



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Beatriz Ramos Pereira

RELATÓRIO DE ESTÁGIO
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório de Estágio Curricular no âmbito de Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Professora Doutora Paula Cristina Luxo e pela Doutora Carla Almeida e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho de 2023



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Beatriz Ramos Pereira

Relatório de Estágio

Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito de Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Professora Doutora Paula Cristina Luxo e pela Doutora Carla Almeida e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho de 2023

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, um agradecimento especial aos meus pais, os meus alicerces que sempre estiveram ao meu lado e me apoiaram nesta trajetória que é a vida.

À Dra. Carla Almeida por me ter recebido no seu laboratório e sempre se demonstrar disponível a ajudar e apoiar na elaboração deste relatório, de outra forma não teria sido possível.

À equipa SynlabHealth Centro que me integrou na equipa, confiou em mim e me motivou a ser melhor todos os dias. Agradeço em especial às técnicas Catarina, Mónica, Stephanie, Ana e Elisabete por todos os ensinamentos, paciência e partilha de bons momentos com muitas gargalhadas. Agradeço ainda ao Dr. César pela aprendizagem, disponibilidade e auxílio sempre que precisei. Obrigada a todos por me proporcionarem a experiência enriquecedora que foram estes seis meses de estágio.

À Professora Doutora Paula Cristina Luxo, minha orientadora interna, por toda a simpatia, disponibilidade em esclarecer as minhas dúvidas, ajuda e apoio imprescindível na elaboração deste relatório.

Aos meus amigos, especialmente ao João, Juliana e Soraia pela paciência para ouvirem as minhas histórias e por acreditarem em mim, mesmo quando eu não o faço.

Por fim, mas igualmente importante, ao Diogo pelo apoio, carinho, sorrisos e todas as palavras de incentivo que me fazem sempre acreditar que sou capaz.

A todos um grande obrigada!

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ÍNDICE DE TABELAS	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO.....	13
I CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO SYNLABHEALTH CENTRO ...	14
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	14
1.2 A EQUIPA SYNLABHEALTH CENTRO.....	14
1.3 HORÁRIO DE FUNCIONAMENTO	14
1.4 FASES DO PROCESSO LABORATORIAL.....	14
1.4.1 Fase pré-analítica	14
1.4.2 Fase analítica.....	16
1.4.3 Fase pós-analítica	17
1.5 CONTROLO DE QUALIDADE.....	18
1.5.1 Controlo de qualidade interno.....	18
1.5.2 Avaliação externa da qualidade	18
2 IMUNOLOGIA.....	20
2.1 SISTEMA IMUNOLÓGICO	20
2.2 DETERMINAÇÃO ANALÍTICA.....	20
2.2.1 Equipamento Architect.....	21
2.2.2 Imunocromatografia	21
2.2.3 Aglutinação.....	21
2.3 INFEÇÕES VIRAIS	23
2.3.1 Hepatites virais	23
2.3.2 Vírus Epstein Barr (EBV).....	28
2.3.3 Citomegalovírus humano	29
2.3.4 Rubéola.....	29
2.4 TOXOPLASMOSE.....	30
2.5 SÍFILIS.....	31
2.6 EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-TIROIDE	32
2.6.1 Hipotiroidismo	33
2.6.2 Hipertiroidismo	34
2.7 MARCADORES TUMORAIS.....	34
2.7.1 Antígeno carboidrato 19.9 (CA 19.9)	34
2.7.2 Antígeno carcinoembrionário (CEA).....	35
2.7.3 Antígeno específico da próstata (PSA)	35
3 MICROBIOLOGIA.....	37
4 HEMATOLOGIA	38
4.1 DETERMINAÇÃO ANALÍTICA.....	39
4.1.1 Hemograma	39
4.1.2 Esfregaço de sangue periférico, coloração e observação ao microscópio.....	42
4.1.3 Reticulócitos	42
4.2 ANEMIAS.....	43

4.3	HEMOSTASE	44
4.3.1	<i>Avaliação laboratorial da hemostase</i>	45
4.4	VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO DO SANGUE.....	47
5	BIOQUÍMICA	48
6	CASOS CLÍNICOS	49
	CONCLUSÃO	61
	BIBLIOGRAFIA	63

LISTA DE ABREVIATURAS

AgHBc	Antigénio da cápside do vírus da hepatite B
AgHBe	Antigénio e do vírus da hepatite B
AgHBs	Antigénio de superfície do vírus da Hepatite B
ALP	Fosfatase Alcalina
ALT	Alanina Aminotransferase
Anti-CMV	Anticorpo contra o Citomegalovírus Humano
Anti-HBc	Anticorpo contra o antigénio HBc
Anti-HBe	Anticorpo contra o antigénio HBe
Anti-HBs	Anticorpo contra o antigénio HBs
Anti-TG	Anticorpo contra a Tiroglobulina
Anti-TPO	Anticorpo contra a Peroxidase
Anti-VHC	Anticorpo contra o vírus da Hepatite C
aPTT	Tempo de Tromboplastina Parcialmente Ativada
AST	Aspartato Aminotransferase
CA 19.9	Antigénio carboidrato 19.9
CEA	Antigénio carcinoembrionário
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CK	Creatina Cinase
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CMV	Citomegalovírus Humano
CPSE	ChromID® CPS® Elite
CRP	Proteína C Reativa
DIT	Diiodotirosina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EBNA	Antigénio nuclear do vírus Epstein-Barr
EBV	Vírus Epstein-Barr
ESP	Esfregaço de sangue periférico
GGT	Gama glutamiltransferase
Hb	Hemoglobina
Hb AS	Portadores em heterozigose para a Hb S
Hb S	Hemoglobina S
Hb SS	Portadores em homozigose para a Hb S
HbA1c	Hemoglobina Glicada
hCG	Gonadotrofina Coriónica Humana
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade

Ht	Hematócrito
Ig A	Imunoglobulina A
Ig G	Imunoglobulina G
Ig M	Imunoglobulina M
INR	<i>International Normalized Ratio</i>
LDH	Lactato Desidrogenase
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MIT	Monoiodotirosina
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PNAEQ	Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade Laboratorial
PSA	Antígeno Específico da Próstata
RBC	Eritrócitos
RDW	Distribuição do Diâmetros dos Eritrócitos
Rh	Sistema Rhesus
RIQAS	<i>Randox International Quality Assessment Scheme</i>
RNA	Ácido Ribonucleico
RPR	<i>Rapid Plasma Reagin</i>
SEQC	<i>Sociedad Española de Medicina de Laboratorio</i>
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TBG	Globulina Transportadora de Tiroxina
TP	Tempo de Protrombina
TPHA	<i>Treponema Pallidum Hemagglutination Assay</i>
TSA	Teste de Suscetibilidade a Antimicrobianos
TSH	Hormona Estimuladora da Tireoide
VCA	Antigénio da cápside viral do vírus Epstein-Barr
VCM	Volume Corpuscular Médio
VDRL	<i>Veneral Disease Research Laboratory</i>
VHB	Vírus da Hepatite B
VHC	Vírus da Hepatite C
VPM	Volume Plaquetar Médio
VS	Velocidade de Sedimentação Eritrocitária
WBC	Leucócitos

INDÍCE DE FIGURAS

Figura I. ID-Cards utilizados na tipagem sanguínea. Indivíduo do grupo sanguíneo B negativo (B-).	22
Figura II. Curso serológico e clínico durante a infecção aguda pelo vírus da Hepatite B (Adaptado de [4]).	26
Figura III. Curso serológico e clínico durante a infecção crónica pelo vírus da Hepatite B (Adaptado de [4]).	26
Figura IV. Eixo Hipotálamo Hipófise Tiroide (Adaptado de [21]).....	33
Figura V. Esquema representativo do processo de diferenciação e maturação dos diferentes tipos de células sanguíneas (hematopoiese). (Disponível em [28]).....	38
Figura VI. Métodos utilizados pelo equipamento Sysmex XN-550.....	40
Figura VII. Cascata de coagulação (via intrínseca, via extrínseca e via comum) (Adaptado de [27]).	46
Figura VIII. Eletroforese de proteínas caso clínico nº I	51
Figura IX. Observação ao microscópico ótico do ESP (Objetiva 100x) do caso clínico nº I.	53
Figura X. Observação ao microscópio ótico do ESP (Objetiva de 100x) do caso clínico nº4.	58

INDÍCE DE TABELAS

Tabela I. Tubos utilizados nas colheitas e respetiva composição, aplicabilidade e tipo de amostra obtida.	15
Tabela II. Equipamentos utilizados no Laboratório SynlabHealth Centro com respetiva valência e tipo de amostra utilizada.....	17
Tabela III. Tipos de grupos sanguíneos e respetivos antigénios eritrócitários e anticorpos naturais no plasma.....	22
Tabela IV. Interpretação de resultados serológicos da hepatite B (Baseado em [6]).	27
Tabela V. Disfunções tiroideias e respetivos parâmetros analíticos (Baseado em [6])......	34
Tabela VI. Classificação das anemias de acordo com os índices eritrocitários (VGM, HGM e CHGM) (Baseado em [27])......	43
Tabela VII. Classificação do tipo de anemia de acordo com as alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos característicos (Baseado em [34] e [33])	44
Tabela VIII. Parâmetros bioquímicos e diferentes aplicabilidades.	48
Tabela IX. Resultados dos parâmetros hematológicos e bioquímicos do caso clínico nº1..	49
Tabela X. Resultados dos parâmetros da eletroforese de proteínas do caso clínico nº1	51
Tabela XI. Resultados dos parâmetros imunológicos do caso clínico nº1.....	52
Tabela XII. Resultados dos parâmetros hematológicos e bioquímicos do caso clínico nº2.	54
Tabela XIII. Resultados dos parâmetros imunológicos e bioquímicos do caso clínico nº3.	56
Tabela XIV. Resultados dos parâmetros bioquímicos e hematológicos do caso clínico nº4.....	57
Tabela XV. Resultados dos parâmetros hematológicos do caso clínico nº5.....	59
Tabela XVI. Resultados dos parâmetros referentes à eletroforese das hemoglobinas do caso clínico nº5.	59

RESUMO

As análises clínicas têm um papel preponderante no diagnóstico clínico, prognóstico, previsão e monitorização da doença. A decisão clínica está maioritariamente dependente dos resultados dos testes analíticos e, por esta razão, o papel do analista é fundamental para assegurar a qualidade de todo o processo laboratorial.

O relatório de estágio elaborado no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra tem como objetivo relacionar conceitos previamente adquiridos com a rotina laboratorial experienciada.

O estágio teve duração de 6 meses e foi realizado no Laboratório SynlabHealth Centro, inserido no Hospital da Luz Coimbra. Este engloba as valências de Bioquímica, Hematologia, Imunologia e Microbiologia onde tive oportunidade de trabalhar e aprender.

Inicialmente será descrita uma breve introdução, seguida da caracterização do laboratório com ênfase no seu fluxograma e no controlo de qualidade. No decorrer, as valências de Imunologia e Hematologia serão particularmente destacadas, com desenvolvimento de conceitos com aplicabilidade no diagnóstico clínico.

Palavras-chave: Análises Clínicas, Imunologia, Hematologia, Diagnóstico, Laboratório.

ABSTRACT

Clinical analysis plays a key role in clinical diagnosis, prognosis, prediction and monitoring of the disease. The clinical decision is mostly dependent on the results of analytical tests and, for this reason, the role of the clinical analysis technician is essential to ensure the quality of the whole laboratory process.

The internship report prepared within the scope of the Master's Degree in Clinical Analyses of the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra aims to relate previously acquired concepts with the experienced laboratory routine.

The internship lasted 6 months and was carried out in the Laboratory SynlabHealth Centre, inserted in the Hospital da Luz Coimbra. This includes the areas of Biochemistry, Hematology, Immunology and Microbiology, where I had the opportunity to work and learn.

Initially, a brief introduction will be described, followed by the characterisation of the laboratory with emphasis on its flow chart and quality control. During the course, Immunology and Haematology will be particularly highlighted, with the development of concepts with applicability in clinical diagnosis.

Keywords: Clinical Analysis, Immunology, Hematology, Diagnosis, Laboratory.

INTRODUÇÃO

As análises clínicas têm um papel fundamental na prestação de cuidados de saúde, na medida em que, são um dos alicerces do diagnóstico clínico e contribuem para a previsão e monitorização de doenças.

Nos últimos anos, a tecnologia dominou os laboratórios de análises clínicas e os processos tornaram-se progressivamente mais automatizados. Atualmente, a automatização está presente nas três fases do processo laboratorial: fase pré-analítica, fase analítica e fase pós-analítica. Porém, o papel do analista continua a ser fundamental para ter uma visão e interpretação crítica sobre os resultados e assegurar o controlo de todo o processamento. Garantir o rigor e a qualidade do processo laboratorial é essencial para que o clínico interprete resultados fidedignos e possa tomar decisões informadas e seguras quanto ao estado de saúde do utente.

O presente relatório tem como objetivo descrever os conhecimentos adquiridos durante o estágio realizado no Laboratório SynlabHealth Centro, no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. O laboratório além do serviço de colheitas, está integrado no Hospital da Luz o que me permitiu adquirir também alguma noção do funcionamento da rotina laboratorial hospitalar. Engloba áreas analíticas de Bioquímica, Microbiologia, Hematologia e Imunologia onde foi possível acompanhar e executar diversas técnicas, culminando na interpretação dos resultados.

