pylori*.

A infecção por *H. pylori*, na maioria dos casos, adquire-se na infância, por via oral, através da ingestão de alimentos ou de água contaminada e por contacto entre indivíduos. O *H. pylori* é uma bactéria que habita e infeta o estômago. [33]

O teste respiratório para o estudo de *H. pylori* é iniciado com a ingestão de Carbono-13 (isótopo natural, estável e não radioativo) ou Carbono-14 (baixa radioatividade) marcado com ureia na forma de cápsula. [34]

Todos estes achados analíticos são consistentes com os sintomas e características da criança. As “bolas” brancas que a mãe encontrou nas fezes da criança eram seres adultos de *Enterobius Vermicularis*.

## Caso Clínico nº5

Utente (sexo feminino) de 75 anos de idade e sintomas característicos de infeção urinária realizou as seguintes análises.

**Tabela 22** - Resultados analíticos de Bioquímica (Amostra: Soro).

<b>BIOQUÍMICA</b> Amostra: Soro			<b>Val. Ref.</b>
Aspartato-aminotransferase (AST/GOT)	25	UI/L	5-34
Alanina-aminotransferase (ALT/GPT)	26	UI/L	<34
Amilase	<b>107</b>	UI/L	28-100
Lipase	26	UI/L	8 - 78

**Tabela 23** - Resultados analíticos de Microbiologia (Amostra: urina).

<b>MICROBIOLOGIA</b>	
<b>Urina, Exame Microbiológico (Urocultura)</b> Amostra: Urina	
<b>Exame citológico</b> Células epiteliais Leucócitos	Raras 25-50/campo
<b>Ex. Direto</b> Gram:	Bacilos Gram negativos
<b>Ex. Cultural</b> Resultado:  Contagem de colónias:  Antibiograma para:	<b><i>Escherichia coli</i></b>  <b>&gt;100 000 ufc/mL</b>  <b><i>Escherichia coli</i></b> <u>Sensível</u> Cefuroxima Axetil Fosfomicina Nitrofurantoína  <u>Resistente</u> Amoxicilina Amoxicilina + ácido clavulâmico Ciprofloxacina Trimetoprim + Sulfametoxazol

## DISCUSSÃO

Após realizar o exame cultural da amostra de urina em placa de CPSE, realizou-se o Gram e pode-se observar bacilos gram negativos consistente com a identificação feita pelo VITEK. A bactéria presente no trato urinário foi identificada como *Escherichia coli*.

Em conjunto, realizou-se o antibiograma de uma colônia pura e pudemos observar algumas resistências.

Segundo a Direção Geral de Saúde e a Norma n.º004/2013 os antibióticos de eleição contra o grupo das Enterobactérias são as Penicilinas (Amoxicilina), antibióticos anti parietais e B-lactâmicos. Em segunda linha aparecem as Cefalosporinas de 1ª, 2ª, 3ª e 4ª geração, por exemplo, Cefuroxima, a Cefotaxima ou a Cefepima. Em 2º plano encontramos também os antibióticos de Ácido fosfónico como a Fosfomicina. Os inibidores dos folatos (Co-trimoxazol) aparecem como 3ª opção e as Fluoroquinolonas, por exemplo a Ciprofloxacina, como 4ª opção.

Esta bactéria apresenta resistência a antibióticos da classe das penicilinas (Amoxicilina e Amoxicilina + Ácido Clavulânico). Estes antibióticos são antibióticos beta-lactâmicos, anti-parietais que atuam na membrana externa ligando-se irreversivelmente às PBP (Penicilin Binding Protein) da parede inibindo a formação do peptidoglicano e conseqüentemente da parede celular. [28]

Também é resistente a Ciprofloxacina (Quinolonas) e Trimetropim + Sulfametoxazol. As Quinolonas são antibióticos que atuam nos ácidos nucleicos, impedindo a ação da DNA girase (responsável por abrir as cadeias de DNA e mantê-las desdobradas), fazendo com que haja enrolamento da cadeia e conseqüente impedimento de replicação e transcrição, levando à morte celular. O trimetropim é um antibiótico anti-metabolitos e faz com que haja uma inibição de di-hidrofolato redutase (folato) e por sua vez uma inibição da síntese da coenzima necessária à biossíntese de purinas e pirimidinas. [35]

A Cefuroxima Axetil é exemplo de um antibiótico beta-lactâmico com sensibilidade para esta bactéria, sendo uma cefalosporina de 2ª geração. O mecanismo de ação é semelhante ao das Penicilinas sendo um bom substituto uma vez que não possui resistências. [35]

A Fosfomicina é outra linha de tratamento uma vez que a bactéria possui sensibilidade e é um beta-lactâmico que atua na fase citoplasmática inibindo a transferase (liga-se a ela no lufar do fosfoenolpiruvato) impedindo a conversão de UDP-NAG a UDP-NAM. Ocorre a inibição da síntese do peptidoglicano e por conseqüência, da parede celular levando a uma diminuição de aderência das bactérias às células do revestimento urinário. A Fosfomicina é importante no tratamento de infeções urinárias por ser ativa contra enterobactérias. [35]

O exame citológico da urina apresenta alguns leucócitos por campo, consistente com a inflamação causada pela bactéria patogénica, *Escherichia coli*.