Os seis meses de estágio permitiram consolidar conceitos anteriormente adquiridos, sobretudo nas duas valências que escolhi desenvolver mais aprofundadamente, Imunologia e Hematologia. No decurso deste relatório será descrito todo o trabalho realizado no laboratório, desde o seu funcionamento às técnicas maioritariamente executadas. Por fim, serão também apresentados casos clínicos com o objetivo de interligar todo o conhecimento adquirido.

I CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO SYNLABHEALTH CENTRO

I.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O Laboratório SynlabHealth Centro pertencente ao grupo de laboratórios Synlab, fica situado no Hospital da Luz em Coimbra e funciona como laboratório central que recebe amostras de diferentes unidades localizadas na cidade (Synlab Coimbra, Synlab Pedrulha, CLIMAG, Clinic4you) ou no exterior (Cantanhede, Miranda do Corvo, Leiria, Viseu, Covilhã).

O número de amostras diárias varia entre 150 a 280 e a maioria são provenientes dos serviços integrados no Hospital da Luz - Coimbra (Internamento, Oncologia, Atendimento Médico Permanente) ou são colhidas no laboratório por enfermeiros e técnicos de laboratório em análises clínicas.

O laboratório dispõe ainda de serviço domiciliar para todos os utentes impossibilitados de se deslocarem às instalações.

As amostras com análises que não são efetuados no laboratório, são devidamente enviadas para outros laboratórios situados no Porto, Lisboa ou Barcelona onde serão processadas.

I.2 A EQUIPA SYNLABHEALTH CENTRO

A direção técnica do laboratório está a cargo da Dra. Carla Almeida, Farmacêutica com Especialidade em Análises Clínicas, e o serviço conta com o apoio de uma equipa técnica que integra especialistas, técnicos superiores de análises clínicas, enfermeiros, rececionistas e auxiliares.

I.3 HORÁRIO DE FUNCIONAMENTO

O laboratório embora se localize no Hospital da Luz e possua um serviço de urgência 24 horas por dia, 7 dias por semana, tem um horário de atendimento para colheita de amostras nos dias úteis das 7h:30 às 20h:30 e ao sábado das 8h às 12h.

I.4 FASES DO PROCESSO LABORATORIAL

I.4.1 Fase pré-analítica

A fase pré analítica é a etapa inicial, antecede a fase analítica e inclui processos importantes, desde a chegada do utente ao laboratório até ao processamento das suas amostras. Os processos desta fase têm um impacto muito significativo na fase analítica e na consequente obtenção de resultados, sendo onde ocorre a maioria dos erros laboratoriais.

Esta fase inicia-se com a chegada do utente à receção com a requisição médica das análises, onde se procede à sua inscrição no sistema informático que lhe atribui um código identificativo

alfanumérico (ex: CMEOXXX). São também impressas etiquetas com o seu nome e respetivo código de barras referente ao número do seu processo, que irão ser usadas para identificar as amostras e rastreá-las.

O utente é questionado se se preparou previamente para a colheita (ex; jejum, interrupção da toma de antibióticos, etc.) e informado relativamente às condições de recolha da amostra, de modo a obter o seu consentimento. Deve-se apenas proceder à colheita se o utente respeitar as condições de preparação para que, no fim do processamento da amostra, se obtenham resultados fidedignos das análises prescritas.

Seguidamente, o utente é encaminhado até à sala de colheitas onde é preparado e questionado o seu nome completo e idade, de modo a fazer uma identificação inequívoca. A colheita de sangue é feita por um enfermeiro, especialista em análises clínicas ou técnico de análises que, etiqueta previamente os tubos/frascos necessários e prepara todo o material. Durante a colheita é muito importante a constante comunicação com o utente para que se sintam mais seguros e o profissional de saúde consiga responder sempre às suas necessidades.

No laboratório SynlabHealth Centro as amostras de sangue são colhidas para os tubos pela ordem segundo a norma CSLI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), obedecendo a um sistema universal de cores (*Tabela 1*). Algumas das amostras como, fezes, urina e expectoração, são normalmente colhidas pelo doente e outras como, exsudados, raspados de unhas e pele pelo especialista/técnico de laboratório. Os recipientes utilizados para a colheita destas amostras devem ser estéreis, sobretudo se estas requerem exames microbiológicos (ex: coprocultura, urocultura, aspirados, feridas cirúrgicas, etc.).

Tabela 1. Tubos utilizados nas colheitas e respetiva composição, aplicabilidade e tipo de amostra obtida.

Cor da Tampa	Composição/Aditivo	Tipo de amostra	Aplicabilidade
Verde	Heparina-Lítio	Plasma	Bioquímica Imunologia
Vermelha/Amarela	Gel separador e ativador de coágulo	Soro	Bioquímica Imunologia
Azul	Citrato de sódio (1:9)	Plasma	Coagulação
Roxa	EDTA Tripotássico	Sangue total	Hematologia Bioquímica
Cinzenta/Preta	Citrato de sódio (1:4)	Sangue total	Velocidade de sedimentação

As amostras colhidas são transportadas convenientemente até à área laboratorial onde primeiro sofrem triagem e depois são distribuídas pelos setores consoante o tipo de análise solicitada.

Por fim, ainda nesta fase, é feita a centrifugação dos tubos e alíquotagem das amostras caso as análises requeridas não sejam feitas no laboratório e tenham de ser enviadas para outros laboratórios referenciados. As condições de envio das amostras devem ser sempre respeitadas para que a sua estabilidade se mantenha, considerando se precisam previamente de ser congeladas ou refrigeradas antes e durante o envio.

I.4.2 Fase analítica

Na fase analítica decorre todo o processo de análise do material biológico, no qual o papel do técnico de análises clínicas é fundamental para garantir a qualidade de todo o processo analítico. O técnico é responsável por assegurar a existência de reagentes e consumíveis necessários no equipamento, tal como calibrar e controlar os parâmetros analíticos.

Após centrifugação e antes de prosseguir com o processamento da amostra, é avaliada a sua qualidade, bem como se os equipamentos estão aptos a trabalhar e se o controlo de qualidade está dentro dos parâmetros indicados, segundo os critérios estabelecidos pela Diretora Técnica do Laboratório SynlabHealth Centro. O transporte com temperatura inadequada, a chegada de amostras não etiquetadas ou indevidamente etiquetadas, com quantidade insuficiente, contaminadas, coaguladas ou hemolisadas, são critérios que levam à rejeição das amostras e deve ser pedida nova colheita.

As amostras que cumprem todos os critérios são depois processadas em equipamentos automatizados (*Tabela II*) ou por técnicas manuais executadas pelo técnico.

De um modo geral, as amostras em tubos de Bioquímica/Imunologia, tampa cor amarela e/ou cor verde, são previamente centrifugadas para a obtenção do soro e plasma, respetivamente, e depois colocados no equipamento ARCHITECT ci8200 ou ci4100. As amostras em tubos utilizados para provas de coagulação, com tampa cor azul, são também centrifugadas para obtenção de plasma e colocados no equipamento SYSMEX CA-600. Relativamente às amostras em tubos de EDTA tripotássico, tampa roxa, não são centrifugados antes de serem colocados no equipamento SYMEX XN-550, mas são delicadamente agitados e observada a existência de coágulos. As amostras de sangue total são ainda utilizadas no equipamento Bio Rad D-10 para determinação da hemoglobina glicada (HbA1c).

É de extrema importância que durante o processamento as amostras urgentes sejam tidas como prioritárias sobre as outras, para que os resultados cheguem ao clínico no menor tempo possível.

Tabela II. Equipamentos utilizados no Laboratório SynlabHealth Centro com respetiva valência e tipo de amostra utilizada.

Equipamento		Valência	Amostras
ARCHITECT ci8200	ARCHITECT C8000	Bioquímica	Soro, Sangue Total (EDTA) Plasma (heparina, citrato) Urina
	ARCHITECT i2000SR	Imunologia	
ARCHITECT ci4100	ARCHITECT c4000	Bioquímica	
	ARCHITECT i1000SR	Imunologia	
Atellica CI 1900*		Imunologia Bioquímica	Soro, Sangue Total, Plasma, Urina
Bio- Rad D-10		Bioquímica (HbA1c)	Sangue Total (EDTA)
Sysmex XN-550		Hematologia (Hemograma)	Sangue Total (EDTA)
VES MATIC 30		Hematologia (Velocidade de sedimentação)	Sangue total (citrato de sódio (1:4))
SYSMEX CA-600		Hematologia (Coagulação)	Plasma (citrate de sódio (1:9))
iChemVELOCITY		Bioquímica (Urina tipo II)	Urina
Hydrasys Sebia		Bioquímica (Eletroforese das proteínas séricas)	Soro
VITEK 2 Compact		Microbiologia	Amostras microbiológicas
Banjo ID-Reader ID-Centrifuge L ID-Incubator L		Imunologia	Plasma, Soro e Sangue total (EDTA)

*Equipamento recente no laboratório, ainda em processo de validação do equipamento. Participação em estudos com a Siemens para avaliar precisão, exatidão e capacidade de resposta em carga.

1.4.3 Fase pós-analítica

Os equipamentos, após o processamento das amostras transmitem para o sistema os resultados obtidos, que são depois avaliados pelos farmacêuticos especialistas em análises clínicas. A avaliação do controlo de qualidade e a comparação entre resultados e com a história clínica do utente é essencial antes da sua validação e, se solicitado pelo especialista em análises clínicas, efetua-se a repetição do ensaio como forma de confirmação dos valores obtidos.

Finalmente, após validação biopatológica dos resultados, as amostras são separadas e arrumadas com auxílio do equipamento *AquaTrace*. O equipamento possui quatro suportes de arrumação: I para tubos pendentes (processamento ou validação biopatológica da amostra inconclusa); I para tubos de soro, I para tubos com EDTA e I para outro tipo de amostras (ex: urina).

Os tubos etiquetados com os respectivos códigos de barras são integrados no sistema onde lhe é atribuída uma posição no suporte de arrumação, conforme a determinação do seu código. Esta metodologia facilita a procura de um tubo sempre que necessário, uma vez que, o sistema nos informa o local exato em que se encontra. Por fim, as amostras são refrigeradas por tempo determinado.

1.5 CONTROLO DE QUALIDADE

Os laboratórios de análises clínicas têm o dever de fornecer um serviço que garanta qualidade, com a produção de resultados exatos, precisos e fidedignos que possam ser aplicados no contexto clínico e auxiliar o diagnóstico. A participação do laboratório em programas de controlo da qualidade interna e externa são fundamentais para avaliar a eficiência e qualidade do processo analítico.

1.5.1 Controlo de qualidade interno

O controlo interno da qualidade é feito diariamente no laboratório segundo um plano bem delineado que tem como objetivo detetar problemas de precisão na rotina laboratorial. Neste sentido, é posto em prática um conjunto de procedimentos que permitem a avaliação do controlo da qualidade dos resultados laboratoriais. Um dos procedimentos utilizados consiste na passagem diária, antes do serviço iniciar, de diferentes amostras controlo de concentrações conhecidas, nos equipamentos. O laboratório possui um calendário semanal estabelecido pela Diretora Técnica no qual, conforme o dia da semana são feitos diferentes níveis das amostras controlo. Seguidamente, é avaliada a variação de cada parâmetro nos gráficos de Levey-Jennings segundo as regras de *Westgard* com o auxílio do programa informático *Unity*. O incumprimento das regras de *Westgard* leva a que o equipamento emita um aviso para que sejam tomadas ações corretivas sobre a causa. A eliminação da causa pode passar pela calibração do parâmetro, alteração do reagente ou até avaliação técnica do equipamento.

A calibração de um determinado parâmetro é necessária sempre que há mudança de lote dos reagentes, sempre seguido do seu controlo.

1.5.2 Avaliação externa da qualidade

A participação em programas de avaliação externa da qualidade permite ao laboratório trabalhar com qualidade através da deteção de problemas de exatidão pela comparação dos seus resultados com outros laboratórios. O laboratório SynlabHealth Centro participa nos programas *Randox International Quality Assessment Scheme (RIQAS)*, Programa Nacional de

Avaliação Externa da Qualidade Laboratorial (PNAEQ), *National External Quality Assurance Scheme* (NEQAS) e ainda da *Sociedad Española de Medicina de Laboratorio* (SEQC). Neste caso, são fornecidas amostras de concentração desconhecida ao laboratório pelas entidades referidas que devem ser processadas num intervalo de tempo definido e como se de uma amostra de um doente se tratasse.

Os resultados obtidos são depois submetidos numa plataforma da entidade avaliadora e mais tarde é enviado um relatório ao laboratório sobre o seu desempenho.

2 IMUNOLOGIA

2.1 SISTEMA IMUNOLÓGICO

O sistema imunológico tem como principais objetivos a defesa do organismo contra agentes invasores (bactérias, fungos, vírus, parasitas) e o controlo e eliminação de células malignas [1]. É um sistema complexo com diversos processos biológicos que se complementam, podendo ser subdividido em dois mecanismos de defesa, a resposta imunológica inata e a adquirida.

A primeira linha de defesa do organismo, a pele e as mucosas, impede a entrada de muitos microrganismos não só por ser uma barreira física, mas também pela produção de fluídos como secreções (saliva, lágrimas) e muco [1]. Contudo, nem sempre estas barreiras são suficientes, sendo necessário o apoio da imunidade inata, que está presente desde o nascimento do indivíduo.

A imunidade inata é uma resposta imune imediata e inespecífica que não possui memória imunológica, isto é, é incapaz de reconhecer o mesmo patógeno numa próxima exposição [1]. Quando ocorre infeção e inflamação o organismo ativa este sistema de defesa que, além das barreiras físicas, compreende barreiras fisiológicas, endocíticas, fagocíticas e inflamatórias com o recrutamento de células (macrófagos, eosinófilos, basófilos, células *natural killer*, neutrófilos, monócitos, células dendríticas). Nas situações em que a resposta do sistema imunológico inato é ineficaz no controlo da infeção, é ativada a resposta imunológica adquirida [1].

A imunidade adquirida é uma resposta específica dependente do contacto prévio com o antigénio, possibilitando uma resposta mais rápida e eficiente nas exposições seguintes. Esta resposta que se adapta em função do tipo de agente patogénico, envolve os linfócitos B e T, responsáveis pela imunidade humoral e celular, respetivamente [1].

2.2 DETERMINAÇÃO ANALÍTICA

A deteção e doseamento de determinados analitos permite não só identificar infeções como compreender alguns dos processos imunológicos responsáveis pelo equilíbrio e defesa do organismo, auxiliando o diagnóstico, prognóstico e tratamento da doença.

Na área da imunologia, as técnicas utilizadas no Laboratório SynlabHealth Centro são fundamentalmente feitas no equipamento ARCHITECT e apenas algumas são executadas manualmente pelo técnico.

2.2.1 Equipamento Architect

O equipamento ARCHITECT i1000sr e i2000sr utiliza sobretudo imunoensaios de micropartículas por quimioluminescência na análise do soro ou plasma do indivíduo. O método consiste na marcação dos complexos antígeno-anticorpo com uma molécula quimioluminescente que, por meio de uma reação química, resulta na emissão de luz que é depois lida pelo equipamento, sendo diretamente proporcional à concentração de analito na amostra [2].

2.2.2 Imunocromatografia

As técnicas executadas manualmente pelo técnico são sobretudo testes imunocromatográficos que consistem na pesquisa de antígenos ou anticorpos em diferentes tipos de amostras (urina, sangue, soro, saliva entre outros fluidos). No laboratório estes testes rápidos são muito utilizados para a pesquisa de antígenos do vírus Influenza A e B e SARS COV-2 bem como para a pesquisa de sangue oculto (hemoglobina) nas fezes, pesquisa de anticorpos heterotróficos, pesquisa de gonadotrofina coriônica humana (hCG) entre outros.

O teste imunocromatográfico possui duas regiões, a região controlo (C) e a região teste (T) cujo resultado apenas é válido se após a sua leitura for visível uma linha na região (C). A título de exemplo, o caso de um teste utilizado para pesquisa de um determinado antígeno. A amostra é adicionada no poço da placa teste e na presença de antígeno é formado um imunocomplexo com o anticorpo monoclonal-corante. Por sua vez, o imunocomplexo flui pela matriz de nitrocelulose até à região T, onde ficará imobilizado devido à sua ligação ao anticorpo específico contra o determinado antígeno, procedendo-se à observação de uma banda corada nessa região.

2.2.3 Aglutinação

A determinação do grupo sanguíneo e o teste de coombs são exemplos de técnicas executadas manualmente pelo técnico que se baseiam numa reação de aglutinação entre um antígeno e o seu anticorpo específico, permitindo a sua deteção. Neste caso, a técnica é executada manualmente utilizando ID-Cards e o resultado é lido com o auxílio do equipamento Banjo ID-Reader.

Outro exemplo de um teste de aglutinação executado no laboratório é, o teste RPR (*Rapid Plasma Reagin*) que deteta a presença de anticorpos não específicos contra a espiroqueta *Treponema pallidum*.

i. Grupos sanguíneos

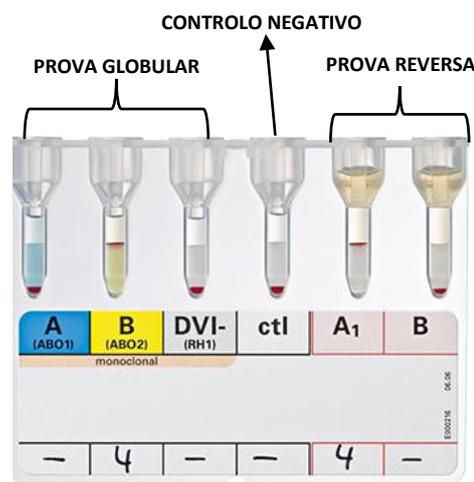
A tipagem sanguínea é classificada de acordo com os dois sistemas que possuem maior relevância clínica: o sistema AB0 e o sistema *Rhesus* (Rh). O princípio do sistema AB0 tem por base a classificação dos grupos sanguíneos (A, B, AB e 0) segundo a presença ou ausência de antígenos A e B na superfície dos glóbulos vermelhos e dos correspondentes anticorpos naturais no plasma (*Tabela III*). O sistema imunológico tem tolerância para com o seu próprio tipo de sangue e por essa razão, não produz anticorpos contra os seus antígenos eritrócitários.

O fator Rh é outro grupo de antígenos que se encontra na superfície das hemácias, também conhecido como antígeno D. Assim, se o antígeno D estiver presente nos glóbulos vermelhos do indivíduo, diz-se Rh positivo (Rh+) e se estiver ausente diz-se Rh negativo (Rh-). Os indivíduos Rh+ e Rh- não possuem anticorpos anti-D no seu plasma, porém os indivíduos Rh- podem produzir esses anticorpos quando expostos a glóbulos vermelhos Rh+.

Tabela III. Tipos de grupos sanguíneos e respetivos antígenos eritrócitários e anticorpos naturais no plasma.

Sistema AB0		
Grupo	Antígeno nos glóbulos vermelhos	Anticorpos naturais no plasma
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A e B	Ausência de Anti-A e Anti-B
0	Ausência de A e B	Anti-A e Anti-B
Sistema Rh		
Rh positivo	D	Ausência de anti-D
Rh negativo	Ausência de D	Ausência de anti-D mas que podem ser produzidos após contacto com glóbulos vermelhos Rh+

Figura I. ID-Cards utilizados na tipagem sanguínea. Indivíduo do grupo sanguíneo B negativo (B-).



No laboratório são utilizados ID-Cards onde é realizada a prova globular (pesquisa de antígenos eritrócitários A, B e D) e em simultâneo a prova reversa (pesquisa de anticorpos anti-A e anti-B no plasma), para confirmação dos resultados (*Figura I*).

Na prova globular a amostra utilizada é sangue total, em particular os eritrócitos, que são adicionados aos poços A, B e DVI- com reagentes anticorpo anti-A, anti-B e anti-D respetivamente. Na prova reversa é avaliada a presença de anticorpos anti-A e anti-B no soro/plasma do indivíduo e são utilizados como reagentes hemácias A1 e B.

A título de exemplo, a aglutinação com anticorpo anti-A e anti-D na prova globular significa que o indivíduo é do grupo sanguíneo A positivo. Desta forma, na prova reversa deverá

observar-se aglutinação no poço B devido à presença de anticorpos anti-B no plasma do indivíduo.

ii. Teste de Coombs

Em casos de suspeita de anemia hemolítica autoimune é utilizado como teste diagnóstico o teste de coombs direto, que consiste na pesquisa de anticorpos ligados a eritrócitos. Neste teste é utilizado como reagente o soro de Coombs (contém anticorpos anti-imunoglobulina humana) que irão aglutinar com os anticorpos ligados à superfície dos eritrócitos da amostra de sangue total.

O teste de coombs indireto é principalmente solicitado em situações de gravidez, transfusão sanguínea, transplante para pesquisa de anticorpos anti-D no soro/plasma do utente, apenas produzidos após contacto com eritrócitos Rh+. A produção destes anticorpos é comumente testada em grávidas Rh- para evitar o desenvolvimento de doença hemolítica do recém-nascido que advém de uma incompatibilidade do fator Rh entre a mãe (Rh-) e o feto (Rh+). As grávidas Rh- que tiveram uma primeira gravidez em que o feto era Rh+ podem ter produzido anticorpos anti-D e, numa segunda gravidez (feto Rh+), esses mesmo anticorpos atravessam a barreira placentária e aglutinam com os eritrócitos do bebé, provocando a sua destruição (anemia hemolítica severa).

2.3 INFEÇÕES VIRAIS

2.3.1 Hepatites virais

As hepatites virais são infeções do fígado causadas por vírus das hepatites A, B, C, D e E, sendo o controlo da sua transmissão muito importante para a saúde pública.

O vírus da hepatite A causa maioritariamente uma infeção aguda e autolimitada, porém as hepatites B, C e E podem evoluir para infeções crónicas e levar, ou não, a complicações mais graves como cirrose, carcinoma hepatocelular ou até morte [3]. Na hepatite C é mais comum a evolução para cronicidade.

Os marcadores de lesão hepática como a aspartato aminotransferase (AST) e a alanina aminotransferase (ALT) habitualmente, atingem valores muito acima dos normais na hepatite viral aguda e não tão elevados na hepatite crónica [3].

Nas formas agudas é mais comum o aparecimento de icterícia que se relaciona sobretudo com hiperrubulinemia do tipo conjugada devido à inflamação do fígado e lesão hepatocelular, comprometendo o sistema biliar e a excreção da bilirrubina conjugada.

Nas formas crónicas é muito importante avaliar os marcadores de função de síntese hepática, uma vez que, nestas situações a proteína albumina sofre uma diminuição acentuada e o tempo de protrombina aumenta, por consequência da perda de função do órgão.

O diagnóstico das hepatites virais é maioritariamente feito pela deteção de antígenos virais e/ou anticorpos específicos contra o vírus, no soro ou plasma do doente.

i. Hepatite B

A hepatite B é causada pela infeção do vírus da hepatite B (VHB), pertencente à família Hepadnaviridae. O virião tem forma esférica, é constituído por DNA circular de cadeia dupla incompleta, possui um envelope com antígeno de superfície (AgHBs) e nucleocápside com antígeno do core (AgHBc) na sua estrutura, bem como o antígeno e (AgHBe) que é secretado no soro [4].

A sua transmissão pode ocorrer por via sexual, percutânea e vertical sendo a via vertical a mais comum em populações com elevada prevalência da doença e a via sexual em populações com baixa prevalência [5].

A infeção por VHB além de possuir um longo período de incubação, causa um amplo espectro de hepatopatias e a sua evolução clínica depende da resposta imunológica do hospedeiro, da ocorrência de coinfeção com outros vírus hepáticos, entre outros fatores [6].

No entanto, a maioria dos indivíduos adultos imunocompetentes infetados é assintomático e recupera, e apenas cerca de 5 a 10% dos casos evolui para hepatite B crónica, sendo que, quanto menor a sua faixa etária, maior o risco de evolução para cronicidade [4]. Por esta razão, a evolução para uma infeção crónica é mais comum em recém-nascidos e crianças.

Desde 2000 que a vacina da hepatite B faz parte do plano nacional de vacinação e a primeira dose é administrada logo à nascença, possibilitando assim o controlo da doença infectocontagiosa reduzindo a sua transmissão na comunidade [7].

Serologia da Hepatite B

A deteção de anticorpos e antígenos específicos permite não só proceder ao diagnóstico do indivíduo como monitorizar a doença e determinar a sua imunidade.

O laboratório SynlabHealth Centro, através de imunoensaios de micropartículas quimioluminescentes determina qualitativamente a presença de AgHBs, anticorpo HBs (anti-HBs), anticorpo HBc Ig M (anti-HBc Ig M) e anti-HBc total. Para além dos ensaios serológicos, existem outros métodos que podem ser utilizados: *Polymerase Chain Reaction* (PCR) com

pesquisa do genoma viral ou imunohistoquímica com deteção de AgHBs na amostra de tecido hepático [6].

Na fase inicial (2 semanas após infeção), durante o período de incubação, o AgHBs é o único antígeno do VHB detetável no soro do doente, sem que ainda tenha sido produzido o respetivo anticorpo. Geralmente, este marcador está presente até a infeção estar resolvida, sendo que durante a melhora do estado clínico do utente, a concentração de antígenos diminui até desaparecer [6]. Durante este período inicial de infeção, o risco de transmissão de VHB é muito elevada.

Geralmente, quando ocorre resolução da infeção aguda, às 24 semanas de infeção ocorre seroconversão, ou seja, o AgHBs desaparece e mais tarde é possível detetar o anticorpo anti-HBs. No entanto, se o AgHBs se mantiver detetável por mais de 6 meses revela que a infeção evoluiu para cronicidade [4].

O antígeno e (AgHBe) é também um marcador indicativo de replicação viral ativa e elevado risco de transmissão do vírus, que habitualmente possui níveis mais elevados na hepatite B aguda e em alguns casos de hepatite B crónica. Pelo contrário, a diminuição do valor de AgHBe e o aumento do valor de anticorpo e (anti-HBe) no soro, indicam o início da recuperação, logo após o pico da infeção [4].

Fase aguda (Hepatite B aguda)

Na hepatite B aguda, o AgHBs e o AgHBe são os primeiros marcadores a serem detetados no soro do doente (*Figura II*).

Nos primeiros 6 meses de infeção, a classe de imunoglobulinas Ig M (anti-HBc Ig M) é predominante, uma vez que se trata de uma infeção recente, podendo ser usado para confirmar o diagnóstico de hepatite B aguda [4]. Após o contacto prévio com o vírus, o anticorpo anti-HBc é produzido e permanece detetável durante toda a vida do indivíduo, mesmo que a infeção não evolua para cronicidade (*Figura II*).