## Caso Clínico nº6

Utente do sexo masculino, 59 anos de idade, que realizou as seguintes análises.

**Tabela 24** - Resultados analíticos de Hematologia.

<b>ERITROGRAMA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Eritrócitos	4,52	$\times 10^{12}/L$	4,50-5,60
Hemoglobina	14,0	g/dL	13,7-17,2
Hematócrito	46,2	%	40,0-50,0
Vol. Glob. Médio (VGM)	<b>102</b>	fL	83-98
Hgb. Glob. Média (HGM)	31	pg	28-32
Conc. Hgb. Glob. Média (CHGM)	30	g/dL	32-36
RDW (índice distrib. Eritrocit.)	<b>14,2</b>	%	11,6-14,2
<b>LEUCOGRAMA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Leucócitos	<b>112,06</b>	$\times 10^9/L$	3,70-9,50
-Neutrófilos	7,40	$\times 10^9/L$	1,50-6,50
-Eosinófilos	0,34	$\times 10^9/L$	0,02-0,67
-Basófilos	0,11	$\times 10^9/L$	<0,13
-Linfócitos	<b>99,85</b>	$\times 10^9/L$	1,10-3,50
-Monócitos	<b>4,37</b>	$\times 10^9/L$	0,21-0,92
<b>Plaquetas</b>	222	$\times 10^9/L$	170-430
<b>VPM (vol. Plaq. Médio)</b>	9,6	fL	7,9-11,3
<b>Observações</b>	<b>Macrocitose</b>		
<b>Velocidade de Sedimentação (VS)</b> Amostra: Sangue Total	6	mm/h	<10
<b>Tempo de protrombina</b> Amostra: plasma	10,9	seg.	10,5 – 12,9
-INR	0,98		Variável c/ patologias
<b>Tempo Trombina Parcial ativada (aPTT)</b> Amostra: plasma	22,0	seg.	21,8 – 28,0
<b>Fibrinogénio</b> Amostra: plasma	238	mg/dL	150 - 400

### Estudo morfológico do sangue periférico

(Mét.: microscopia ótica | Amostra: Sangue Total)

- Série Vermelha: anisocitose com macrocitose
- Série branca: Observou-se um grande pleomorfismo linfocitário, quer em tamanho, quer na relação núcleo/citoplasma, quer na densidade nuclear, com alguns núcleos a esboçar nucléolos. Sombras nucleares de Gumprecht.
- Plaquetas: sem alterações significativas.

**Tabela 25 - Resultados analíticos de Bioquímica (Amostra: Soro).**

<b>BIOQUÍMICA</b>			<b>Val. Ref.</b>
Amostra: Soro			
Ureia	42	mg/dL	13-43
Creatinina	1,08		
-Taxa de filtração glomerular, estimada (TFGe)	70	mg/dL	0,60-1,30
Ácido úrico	5,6	mg/dL	3,7-7,7
Triglicéridos	129	mg/dL	<150
Colesterol total	155	mg/dL	<200
Colesterol da fração HDL	34		>40
-índice aterogénio- COL T/ HDL: (cálculo)	4,63	mg/dL	<5,00
Bilirrubina Total	0,64	mg/dL	0,20-1,20
Bilirrubina Conjugada	0,22	mg/dL	<=0,50
Aspartato-aminotransferase (AST/GOT)	19	UI/L	5-34
Alanina-aminotransferase (ALT/GPT)	17	UI/L	<45
Fosfatase alcalina	111	UI/L	40-150
Gamaglutamil transferase (GGT)	19	UI/L	<55
Desidrogenase láctica (LD/LDH)	179	UI/L	125-220
Creatina Quinase (CK/CPK)	67	UI/L	30-200
Cálcio (Ca)	9,4	mg/dL	8,4-10,2
Fósforo Inorgânico (P)	3,1	mg/dL	2,3-4,7
Magnésio (Mg)	2,2	mg/dL	1,6-2,6
Proteína C reactiva (PCR)	0,06	mg/dL	<0,80
Proteínas totais	7,2	g/dL	6,4-8,3
Albumina	4,9	g/dL	3,5-5,0
Beta-2-microglobulina	2,68	mg/dL	0,94-2,64
<b>Ionograma (Na, K, Cl)</b>			
-Sódio (Na)	144	mmol/L	136-145
-Potássio (K)	4,7	mmol/L	3,5-5,1
-Cloro (Cl)	108	mmol/L	98-107