No decorrer da fase aguda é comum o aumento dos níveis séricos de ALT, podendo surgir icterícia, acabando por normalizar durante a fase de recuperação.

Na fase de convalescença os níveis de AgHBs e AgHBe diminuem gradualmente até não serem detetados e surgem os anticorpos anti-HBs e anti-HBe, respetivamente.

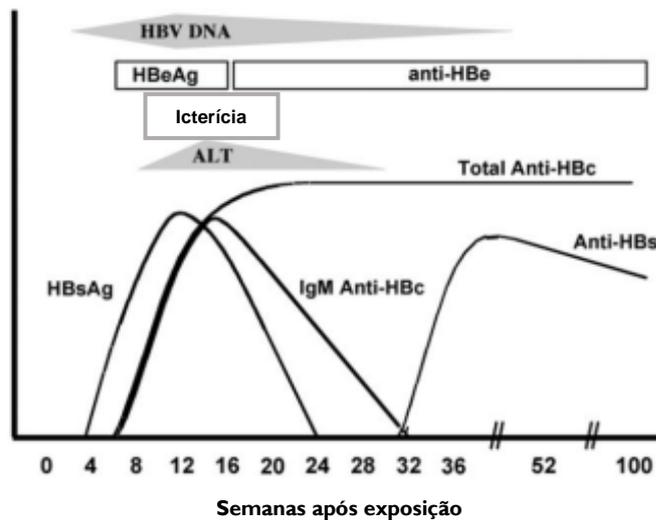


Figura II. Curso serológico e clínico durante a infecção aguda pelo vírus da Hepatite B (Adaptado de [4]).

Fase crónica (Hepatite B crónica)

Na hepatite B crónica existem duas fases, uma delas é a fase replicativa em que ocorre intensa replicação viral e os níveis de AgHBe estão elevados, e a fase não replicativa com níveis de anticorpo anti-HBe elevados, indicativo de ausência de replicação do vírus, melhor prognóstico e conseqüente menor probabilidade de desenvolvimento de cirrose [6]. A presença e deteção do AgHBs por mais de 6 meses, tal como do anti-HBc total confirmam o diagnóstico de hepatite B crónica (*Figura III*). Na maioria destes pacientes, o título de anti HBc Ig M tem uma fração muito menor, porque não se trata de uma infecção recente (*Tabela IV*).

A ALT e a AST podem permanecer elevadas durante a fase crónica, mas nem sempre se correlacionam com a severidade da doença [4].

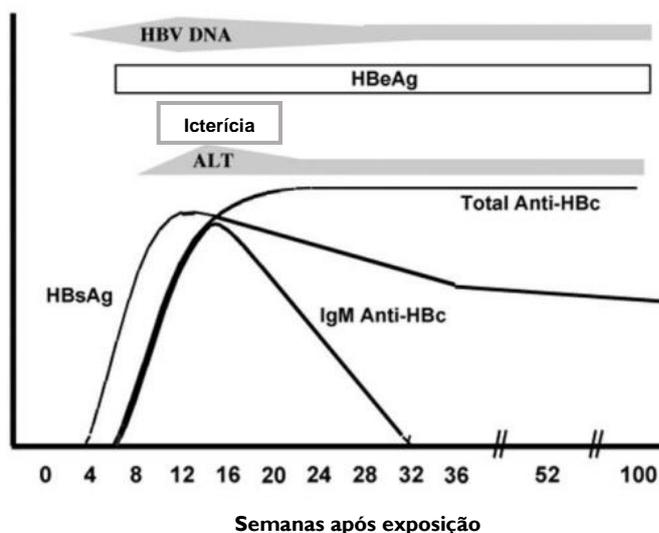


Figura III. Curso serológico e clínico durante a infecção crónica pelo vírus da Hepatite B (Adaptado de [4]).

Tabela IV. Interpretação de resultados serológicos da hepatite B (Baseado em [6]).

Painel Clínico	HbsAg	Anti-HBs	Anti-HBc total	Anti-HBc Ig M
Suscetível à infecção	-	-	-	-
Hepatite B aguda	+	-	+	+
Tempo de janela imunológica	-	-	+	-
Hepatite B crónica	+	-	+	-
Imunidade após infecção por VHB	-	+	+	-
Imunidade após vacinação	-	+	-	-

2.3.1.1 Hepatite C

O vírus da hepatite C (VHC) é um dos vírus hepáticos com maior taxa de mortalidade, em virtude de 80 a 85% dos indivíduos infetados evoluírem para hepatite crónica podendo desenvolver cirrose, hipertensão portal, disfunção hepática e carcinoma hepatocelular [8]. A maioria dos indivíduos são assintomáticos durante a infecção aguda, mas podem desenvolver fadiga, náuseas, icterícia com aumento das aminotransferases [8].

O VHC pertence à família Flaviviridae e é um vírus esférico, envelopado com um genoma de RNA de cadeia simples de polaridade positiva que entra nos hepatócitos por endocitose [8]. O seu genoma codifica diferentes proteínas: estruturais (proteína da cápside (C), proteínas do envelope (E1 e E2)) e não estruturais (NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) [9].

A transmissão pode ocorrer por via sexual, vertical ou percutânea (a mais comum) [8]. A rápida mutação do seu genoma e a existência de diferentes genótipos, sendo seis os principais, causa dificuldades no desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o vírus [8].

O vírus da hepatite C tem um período de incubação de 6 a 12 semanas, e para o seu diagnóstico podem ser utilizados imunoensaios para pesquisa de anticorpos específicos contra o VHC (anti-VHC) e métodos como o PCR para pesquisa de RNA viral [6].

Em alguns pacientes, os anticorpos anti-VHC permanecem indetetáveis entre 2 a 8 semanas após o início dos sintomas [6].

Na suspeita de infecção, no laboratório SynlabHealth Centro faz-se a pesquisa dos anticorpos anti-VHC. Se estes anticorpos forem detetados podemos apenas concluir que o indivíduo esteve exposto ao VHC, não nos permitindo saber se se trata de uma infecção passada ou se ainda continua ativa. Portanto, quando o resultado deste teste é positivo, como forma

de confirmação, a amostra é enviada para outro laboratório referenciado, e se solicitado, procede-se à pesquisa do genoma viral pelo método PCR.

A utilização deste método mais sensível e específico, permite-nos distinguir entre uma infecção ativa (vírus presente) ou infecção passada (vírus ausente). O PCR é também utilizado na monitorização da terapêutica e ainda como método de diagnóstico em indivíduos imunodeprimidos [6].

2.3.2 Vírus Epstein Barr (EBV)

O vírus Epstein Barr (EBV) é um herpesvírus, pertencente à sub-família *Gamaherpesvirinae*, com genoma de DNA de cadeia dupla que infeta e se replica nos linfócitos B. A infecção induz o aparecimento de linfócitos B atípicos (células de Dowey) cuja sua proliferação vai ser regulada por linfócitos T citotóxicos [6]. Nos indivíduos infetados é comum a ocorrência de linfocitose atípica, por vezes observada ao microscópio nos esfregaços sanguíneos [6].

A transmissão viral ocorre sobretudo através do contacto íntimo com a saliva de indivíduos infetados, sendo o EBV conhecido como o agente responsável pela manifestação mais comum, a Mononucleose Infeciosa, a “doença do beijo”.

A maioria das infecções ocorre em crianças e é geralmente assintomática, porém indivíduos adolescentes ou adultos podem apresentar sintomas como febre, adenopatias e faringite [10]. Depois da primeira infecção o vírus permanece latente no organismo podendo ocorrer reativações, tornando o indivíduo novamente contagioso [10].

Numa abordagem inicial de suspeita de mononucleose infecciosa, no laboratório SynlabHealth Centro é usado um teste imunocromatográfico que se baseia na pesquisa de anticorpos heterófilos produzidos pelo organismo em resposta à infecção pelo EBV. Contudo, este método tem uma menor sensibilidade em crianças e idosos uma vez que cerca de metade destes não produz estes anticorpos [11]. Devido à inespecificidade do teste, podem ocorrer reações cruzadas e muitas das vezes é feito o despiste de outras infecções virais como o Citomegalovírus Humano.

Noutros laboratórios pode ainda ser feita a pesquisa de anticorpos específicos (Imunoglobulina M (Ig M) e/ou Imunoglobulina G (Ig G) contra os antígenos virais: antígeno da cápside viral (VCA) e antígeno nuclear (EBNA) [10].

2.3.3 Citomegalovírus humano

O Citomegalovírus Humano (CMV) é um vírus envelopado constituído por uma cadeia dupla de DNA linear que integra a família Herpesviridae [6].

Na primoinfeção o CMV inicia a sua replicação nas células epiteliais do local de entrada, e é distribuído por via hematogénea pelo organismo. A replicação viral ativa é fortemente suprimida pela resposta imune adaptativa (mediada por linfócitos T e B) [12]. Depois desta resposta o vírus fica inativo (latente) nas células mieloides, podendo ocorrer reativações (mais frequente em indivíduos imunodeprimidos) por diferentes estímulos [12].

A infeção prévia não confere imunidade, podendo ocorrer reinfeção por estirpes diferentes [12].

A transmissão pode ocorrer por contacto sexual, transfusão sanguínea, transplante de órgãos e exposição a fluidos corporais infetados, nomeadamente saliva e a urina. A infeção neonatal é geralmente adquirida por via intrauterina, perinatal ou pós-natal [13].

Nos países desenvolvidos a infeção por CMV representa a maior causa de infeção congénita. Ocorre na fase virémica materna após uma primoinfeção ou a uma infeção secundária (reinfecção por outra estirpe ou reativação) [12]. Por estas razões, é importante a realização de um diagnóstico pré conceção e rastreio durante a gravidez.

As infeções primárias em indivíduos imunocompetentes são geralmente assintomáticas, contudo em imunodeprimidos há desenvolvimento de doença grave e/ou morte [13]. Por vezes, a sintomatologia clínica é semelhante a uma mononucleose por infeção primária por vírus Epstein-Barr, com linfocitose atípica e aumento das transaminases [13].

O diagnóstico é feito essencialmente por testes serológicos que detetam anticorpos contra o CMV (anti-CMV Ig M e Ig G) no soro, utilizando ensaios imunoenzimáticos (ELISA).

Os anticorpos anti-CMV Ig M são os primeiros a ser produzidos após a infeção e podem persistir detetáveis por vários meses [6].

A deteção dos anticorpos anti-CMV Ig G sugerem que se trata de uma infeção passada, porém estes anticorpos podem também ser detetados em casos de infeção recente ou reativação da infeção latente. Os testes de avidéz anti- CMV Ig G podem ser usados para distinguir entre infeção recente ou infeção passada, porém não são realizados no laboratório SynlabHealth.

2.3.4 Rubéola

A Rubéola é uma infeção muito contagiosa causada pelo vírus pertencente à família *Togaviridae* [6]. A transmissão ocorre através do contacto com aerossóis de secreções respiratórias de indivíduos infetados, infetando sobretudo crianças e jovens adultos [14].

A sintomatologia é bastante variável, mas em crianças é comum o surgimento de manifestações cutâneas (exantema) [14].

A infecção viral materna durante a gravidez leva a uma disseminação do vírus pelo seu organismo, podendo atingir a placenta, infetar o feto e provocar graves complicações [14]. A ocorrência de infecção durante o 1º trimestre da gravidez pode levar a quadros clínicos mais severos como a síndrome de rubéola congênita, aborto espontâneo ou até morte fetal [14].

O rastreio da rubéola é fundamental na pré conceção para que, caso a mãe não esteja imune possa ser vacinada, e também no 1º e 2º trimestre de gravidez permitindo o diagnóstico de forma a diminuir os riscos para o feto. No laboratório SynlabHealth Centro o diagnóstico é feito através da determinação dos anticorpos anti-vírus da Rubéola IgM e IgG.

2.4 TOXOPLASMOSE

A toxoplasmose é uma infecção causada pelo parasita *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular obrigatório que infeta cerca de um terço da população mundial [15].

A infecção pode ser adquirida por via oral, pela ingestão de cistos tecidulares presentes na carne crua mal cozinhada, ou pela ingestão de alimentos ou água contaminada por oocistos maduros eliminados nas fezes de gatos infetados [16]. Os felídeos são os únicos hospedeiros definitivos deste parasita, nos quais ocorre a reprodução sexuada e assexuada [16]. Contrariamente, nos restantes animais assim como no homem, apenas ocorre reprodução assexuada após a ingestão dos oocistos maduros que se transformam em taquizoítos e se disseminam na corrente sanguínea podendo atingir o cérebro, músculo esquelético e cardíaco, onde produzem cistos com bradizoítos no seu interior [17].

A transmissão pode também ocorrer por transfusão sanguínea, transplante de órgãos e durante a gravidez. Se uma mulher for infetada pode transmitir a infecção ao feto e causar severas complicações, principalmente se ocorrer no 1º e 2º trimestre [16]. Por esta razão, é fundamental que todas as mulheres que pretendem engravidar e grávidas participem em rastreios e, caso não sejam imunes recomenda-se a realização de exames periódicos durante toda a gravidez.

A maioria dos indivíduos imunocompetentes infetados são assintomáticos, exceto os recém-nascidos que podem evoluir para quadros de cegueira, encefalomielite, convulsões ou até morte [16].

O diagnóstico pode ser feito através de pesquisa de DNA de *Toxoplasma gondii* pela técnica de PCR ou por testes serológicos. No laboratório SynlabHealth Centro é feita a pesquisa de

anticorpos específicos Ig M e Ig G, e se solicitado, a amostra é enviada para outros laboratórios para realização do teste de avidéz das Ig G.

2.5 SÍFILIS

A Sífilis é uma infecção crónica causada pela espiroqueta *Treponema pallidum*, habitualmente transmitida por via sexual, podendo também ocorrer transmissão por via vertical ou por transfusão sanguínea.

No decorrer da doença podemos reconhecer diferentes fases de infeção: primária, secundária, latente e tardia [18].

Na fase primária há o desenvolvimento de uma lesão no local da inoculação, seguindo para uma fase secundária onde a espiroqueta se dissemina pela corrente sanguínea provocando diferentes manifestações clínicas [18]. Habitualmente, no decorrer da fase latente o indivíduo é assintomático, porém, os seus anticorpos podem ser detetados por métodos serológicos. A ausência de tratamento da infeção pode levar à evolução para uma fase terciária e resultar em problemas cardiovasculares e neurosífilis [18]. Na gravidez, o rastreio é muito utilizado para identificar recém-nascidos com risco de sífilis congénita, devendo ser feito sobretudo no 1º e 3º trimestre segundo a Norma da Direção-Geral da Saúde.

Os testes serológicos têm sido os principais métodos de rastreio, diagnóstico e monitorização da doença, dividindo-se em testes treponémicos e não treponémicos.

Os testes não treponémicos consistem na deteção de anticorpos não específicos (reaginas) para o *Treponema pallidum* e são geralmente detetáveis 3 a 4 semanas após a infeção [18]. O teste não treponémico utilizado no laboratório é o RPR (*Rapid Plasma Reagin*), uma versão modificada do teste VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*), que deteta reaginas Ig M e/ou Ig G presentes no soro ou plasma do doente, produzidas em resposta a materiais lipídicos, sobretudo cardiolipina, libertada das células hospedeiras danificadas ou das espiroquetas [19]. O teste utiliza partículas de carvão ligadas aos antígenos contendo cardiolipina, colesterol e lectina que reagem com os anticorpos presentes na amostra permitindo visualizar os aglutinados macroscopicamente [19]. Caso o resultado do teste RPR seja positivo é necessário fazer sucessivas diluições (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256...) para determinação do título de anticorpos, no qual o resultado considerado deverá ser o título de anticorpos da maior diluição em que é visível aglutinação.

Os testes treponémicos são utilizados para confirmação da infeção por *Treponema pallidum* devido à inespecificidade dos testes não treponémicos. O teste treponémico utilizado no laboratório é o TPHA (*Treponema Pallidum Hemagglutination Assay*), que consiste na pesquisa de anticorpos específicos contra a espiroqueta. No laboratório quando solicitada a técnica manual

TPHA é ainda realizada a pesquisa de anticorpos anti-*Treponema pallidum* no soro do utente, no equipamento ARCHITECT i1000sr.

2.6 EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-TIROIDE

A hormona tiroestimulante (TSH) é uma glicoproteína cuja secreção é regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise-tiroide [20]. A TSH é produzida e secretada pela adenohipófise e atua na glândula da tiroide estimulando o crescimento das suas células foliculares e a produção e libertação das hormonas tiroideias. Por sua vez, a produção da TSH é estimulada pela hormona libertadora de tireotrofina (TRH) que atua na adenohipófise e é produzida no hipotálamo [20].

Após o estímulo há secreção da TSH que se liga ao respetivo recetor (TSHr) localizado nas células foliculares da tiroide, levando à produção das hormonas tiroideias, a tiroxina ou tetraiodotironina (T4) e a triiodotironina (T3).

A T3 e a T4 são constituídas fundamentalmente por dois compostos: iodo e tirosina [20]. O iodo utilizado para a síntese destas hormonas deriva da alimentação, sendo absorvido na forma de iodeto e oxidado pela tireoperoxidase (TPO), enzima também responsável pela associação das moléculas de iodo com os grupos fenil da tirosina (ligados à tiroglobulina) [20].

A T3 é formada pela associação de uma moniodotirosina (MIT) com uma diiodotirosina (DIT), enquanto a T4 é formada pela associação de duas diiodotirosinas. A T4 circulante é sintetizada pela glândula da tiroide e apenas 20% da T3 tem a mesma origem, sendo a restante proveniente do processo de monodesiodação da T4 [16].

A produção de T3 e T4 é regulada pelo mecanismo de feedback negativo, ou seja, níveis diminuídos de T3 e T4 em circulação estimulam o hipotálamo e a adenohipófise a produzir TRH e TSH, respetivamente [16] (*Figura 4*). A elevação dos níveis de TSH por sua vez vai estimular a tiroide a produzir maiores quantidades de T3 e T4 de forma a repor os níveis equilibrados. Contrariamente, se os níveis de T3 e T4 estiverem aumentados, a libertação de TRH e TSH é inibida para que a tiroide não seja estimulada a produzir mais hormonas e desta forma seja repostado o equilíbrio dos seus níveis [16].

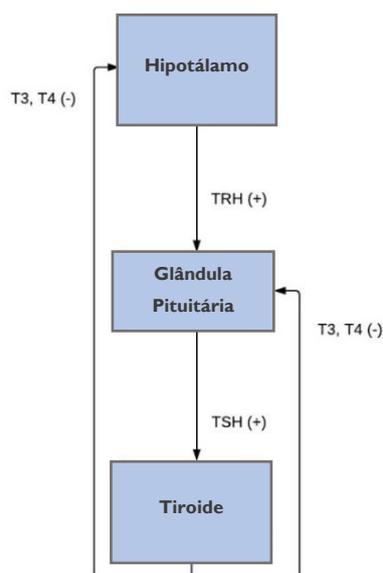


Figura IV. Eixo Hipotálamo Hipófise Tireoide (Adaptado de [21])

As hormonas da tiroide (T3 e T4) após serem libertadas, não circulam livres na corrente sanguínea e estão maioritariamente ligadas a globulinas transportadoras de tiroxina (TBG) ou a transtirretinas e albuminas [16]. Estas hormonas atuam na maioria das células do organismo aumentando a sua taxa metabólica com mobilização de reservas energéticas, promovendo o crescimento e desenvolvimento. Favorecem ainda o aumento da frequência cardíaca e da temperatura corporal [16].

No laboratório SynlabHealth Centro é feito o doseamento da TSH, T4 total (TT4) e T4 livre (FT4) e TT3 total (TT3) bem como dos anticorpos antiperoxidase (anti-TPO) e anticorpos anti-tireoglobulina (anti-TG).

2.6.1 Hipotiroidismo

O hipotiroidismo é uma patologia da tiroide definida pela deficiente produção de hormonas tiroideias (T3 e T4), podendo caracterizar-se fundamentalmente como primário ou secundário.

O hipotiroidismo primário ocorre em função de uma alteração na tiroide que impede a produção e/ou libertação de T3 e T4, levando à elevação dos níveis de TSH por meio de um mecanismo compensatório (mecanismo de feedback negativo) [20] (Tabela V). A principal causa de hipotiroidismo primário é a Tireoidite de Hashimoto, uma doença autoimune em que ocorre degeneração dos folículos da tiroide mediada por linfócitos T e B e autoanticorpos anti-TG e a anti-TPO [20]. O hipotiroidismo secundário é causado por uma disfunção na hipófise que inibe a secreção de TSH que por consequência não estimula a tiroide a produzir as hormonas tiroideias (T3 e T4), apresentando níveis baixos [20] (Tabela V).

Contudo, existem casos de hipotireoidismo subclínico em que as hormonas T3 e T4 podem apresentar níveis normais e apenas a TSH se encontrar aumentada [22].

É comum, os indivíduos com hipotireoidismo apresentarem sintomas como aumento do peso corporal, bradicardia e hipotensão, queda capilar, letargia, diminuição da temperatura corporal e intolerância ao frio [20].

2.6.2 Hipertireoidismo

O hipertireoidismo deriva da excessiva secreção de hormonas tiroideias (T3 e T4) causada por diferentes situações clínicas.

No hipertireoidismo primário, devido a uma disfunção na tiroide há hipersecreção das hormonas T3 e T4 levando a que pelo mecanismo de feedback negativo o organismo responda com a diminuição da libertação de TSH (*Tabela V*) [20]. Pelo contrário, no hipertireoidismo secundário os níveis de TSH estão elevados (ou normais) assim como os níveis de T3 e T4, podendo esta situação derivar de um tumor secretor de TSH (*Tabela V*) [20].

A presença de sintomas como diminuição do peso corporal com aumento do apetite, taquicardia e hipertensão, exoftalmia e aumento do ritmo metabólico com intolerância ao calor são comuns em indivíduos com hipertireoidismo [21].

Tabela V. Disfunções tiroideias e respetivos parâmetros analíticos (Baseado em [6]).

Disfunção	T4	Nível de TSH	Localização da disfunção
Hipotireoidismo primário	Baixo	Alto	Tiroide
Tiroidite de Hashimoto	Normal ou Baixo	Alto	Tiroide
Hipotireoidismo secundário	Baixo	Baixo ou normal	Glândula pituitária
Hipertireoidismo primário	Alto	Baixo	Tiroide
Doença de Graves	Alto	Baixo	Tiroide
Hipertireoidismo secundário	Alto	Alto ou normal	Glândula pituitária

2.7 MARCADORES TUMORAIS

2.7.1 Antígeno carboidrato 19.9 (CA 19.9)

O antígeno carboidrato 19.9 (CA 19.9) é um glicolípido utilizado na avaliação de cancros gastrointestinais (cancro colorretal, esofágico e do estômago), carcinoma pancreático e carcinoma hepatocelular [6].

Normalmente, doentes com este tipo de cancros apresentam níveis elevados deste marcador, porém não é específico e não deve ser correlacionado com presença ou ausência de malignidade [23]. Além disso, também pode ser observada elevação dos níveis séricos de CA 19.9 em indivíduos saudáveis, não devendo servir como método de rastreio e diagnóstico, sem serem realizados exames complementares (endoscopia, biópsia, ecografia) [23].

2.7.2 Antígeno carcinoembrionário (CEA)

O antígeno carcinoembrionário (CEA) é uma proteína predominantemente produzida pelas células dos tecidos embrionários durante o período de desenvolvimento fetal [6]. Logo após o nascimento, os indivíduos saudáveis passam a produzir esta proteína em baixas quantidades [26].

O CEA é um marcador não específico cuja elevação dos seus níveis séricos se correlaciona com patologias malignas como cancro colorretal, cancro da mama, cancro do colo do útero e cancro da tireoide [26]. É maioritariamente utilizado como biomarcador de prognóstico em doentes com cancro colorretal e para monitorizar a evolução do tumor após cirurgia ou terapêutica [26].

Contudo, o aumento do seu nível sérico não se associa apenas com malignidade e pode ser influenciado pela existência de distúrbios gastrointestinais (úlceras pépticas, pancreatite, doença inflamatória intestinal), hepáticos (hepatite alcoólica, hepatite crónica, doença colestática) ou hábitos tabágicos [26].

2.7.3 Antígeno específico da próstata (PSA)

O antígeno específico da próstata (PSA) é uma glicoproteína com função enzimática, uma serina protease produzida especificamente pelas células epiteliais da próstata que atua de modo a liquidificar o líquido seminal [6].

Primeiramente, é produzido nas células da glândula o pró-PSA que é depois convertido, já no canal prostático, em PSA ativo que acaba por ser libertado na circulação sanguínea. A maioria do PSA ativo circulante é depois conjugado com a proteína α 1-antiquimotripsina ou a α 2macroglobulina e o restante sofre proteólise e forma o PSA inativo ou “livre”. Ademais, define-se por PSA total a soma entre o PSA livre e o PSA conjugado [24].

À medida que os homens envelhecem os níveis de PSA total tendem a aumentar dentro da normalidade, como forma de adaptação às alterações da função reprodutiva, facilitando a migração dos espermatozoides [24]. No entanto, o surgimento de qualquer alteração anormal da próstata leva ao aumento na quantidade de PSA circulante. Por essa razão, o PSA não é um marcador específico do cancro da próstata uma vez que, o aumento dos seus níveis séricos não é só observado em situações malignas como também em traumas, prostatites e hiperplasias benignas [24]. O PSA é um biomarcador fundamentalmente utilizado para avaliar recidivas e monitorizar a resposta ao tratamento contra o cancro da próstata.

A aplicação clínica da relação entre PSA livre e PSA total permite distinguir entre situações benignas e malignas. Indivíduos com cancro da próstata apresentam uma razão PSA livre/PSA total diminuída [24]. Isto explica-se porque o PSA produzido pelas células malignas escapa ao processo proteolítico, levando à diminuição dos níveis de PSA livre e ao aumento dos níveis de PSA conjugado com a proteína α 1-antiquimotripsina [24]. Contrariamente, a razão PSA livre/PSA total tende a aumentar em situações benignas [24].

A amostra para o doseamento do PSA deve ser colhida tendo em consideração alguns aspetos importantes [25]. É recomendado que o utente antes da colheita não tenha relações sexuais durante as últimas 48 a 72 horas e não realize exercícios físicos que causem impacto no períneo. De salientar que, a colheita deve ser preferencialmente realizada antes de o utente sofrer qualquer manipulação prostática (ex: toque rectal, biópsia, etc.) e caso tenha sofrido uma infeção do trato urinário, deverá ser adiada a recolha da amostra [25].