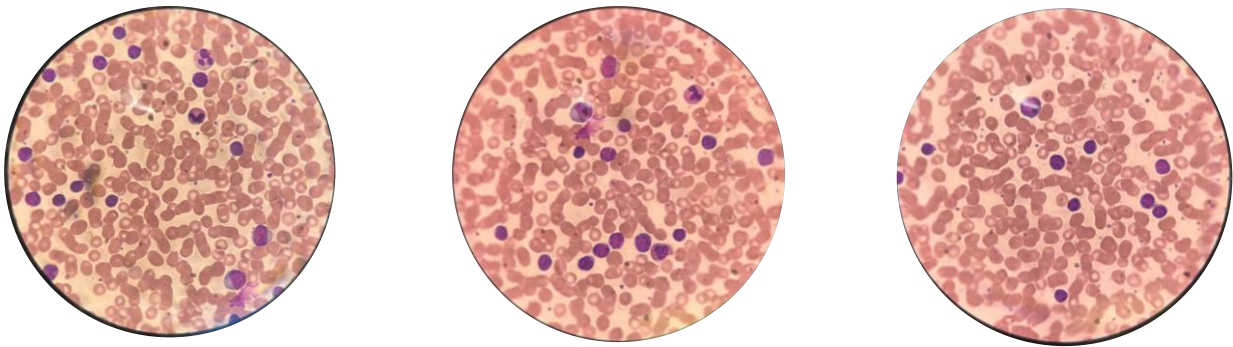
## DISCUSSÃO

O utente apresentava um ligeiro aumento do volume globular médio (VGM) logo apresentava uma ligeira macrocitose. O VGM é o volume ocupado pelos eritrócitos dividido pelo número total destes.

Ao observar o esfregaço de sangue periférico (figura 14) confirmou-se uma macrocitose com anisocitose (diferentes tamanhos) e poiquilocitose (diferentes formas) das hemácias e um pleomorfismo linfocitário. Alguns linfócitos apresentavam núcleos pouco uniformes e com

alguns nucléolos, típico de células de linhagem mais imaturas e por estarem presentes no sangue periférico é indicativo de que há uma superprodução dos mesmos não ocorrendo a normal maturação no sangue periférico. Para além destas características morfológicas, a evidência mais proeminente é a presença de sombras nucleares de *Gumprecht*.

A hipótese de diagnóstico mais provável seria uma Leucemia Linfoblástica Crónica (LLC), e apesar de haver um aumento de leucócitos típicos de uma fase mais aguda da doença, na observação do esfregaço não se observam blastos (o que seria característico de uma Leucemia Linfoblástica Aguda) mas observam-se manchas de *Gumprecht* evidentes numa LLC. Poderia proceder-se à realização de citometria de fluxo para fazer a distinção com um linfoma e para confirmar o diagnóstico.



*Figura 14 - Esfregaço de Sangue Periférico de Leucemia Linfoblástica Crónica.*

## REFERÊNCIAS

1. Moreira, S.: Mestrado em Análises Clínicas: Relatório de estágio: Microbiologia - Química Clínica. (2012)
2. Clinical haematology | Sysmex Europe haematology analyser, <https://www.sysmex-europe.com/products/diagnostics/haematology.html>
3. Bates, I.: Reference Ranges and Normal Values. In: Dacie and Lewis Practical Haematology: Twelfth Edition. pp. 8–17 (2017)
4. Hoffbrand, Victor. Moss, P.: Hoffbrands Essential Haematology, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15003161> <http://cid.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/cid/cir991> <http://www.scielo.cl/pdf/udecada/v15n26/art06.pdf> <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84861150233&partnerID=tZOtx3y1>, (2012)
5. Naoum, P.C.: Interpretação laboratorial do hemograma. Hematol. Clin. 3, 1–11 (1925)
6. Celkan, T.T.: What does a hemogram say to us?, (2020)
7. Morfologia das Hemácias. 1–17
8. 2. Classificação Laboratorial Das Anemias. 3, 7–10 (2011)
9. Globulos Blancos O Leucocitos - GLOBULOS BLANCOS O LEUCOCITOS Los glóbulos blancos, también - Studocu, <https://www.studocu.com/pe/document/universidad-nacional-san-luis-gonzaga/metodologia-de-la-investigacion/globulos-blancos-o-leucocitos/6038004>
10. Dorgalaleh, A., Favalaro, E.J., Bahraini, M., Rad, F.: Standardization of Prothrombin Time/International Normalized Ratio (PT/INR), (2021)
11. Martin, P., Leonard, J.P.: Visão geral dos linfomas - Hematologia e oncologia - Manuais MSD edição para profissionais, <https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/hematologia-e-oncologia/disturbios-de-coagulacao/visao-geral-dos-disturbios-de-coagulacao>
12. DiaMed-ID: Card-ID “LISS/Coombs” – Teste de antiglobulina direto e indireto. B004014.
13. Sousa, M., Mota, S.: Manual Prático de Imunohematologia. (2020)