3 MICROBIOLOGIA

O setor da microbiologia é fundamental para a pesquisa e identificação do microrganismo causador de infecção, tal como para a sua debelação, reconhecendo qual o antimicrobiano mais indicado para o combater.

As análises microbiológicas são processadas em diferentes tipos de amostras: urina, fezes, exsudados, secreções e outros produtos biológicos. Primeiramente deve proceder-se ao exame cultural que consiste na inoculação da amostra num meio de cultura apropriado ao crescimento do microrganismo. De seguida, se aplicável, é realizado o exame direto que consiste na observação de lâminas a fresco ou coradas com técnicas apropriadas ao microscópio ótico.

O *Vitek 2 Compact* é o equipamento automatizado utilizado no setor da microbiologia que tem como função a identificação de microrganismos e a realização de testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA).

No laboratório SynlabHealth Centro as análises microbiológicas mais comuns são a urocultura, a coprocultura e o exame parasitológico.

A urocultura é solicitada em situações em que há suspeita de infeções do trato urinário (UTI) e os agentes causadores são sobretudo bactérias (*Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Enterococos*, *Staphylococcus*) e fungos (*Candida*). O exame microbiológico da urina consiste no isolamento, identificação e quantificação dos microrganismos presentes na urina e ainda na observação ao microscópio ótico do sedimento urinário para a pesquisa de células epiteliais, eritrócitos, leucócitos, cilindros, cristais, parasitas, etc.

No laboratório, a amostra de urina é primeiramente homogeneizada e depois semeada, com uma ansa estéril de 1 µL, no meio de cultura CPSE (ChromID® CPS® Elite). O CPSE é um meio cromogéneo que devido aos seus substratos permite identificar diretamente ou presuntivamente alguns microrganismos pelas suas atividades enzimáticas específicas. A placa é incubada a 37°C e após 24 horas é analisada e procede-se à identificação do microrganismo (se necessário, caso o meio não faça a identificação) e realização dos TSA no equipamento *Vitek 2 Compact*.

A coprocultura é realizada para pesquisa sobretudo de *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter* e a inoculação é feita em meio MacConkey e Hektoen, gelose Campyloset e caldo de selenito (meio de enriquecimento). Após 24 horas de incubação a 37°C a amostra em caldo de selenito é inoculada em meio Hektoen e os resultados são lidos após as 24 horas de incubação.

O exame parasitológico é baseado no método Baileger (princípio de sedimentação), procedendo-se à centrifugação do concentrado e observação do sedimento ao microscópio ótico para pesquisa de parasitas ou outras estruturas como ovos e quistos.

4 HEMATOLOGIA

A Hematologia, como uma das bases fundamentais das análises clínicas, dedica-se ao estudo rigoroso de todos os componentes do sangue e suas alterações, com o objetivo de identificar possíveis disfunções com impacto na saúde do utente.

O processo de produção, diferenciação e maturação das células sanguíneas designa-se por hematopoiese. Durante o período embrionário é no saco vitelino onde são produzidas as primeiras células sanguíneas e durante o desenvolvimento do feto passa a ocorrer no fígado e no baço [27]. A partir dos 5 a 9 meses até à vida adulta, este processo ocorre na medula óssea, o maior reservatório de células estaminais hematopoiéticas com capacidade de autorrenovação e diferenciação [27]. As células estaminais em resposta a fatores de crescimento hematopoiéticos produzidos na medula, originam duas principais linhagens: mieloide e linfoide (Figura V).

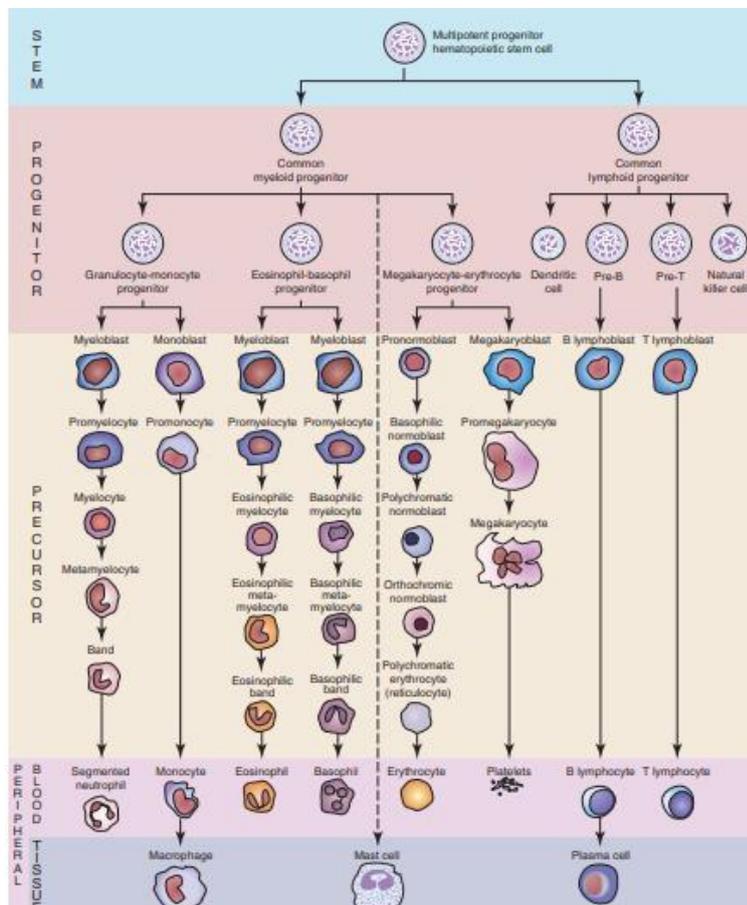


Figura V. Esquema representativo do processo de diferenciação e maturação dos diferentes tipos de células sanguíneas (hematopoiese). (Disponível em [28]).

As células da linhagem mieloide derivam da diferenciação, proliferação e maturação da célula progenitora mieloide (*Figura V*) [29]. A linhagem mieloide subdivide-se em diferentes linhagens, a linhagem eritroide, megacariocítica, monocítica e granulocítica, que culminam na produção de células sanguíneas maduras [28].

A eritropoietina é a principal hormona responsável pela manutenção da linhagem eritroide, durante o processo de produção dos glóbulos vermelhos (eritropoiese). Durante este processo que ocorre na medula óssea há diferenciação das células progenitoras e suas precursoras, desde o pró-eritroblasto até ao reticulócito que é depois libertado na corrente sanguínea [27]. Os reticulócitos desenvolvem-se em eritrócitos que possuem um tempo médio de vida de 120 dias.

A trombopoietina é uma hormona distinta que, estimula a formação de plaquetas a partir da fragmentação do citoplasma dos megacariócitos maduros formados durante a megacariopoiese [27].

Os leucócitos dividem-se em granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e agranulócitos (linfócitos e monócitos). A linhagem granulocítica produz os granulócitos e a linhagem monocítica produz os monócitos. A linhagem linfoide advém da célula progenitora linfoide que se diferencia e origina os linfócitos B e T e células *natural killer*. Durante a linfopoiese, a maturação dos linfócitos B e T ocorre na medula óssea e no timo, respetivamente.

4.1 DETERMINAÇÃO ANALÍTICA

No laboratório SynlabHealth Centro uma das análises mais solicitadas é o hemograma que permite avaliar qualitativamente e quantitativamente as células sanguíneas. O esfregaço de sangue periférico (ESP) é ocasionalmente pedido como complemento ao hemograma, para observação de possíveis alterações celulares, sendo também visto sempre que o especialista solicita. O mielograma e o esfregaço de medula óssea para observação de células maduras e seus precursores, não são realizados no laboratório, mas podem ser solicitados como exames complementares de diagnóstico e enviadas para outros laboratórios referenciados. A contagem de reticulócitos é outra análise também por vezes pedida.

4.1.1 Hemograma

O hemograma é uma análise que fornece informações substanciais relativamente ao estado de saúde do utente. Por esta razão, é muitas vezes pedido em contexto de rotina como

também em situações de suspeita de infecções, anemia ou outras disfunções do sistema hematopoiético.

O tubo de colheita utilizado para a análise contém anticoagulante EDTA, que preserva a morfologia das células sanguíneas e funciona como quelante ligando-se ao cálcio presente na amostra impedindo a agregação plaquetária [30]. O EDTA tripotássico é o mais utilizado devido às suas propriedades que permitem a melhor preservação da morfologia celular.

A amostra é processada no equipamento Sysmex XN-550 que utiliza diferentes metodologias na análise do produto biológico. As técnicas fundamentalmente utilizadas pelo equipamento são a citometria de fluxo, o método de impedância com focalização hidroelétrica e o método de hemoglobina-lauril sulfato de sódio (HBG-SLS) (Figura VI) [30]. A citometria de fluxo permite diferenciar as populações dos leucócitos através do seu tamanho e complexidade celular.



Figura VI. Métodos utilizados pelo equipamento Sysmex XN-550.

O hemograma completo permite avaliar diferentes parâmetros sanguíneos como, a hemoglobina, o hematócrito, índices eritrocitários e plaquetários e contagem de células sanguíneas (eritrócitos, leucócitos e plaquetas).

i. Eritrograma

- **Eritrócitos (RBC):** representa o número total de glóbulos vermelhos por volume total de sangue (células/L).
- **Hemoglobina (Hb):** expressa a quantidade de hemoglobina por unidade de volume de sangue, sendo expressa em gramas por decilitro (g/dL). A sua determinação é importante no diagnóstico de anemias, encontrando-se diminuída nestas situações.
- **Hematócrito (Ht):** representa a percentagem (%) de volume ocupado pelos eritrócitos no volume total de sangue. Em situações de desidratação (hipovolémia) os seus valores são altos e em situações de hipervolémia os valores são baixos [31].
- **Volume Corpuscular Médio (VCM):** corresponde à média do volume dos eritrócitos, sendo expresso em fentolitros (fL).
- **Hemoglobina Corpuscular Média (HCM):** diz respeito à quantidade média de hemoglobina existente em cada eritrócito, a unidade é picogramas (pg).

- **Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM):** expressa a concentração média de hemoglobina por eritrócito em gramas por decilitro (g/dL). O HCM e o CHCM permitem classificar a anemia em hipocrômica ou normocrômica.
- **Distribuição do diâmetro dos eritrócitos (RDW):** traduz o índice de anisocitose dos eritrócitos na amostra sanguínea, ou seja, avalia a variação da distribuição dos seus tamanhos expresso em percentagem (%). Este parâmetro auxilia no diagnóstico das anemias microcíticas hipocrômicas permitindo distinguir entre anemia sideropénica (RDW aumentado) e talassémia (RDW normal). Na anemia sideroblástica o RDW está frequentemente aumentado [32].

ii. Leucograma

- **Leucócitos (WBC):** corresponde ao número total de glóbulos brancos por unidade de volume total de sangue (células/L).
- **Contagem diferencial de glóbulos brancos**

O leucograma inclui a avaliação quantitativa dos glóbulos brancos totais bem como das diferentes células da série branca: neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos. A contagem destas células pode ser apresentada em unidade de volume total de sangue (células/L) ou em percentagem/valor relativo (%).

A neutrofilia é comum em situações inflamatórias e infeções, enquanto a eosinofilia está normalmente associada a infeções parasitárias e doenças alérgicas [32]. O aumento isolado dos basófilos é incomum, porém é habitual em patologias mieloproliferativas [32]. As infeções virais ou doenças linfoproliferativas (leucemia linfocítica e linfomas) induzem um aumento dos linfócitos [32]. A monocitose pode estar associada a alguns tipos de infeções protozoárias, bacterianas e rickettsioses ou doenças neoplásicas [32].

iii. Plaquetas

- **Contagem de Plaquetas:** corresponde ao número total de plaquetas por volume total de sangue (células/L).
- **Volume Plaquetar Médio (VPM):** corresponde à média do volume das plaquetas, sendo expresso em femtolitros (fL).

Quando o número de plaquetas é inferior ao normal, o laboratório deve garantir que o resultado reflete o estado clínico do utente e que não se deve à presença de coágulos na amostra sanguínea. Nestas situações, se não forem observáveis coágulos deve proceder-se à realização de um esfregaço sanguíneo para esclarecer a possível existência de aglomeração plaquetária ou episódios de satelitismo plaquetar que levem a uma falsa trombocitopenia causada pelo anticoagulante EDTA presente no tubo de colheita. Neste contexto, podem ser

usadas amostras contendo outro tipo de anticoagulante para confirmação dos resultados obtidos.

4.1.2 Esfregaço de sangue periférico, coloração e observação ao microscópio

O esfregaço de sangue periférico é por vezes solicitado paralelamente ao hemograma para análise microscópica dos elementos celulares do sangue. A técnica consiste no espalhamento de uma gota de sangue sobre uma lâmina para posterior observação microscópica. Para desempenhar a técnica são necessárias duas lâminas de microscopia, numa delas é adicionada uma pequena gota de sangue na sua extremidade e através do deslizamento da outra lâmina cria-se uma fina camada de sangue.

Após a secagem completa do sangue na lâmina, é feita a coloração de May-Grunwald-Giemsa que utiliza um corante ácido (eosina) e um corante básico (azul de metileno). O corante ácido reage com os componentes básicos das células (citoplasma) e cora-os de vermelho, enquanto o corante básico reage com os componentes ácidos das células (RNA, nucléolos) e cora-os de azul.

Durante a observação ao microscópio, a escolha do campo deve ser feita com a ampliação de 10x, e seguidamente observa-se com a ampliação de 40x se há concordância com os parâmetros do hemograma podendo proceder-se à contagem de células. A ampliação de 100x é utilizada para a observação das anomalias morfológicas dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas. A observação de células imaturas no esfregaço sanguíneo é geralmente indicadora de doença subjacente.

4.1.3 Reticulócitos

Os reticulócitos são células imaturas produzidas na medula óssea que são libertadas para a corrente sanguínea onde completam a sua maturação. A eritropoietina estimula a libertação destas células que, durante a sua maturação (2 a 3 dias) sofrem perda do seu restante material nuclear (ácido ribonucleico) [32]. As situações de hipoxia tecidual funcionam como estímulo para a produção de eritropoietina, que por sua vez estimula de forma exacerbada a medula óssea a produzir e a libertar prematuramente estas células imaturas para a circulação sanguínea, que possuem maior quantidade de material basófilo [32].

A contagem de reticulócitos auxilia na avaliação da resposta medular, permitindo distinguir entre anemias hiporregenerativas e regenerativas. Nas anemias regenerativas o número de reticulócitos circulantes é superior ao normal, ou seja, a eritropoiese está a ocorrer eficazmente, verificando-se sobretudo nas anemias hemolíticas ou nas anemias devido a hemorragias. Por outro lado, nas anemias hiporegenerativas, como por exemplo a anemia

ferropénica e a anemia megaloblástica, o número de reticulócitos é inferior ao normal devido à eritropoiese ineficaz [32].

4.2 ANEMIAS

A anemia define-se por uma situação clínica que resulta de uma deficiência na concentração de Hb no sangue, de acordo com a idade e o sexo do indivíduo. Durante o processo de classificação do tipo de anemia é importante relacionar a contagem de reticulócitos com a morfologia dos glóbulos vermelhos de modo a chegar a conclusões relativas acerca de etiologia da patologia.

As anemias podem ser classificadas quanto à morfologia, de acordo com os três índices eritrocitários (VGM, HGM e CHGM) em anemias microcíticas e hipocrómicas, anemias normocíticas e normocrómicas e anemias macrocíticas (*Tabela VI*). As anemias microcíticas e hipocrómicas resultam de uma alteração na produção da hemoglobina, a nível da formação do grupo hémico (ex: anemia sideropénica e sideroblástica) ou da formação das globinas (ex: talassémias). As anemias macrocíticas podem ser classificadas em megaloblásticas e não megaloblásticas. As anemias megaloblásticas derivam de deficiências de vitamina B12 ou ácido fólico importantes na síntese do DNA, induzindo um atraso na maturação do núcleo relativamente ao citoplasma (macrocitose dos eritrócitos). As anemias normocíticas e normocrómicas estão normalmente associadas a falência da medula óssea, doença crónica, insuficiência renal, hemorragias, hemólise de causa autoimune entre outras razões [33].

Os parâmetros do hemograma são de extrema importância no diagnóstico das anemias, porém este deve ser complementado com alguns parâmetros bioquímicos para esclarecer saber qual etiologia da doença. A *Tabela VII* reúne informação sobre alguns tipos de anemias, assim como as alterações dos parâmetros hematológicos e bioquímicos característicos de cada uma delas.

Tabela VI. Classificação das anemias de acordo com os índices eritrocitários (VGM, HGM e CHGM) (Baseado em [27]).

Anemia microcítica hipocrómica	Anemia normocítica normocrómica	Anemia macrocítica
VCM < 80 fL (microcitose) HCM < 27 pg (hipocromia)	VCM 80-95 fL HCM > ou igual a 27 pg	VCM > 95 fL
Anemia Ferropénica Talassémias Anemia sideroblástica	Anemia hemolítica Hemorragias Patologia renal Anemia de doença crónica	Megaloblástica: défice de vitamina B2 ou de ácido fólico Não megaloblástica: Álcool, hepatopatia

Tabela VII. Classificação do tipo de anemia de acordo com as alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos característicos (Baseado em [34] e [33]). ↓ Valor diminuído; ↑ Valor aumentado; N- Valor Normal

Anemias	Hemograma e parâmetros bioquímicos	Esfregaço sanguíneo
<u>Anemia Sideropénica</u> (deficiência de ferro)	VGM e HCM ↓, Reticulócitos ↓, RDW ↑ Ferro sérico, Ferritina e Saturação da transferrina ↓ Capacidade Total Fixação de Ferro (TIBC) ↑	Microcitose e hipocromia, anisopoiquilocitose, células em alvo e células em pincel
<u>Talassémias</u> (deficiência na síntese de uma ou mais cadeias globínicas)	VGM e HCM ↓; RDW normal ou ↑ (raro); Reticulócitos ↓ Ferro sérico, Ferritina, TIBC e Saturação da transferrina N Eletroforese de hemoglobina para quantificação e identificação dos diferentes tipos de hemoglobina	Microcitose e hipocromia
<u>Anemia de Doença Crónica</u>	VGM e HCM ↓ ou N Ferro ↓ e Saturação da transferrina ↓; Ferritina ↑; TIBC N ou ↓; VS e RCP ↑; Fibrinogénio ↑	Microcitose e hipocromia ou normocitose e normocromia <i>rouleaux</i> , neutrofilia, anisocitose e poiquilocitose
<u>Anemia megaloblástica</u> (défice de vitamina B12 e/ou ácido fólico ou defeitos na síntese do ADN)	VGM e HCM ↑, Reticulócitos ↓ e RDW ↑ Vitamina B12 e/ou Folatos ↓	Macrócitos, anisocitose, poiquilocitose, eritrócitos em forma de gota, hipersigmentação dos granulócitos, corpos de Howell-Jolly
<u>Anemia Hemolítica</u> (destruição acentuada de eritrócitos)	Reticulócitos ↑ Bilirrubina indireta ↑; LDH ↑; Haptoglobina ↓ Teste de Coombs: positivo (anemia autoimune) Eletroforese de hemoglobina para quantificação e identificação dos diferentes tipos de hemoglobina	Eritroblastos, policromasia Em alguns casos: drepanócitos, eliptócitos, esquizocitos, esferócitos

4.3 HEMOSTASE

A hemostasia engloba um conjunto de mecanismos que atuam de forma coordenada e simultânea com o objetivo de interromper a hemorragia, atuando no local durante um período limitado sem comprometer o restabelecimento do seu equilíbrio [35]. Os principais elementos integrantes deste mecanismo são as plaquetas, os fatores de coagulação, os inibidores de coagulação, os ativadores e inibidores da fibrinólise (sistema fibrinolítico) e as células endoteliais [34]. A existência de desequilíbrios entre a atividade pró e anticoagulante induz processos de trombose e doenças hemorrágicas. Este mecanismo subdivide-se em três processos: hemostase primária, secundária (coagulação) e fibrinólise.

A hemostase primária tem início numa lesão vascular que desencadeia de forma imediata o mecanismo de vasoconstrição, sucedendo-se a adesão e agregação das plaquetas, com formação do trombo plaquetar [27]. A coagulação é ativada em cascata por ação proteolítica de enzimas do sistema pró-coagulante, levando à formação de trombina que converte o fibrinogénio em fibrina e estabiliza o trombo plaquetar [27].

A cascata da coagulação possui duas vias, a via extrínseca e a intrínseca que convergem numa via comum (X, V, II e Fibrinogénio) [27]. Na via extrínseca o fator VII quando em contacto com o fator tecidual libertado após a lesão do vaso (tromboplastina) ativa diretamente o fator X, enquanto na via intrínseca a ativação apenas ocorre quando o fator XII contacta com o colagénio presente no endotélio vascular [27].

A síntese hepática dos fatores II, VII, IX e X dependem de vitamina K cuja deficiência pode levar a défices destes fatores de coagulação [34].

Por fim, entra em funcionamento o processo de dissolução do coágulo pela ação da plasmina que degrada a fibrina, este processo designa-se por fibrinólise. O desequilíbrio da atividade pró-coagulante (ex: deficiência de fatores de coagulação) pode desencadear doenças hemorrágicas enquanto o desequilíbrio da atividade anticoagulante aumenta o risco de processos trombóticos.

4.3.1 Avaliação laboratorial da hemostase

O tubo de colheita utilizado para análise da hemostasia contém anticoagulante citrato de sódio (1:9), que inibe a cascata da coagulação pela ligação aos iões de cálcio. A amostra é depois centrifugada a 3000 rotações por minuto durante 10 minutos e o plasma é utilizado para a análise.

O laboratório SynlabHealth Centro possui o equipamento SYSMEX CA-600 que utiliza um método que determina o tempo de coagulação medindo as alterações na dispersão da luz devido ao aumento da turvação à medida que o fibrinogénio se transforma em fibrina. O equipamento faz as seguintes análises: tempo de tromboplastina parcial ativado, tempo de protrombina e doseamento do fibrinogénio.

i. Tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa)

O tempo de tromboplastina ativado obtém-se pela adição de um fator que ativa a via intrínseca da coagulação, sendo depois adicionado cálcio ao plasma desencadeando a coagulação [27]. O TTPa corresponde ao tempo, em segundos, entre a adição de cálcio e a coagulação do plasma, permitindo avaliar a via intrínseca e via comum (*Figura VII*) [36]. O aumento isolado do TTPa é observado em deficiências do fator XI (hemofilia B) e do fator VIII (hemofilia B) [36].

ii. Tempo de protrombina (TP)

O tempo de protrombina é obtido pela adição de fator tecidual (tromboplastina) ao plasma do doente, que ativa a via extrínseca e converte a protrombina em trombina. Seguidamente é adicionado cálcio com o objetivo de desencadear a coagulação [27]. O TP corresponde ao intervalo de tempo, em segundos, entre a adição do cálcio e a ocorrência da coagulação, permitindo avaliar a via extrínseca (VII) e a via comum (X, V, II e Fibrinogénio) (Figura VII) [36]. O TP é utilizado para controlo da capacidade de síntese hepática, diagnóstico de disfunções e deficiências de fatores de coagulação, bem como para monitorizar e regular terapia com anticoagulantes orais [37].

Por sua vez, a monitorização da terapêutica com anticoagulante (ex: antagonistas da vitamina K) é feita através do cálculo do INR (*International Normalised Ratio*), possibilitando ajustar a dose ideal ao paciente [36]. O INR foi desenvolvido pela Organização Mundial de Saúde de modo a padronizar os resultados do TP obtidos e é calculado da seguinte forma [36].

$$\text{INR} = (\text{TP da amostra} / \text{TP de controlo})^{\text{ISI}}$$

*ISI (Índice de Sensibilidade Internacional) é fornecido pelo fabricante para cada lote de reagente.

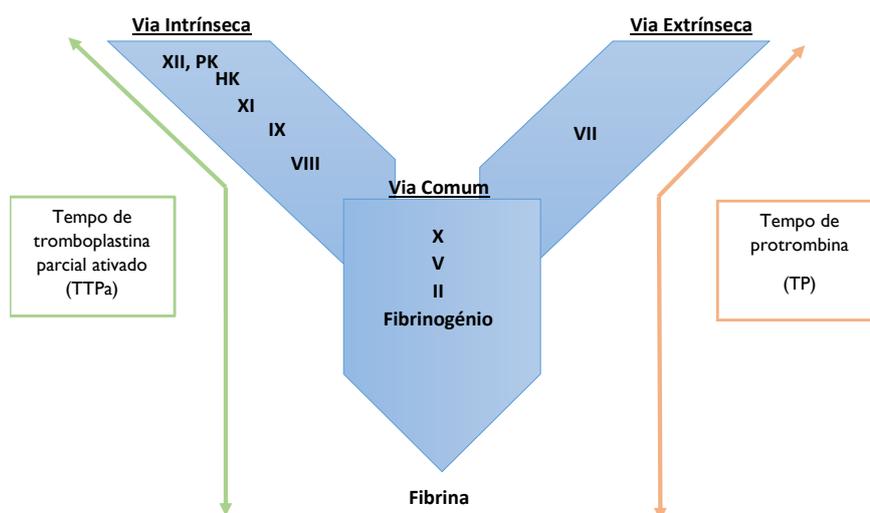


Figura VII. Cascata de coagulação (via intrínseca, via extrínseca e via comum) (Adaptado de [27]).

iii. Fibrinogénio

O fibrinogénio ou fator I, é uma glicoproteína sintetizada no fígado que pela ação da trombina é convertida em fibrina, formando o coágulo sanguíneo. A elevação do seu valor pode ser observada na gravidez e em processos inflamatórias (proteína de fase aguda) [36]. Níveis muito elevados estão associados a situações de sépsis e potenciam o risco de trombose e enfarte do miocárdio devido à hipercoagulabilidade [36]. Pelo contrário, níveis baixos de fibrinogénio podem ser provocados devido a problemas hepáticos ou a deficiências hereditárias (hipofibrinogenemia e afibrinogenemia) ou adquiridas, aumentando o risco de hemorragia [27].

iv. D-dímeros

Os D-dímeros são produtos específicos da degradação da fibrina (fibrinólise) e são utilizados como marcador de hipercoagulação, auxiliando fundamentalmente o diagnóstico de patologias ou quadros trombóticos [38]. Os níveis elevados deste marcador são frequentes em situações pós-operatórias e pós-traumáticas ou distúrbios como a coagulação intravascular disseminada, embolia pulmonar e trombose venosa profunda [36].