14. Goyena, R., Fallis, A.: Hematologia Laboratorial: Teoria e Procedimentos. (2016)
15. Aos, I., Espectrométricos, M., Gerais, P., Onda, D.A., Luz, P.D.A., Onda, P.D.A., Entre, R., Comprimento, F.E., Entre, R., Frequência, E.E., Ou, L.E.I.D.E.B., Beer, L.E.I.D.E., Da, D., Beer, L.E.I.D.E.: Fundamentos da espectrofotometria. 11–15 (2000)
16. Martins, M.: R ELATÓRIO DE ESTÁGIO. 1–74 (2021)
17. De Sangue.
18. Connie R. Mahon, D.C.L.: Textbook of diagnostic microbiology. (2019)
19. iChemVELOCITY Automated Urinalysis Instrument | Beckman Coulter, <https://www.beckmancoulter.com/en/products/urinalysis/ichemvelocity>
20. Teresa Casas Pina, M.: Sedimento de orina como biomarcador de função renal. Programa Form. Contin. a Distancia 2020.
21. chromID™ CPS® Elite e outros meios chromID™ para infeções do trato urinário | bioMérieux Portugal, <https://www.biomerieux.pt/produto/chromidtm-cpsr-elite-e-outros-meios-chromidtm-para-infecoes-do-trato-urinario>
22. bioMérieux: VITEK® 2 Compact | bioMérieux Portugal, [https://www.biomerieux.pt/produto/vitekr-2-compact#Conveniente e automatizado\\_0\\_0](https://www.biomerieux.pt/produto/vitekr-2-compact#Conveniente_e_automatizado_0_0)
23. VITEK® 2 COMPACT - deteção microbiana totalmente automatizada para produtos farmacêuticos - bioMérieux | bioMérieux industrial microbiology, <https://www.biomerieux-industry.com/pt/products/vitek-2-compact-sistema-de-deteccao-microbiana-para-aplicacoes-farmaceuticas>
24. Serra, J., Roberto Teixeira, P., Franchini, M., Renata Fernandes Martins José Antônio Pinto de Sá Ferreira Luiz Fernando de Góes Siqueira Luís Alberto Peregrino Ferreira Maria Luísa Bazzo Miriam Franchini Oscar Jorge Berro Sílvia Valle, C., Lúcia Ricciotti Ribinik Martistela Arantes Marteleto, M.: MINISTÉRIO DA SAÚDE.
25. Hadfield, T.L.: Medical Microbiology 18th Edition. (1990)
26. Deficiência de vitamina B12 - Distúrbios nutricionais - Manual MSD Versão Saúde para a Família, <https://www.msmanuals.com/pt-pt/casa/disturbios-nutricionais/vitaminas/deficiencia-de-vitamina-b12>
27. Murray, P.R., Rosenthal, K.S. and Pfaller, M.A. (2005) Medical Microbiology. 5th Edition,



- Elsevier Mosby, Philadelphia. - References - Scientific Research Publishing,  
[https://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qlt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1707067](https://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1707067)
28. Beta-lactamases: Sua importância na resistência bacteriana,  
[http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com\\_content&view=article&id=47&l](http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com_content&view=article&id=47&l)
  29. Ricke, S.C., Gast, R.K.: SALMONELLA | Salmonella Enteritidis. *Encycl. Food Microbiol.* Second Ed. 343–348 (2014). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00295-0>
  30. Mahon, C. R., Lehman, D. C., & George Manuselis, J. (2015): *Textbook of diagnostic microbiology* Pageburst E-book on Kno (5th ed.). *Lab. Med.* 32, 163–164 (2001)
  31. Unilabs - Teste do cotonete para o Streptococcus  $\beta$  durante a gravidez,  
<https://www.unilabs.pt/pt/unilabs/novidades-unilabs/blog/streptococcus-b>
  32. Kean, B.H.: *Clinical Parasitology*. (1984)
  33. Infecção por Helicobacter Pylori: o que é, sintomas e tratamento | CUF,  
<https://www.cuf.pt/saude-a-z/infecao-por-helicobacter-pylori>
  34. Teste Respiratório para Detecção de Helicobacter pylori | Hospital da Luz,  
<https://www.hospitaldaluz.pt/pt/exames/teste-respiratorio-para-detecao-de-helicobacter-pylori#tabp-0>
  35. Carlos de Sousa, J.: *Antibióticos Antibacterianos*. Faculdade de Farmácia Universidade do Porto (2001)
  36. Alessandra Barone Archangelo Fernandes, P.: **HEMOSTASIA SECUNDÁRIA.**