Os D-dímeros são doseados no plasma obtido por citrato de sódio (1:9), no equipamento ARCHITECT c8000 utilizando o método de imunoturbidimetria.

4.4 VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO DO SANGUE

A velocidade de sedimentação do sangue (VS) consiste na determinação da velocidade com que os eritrócitos presentes na amostra sanguínea sedimentam durante um período de tempo estabelecido. A metodologia utilizada nesta análise baseia-se no método de *Westergreen* em que a amostra de sangue com anticoagulante é colocada num tubo com determinado comprimento e diâmetro, devendo ser mantido em repouso e na vertical durante o período da análise [39]. A leitura é feita no limite de separação dos eritrócitos com o plasma e o resultado é expresso em milímetros por hora (mm/h).

A VS é uma análise bastante inespecífica e o seu valor está aumentado em diversas circunstâncias, não devendo ser isoladamente interpretado. Os valores desta análise encontram-se normalmente aumentados em situações que alteram a viscosidade do sangue como em anemias, infeções, doenças inflamatórias (ex: artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistémico) e neoplasias (ex: linfomas) [32]. As infeções e as inflamações promovem a elevação das concentrações de fibrinogénio, proteínas de fase aguda e imunoglobulinas que favorecem a agregação eritrocitária (formação de *rouleaux*), aumentando a VS. Por sua vez, a VS é ainda utilizada para a monitorizar doenças inflamatórias ou respostas à terapêutica em casos como mieloma múltiplo, linfomas e doenças reumáticas [32].

No laboratório SynlabHealth Centro, as amostras para a realização da análise VS são colhidas para tubos com anticoagulante citrato de sódio (1:4) ou com anticoagulante EDTA tripotássico. Anteriormente à colocação da amostra no equipamento VES MATIC 30, o tubo é homogeneizado e ao fim de cerca de 20 minutos a leitura do resultado é feito. O resultado pode ser influenciado pela idade, ciclo menstrual ou até pelo uso de determinados medicamentos.

5 BIOQUÍMICA

A bioquímica clínica é uma área de grande relevância nos laboratórios de análises clínicas uma vez que, a maioria das análises solicitadas integram este setor e os parâmetros analíticos de urgência hospitalar são sobretudo bioquímicos.

No laboratório SynlabHealth Centro a determinação destes parâmetros é feita sobretudo no equipamento ARCHITECT c8000 e no ARCHITECT c4000 que integra métodos fotométricos, potenciométricos e turbidimétricos. Os equipamentos iChemVELOCITY e Bio Rad D-10 também compõem este setor sendo responsáveis pela análise sumária de urina e pela determinação da hemoglobina glicada, respetivamente.

O doseamento dos parâmetros bioquímicos séricos e urinários permite fazer o estudo de diferentes funções no nosso organismo, sendo importante relacionar os diferentes marcadores visto que muitos não são específicos de um determinado órgão e se relacionam com diferentes funções (*Tabela VIII*).

Tabela VIII. Parâmetros bioquímicos e diferentes aplicabilidades.

Aplicabilidade	Parâmetros
<u>Equilíbrio hidroeletrólítico</u>	Ionograma (Sódio, Potássio e Cloretos)
<u>Função renal</u>	Creatinina, Ureia, Ácido úrico Microalbuminúria e Proteínúria
<u>Função hepática</u>	Bilirrubina, AST e ALT, Fosfatase Alcalina, Gama-Glutamiltransferase
<u>Perfil lipídico</u>	Colesterol total, HDL, LDL, Triglicéridos
<u>Regulação da glicémia</u>	Glicose, Hemoglobina Glicada (Hb1Ac)
<u>Metabolismo das proteínas</u>	Proteínas totais, Albumina, Proteína C reativa Eletroforese de proteínas
<u>Lesão do miocárdio</u>	Creatina Cinase (CK) e CK-MB, Troponina I cardíaca de alta sensibilidade, Mioglobina, Proteína C reativa, LDH
<u>Lesão celular</u>	AST, ALT, LDH, CK, Mioglobina
<u>Metabolismo mineral</u>	Cálcio, Fosfato, Magnésio, Vitamina D

No equipamento iChemVELOCITY é realizada a análise sumária de urina ou urina tipo II para avaliação de patologias renais, hepáticas ou metabólicas (ex: diabetes *mellitus*). O método de funcionamento do equipamento consiste na utilização de tiras-teste que são impregnadas com amostra de urina e lidas por refletância para a determinação semiquantitativa do pH, leucócitos, nitritos, proteínas, glicose, corpos cetónicos, urobilinogénio, bilirrubina, eritrócitos. Relativamente à determinação da densidade, é utilizado o índice de refração. Por fim, a amostra é centrifugada e avaliado o sedimento urinário ao microscópio ótico.

6 CASOS CLÍNICOS

CASO CLÍNICO I

Um utente de 69 idade dirigiu-se ao laboratório SynlabHealth Centro onde realizou análises laboratoriais que apresentam os resultados apresentados. O utente foi diagnosticado com um linfoma linfoplasmocítico (LPL) e realizou posteriormente tratamento. Os resultados designados por “resultados 1” são referentes às análises feitas pelo utente antes de saber o diagnóstico, enquanto os “resultados 2” são após o tratamento (Tabela IX).

Tabela IX. Resultados dos parâmetros hematológicos e bioquímicos do caso clínico 1.

Parâmetro	Resultados (antes do diagnóstico)	Resultados (após tratamento)	Intervalo de referência / Unidades
Hematologia			
Eritrócitos	3.23	3.67	4.50-5.60 ×10 ¹² / L
Hemoglobina	8.6	9.8	13.7-17.2 g/dL
Hematócrito	29.5	34.1	40.0-50.0%
VGM	91	93	83-98 fL
HGM	27	29	28-32 pg
CHGM	29	34	32-36 g/dL
RDW	18.7	19.1	11.6-14.1%
Leucócitos	7.25	3.86	3.70-9.50 ×10 ⁹ / L
Neutrófilos	2.58	1.89	1.50-6.50 ×10 ⁹ / L
Eosinófilos	0.02	0.10	0.02-0.67 ×10 ⁹ / L
Basófilos	0.02	0.01	<0.13 ×10 ⁹ / L
Linfócitos	3.59	1.52	1.10-3.50 ×10 ⁹ / L
Monócitos	1.05	0.34	0.21-0.92 ×10 ⁹ / L
Plaquetas	60	173	170-430 ×10 ⁹ / L
Reticulócitos	-	3.6	0.5-1.5%
Velocidade de Sedimentação	123	28	<10 mm/h
Bioquímica			
Ferro (Siderémia)	221	94	41-141 µg/dL
Ferritina	1018	879	29.0-248.0 µg/L
Bilirrubina total	0.94	0.79	0.20-1.20 mg/ dL
Bilirrubina conjugada	0.52	0.26	<=0.50 mg/dL
Aspartato- aminotransferase (AST)	46	23	5-34 UI/L
Alanina-aminotransferase (ALT)	58	27	<45 UI/L
Fosfatase alcalina (ALP)	54	206	40-150 UI/L
Gamaglutamil transferase (GGT)	65	67	<55 UI/L
Desidrogenase láctica (LDH)	1065	395	125-220 UI/L
Proteína Amiloide A	15.9	-	<6.4 mg/L
Proteínas totais	10.7	6.8	6.4-8.3 g/dL
Beta-2-microglobulina	2.28	1.85	0.97-2.64 mg/dL

Relativamente aos “resultados I” (Tabela IX), com a análise do hemograma, face à diminuição do número de eritrócitos, do valor da hemoglobina e do hematócrito o utente apresenta uma anemia do tipo hipocrómica uma vez que, os índices HGM e CHGM estão diminuídos. O valor do RDW aumentado traduz uma acentuada anisocitose, observada posteriormente essa grande diferença de tamanhos entre os glóbulos vermelhos no ESP. Com a avaliação do leucograma é notável um ligeiro aumento da subpopulação dos linfócitos sem que ocorra leucocitose. Por outro lado, o utente tem uma trombocitopenia que poderá estar relacionada com alguma infiltração plasmocitária na medula óssea associada a esta patologia, levando a uma redução na produção destas células sanguíneas.

O estudo morfológico do sangue periférico revelou ainda na série vermelha uma poiquilocitose ligeira, hipocromia, policromatofilia e presença de eritroblastos. A observação de eritroblastos e policromatófilos não é comum em ESP de indivíduos saudáveis, podendo estar relacionada com um quadro hemolítico. Relativamente, à série branca foi observado um ligeiro desvio esquerdo da série granulocítica com alguns neutrófilos hiposegmentados.

Os valores da VS e da Ferritina estão muito aumentados. O aumento destes valores é comum em doenças inflamatórias crónicas e podem ser usadas como marcadores de prognóstico e de evolução da doença nestas situações. Em processos inflamatórios e estágios iniciais de algumas neoplasias, as concentrações das proteínas de fase aguda (ex: ferritina, proteína amiloide A, proteína C reativa, etc.) e das imunoglobulinas aumentam, favorecendo a agregação eritrócitária (formação de *rouleaux*), alterando a viscosidade do sangue e elevando a velocidade de sedimentação.

A ligeira elevação dos valores da bilirrubina conjugada, AST, ALT e a GGT indica que possa existir algum comprometimento hepático. O aumento do valor da AST e da ALT pode ser indicativo de lesão hepatocelular que leva à libertação destas enzimas para a corrente sanguínea. Por outro lado, a GGT é uma enzima que está maioritariamente localizada nos canalículos biliares e o seu aumento conjuntamente ao da ALP relaciona-se com processos de colestase. Neste caso a ALP não está aumentada e por essa razão, não se pode concluir que haja um processo colestático a ocorrer, dado que, também não se observa um aumento significativo da bilirrubina conjugada.

A avaliação dos restantes parâmetros bioquímicos relevou elevação do valor das proteínas totais, da proteína amiloide A e da lactato desidrogenase (LDH). A causa da hiperproteinémia foi esclarecida com a realização de um proteinograma, permitindo fazer a separação das proteínas presentes na amostra.

Tabela X. Resultados dos parâmetros da eletroforese de proteínas do caso clínico I.

Parâmetro	Resultados 1	Resultados 2	Intervalo de referência
Proteínas totais	10.7	6.8	6.4-8.3 g/dL
Albumina	4.9	4.3	3.5-5.0 g/dL
Alfa-1-Globulina	0.2	0.3	0.1-0.3 g/dL
Alfa-2-Globulina	0.6	0.6	0.6-1.0 g/dL
Beta Globulina	0.8	-	0.7-1.1 g/dL
Beta-1-Globulina	-	0.3	0.5-0.9 g/dL
Beta-2-Globulina	-	0.2	0.3-0.6 g/dL
Gama-Globulina	4.3	1.1	0.8-1.6 g/dL
Rel. Alb/Glob	0.84	1.74	1.00-2.20
Proteína M	3.99	0.73	

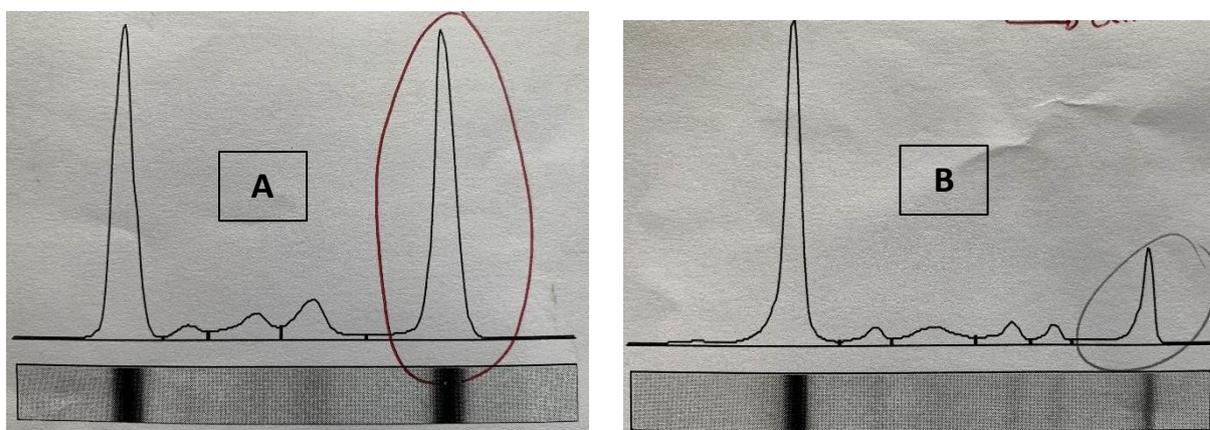


Figura VIII. Eletroforese de proteínas caso clínico I. A: Observa-se pico estreito na zona das gamaglobulinas (resultado antes do tratamento). B: Observa-se traçado com alteração na região gama (resultados após tratamento).

A avaliação dos parâmetros do proteinograma (*Tabela X*) revelou um valor aumentado das gamaglobulinas e o aparecimento de uma paraproteína (proteína M), sendo ainda possível observar um pico estreito na zona das gamaglobulinas em virtude da elevação de uma determinada imunoglobulina (*Figura VIII.A*).

A realização da imunofixação, bem como dos doseamentos séricos e urinários permitiu identificar qual o tipo de imunoglobulina elevada, a sua respetiva cadeia pesada e cadeia leve (*Tabela XI*).

Tabela XI. Resultados dos parâmetros imunológicos do caso clínico 1.

IMUNOLOGIA			
Parâmetro	Resultados 1	Resultados 2	Intervalo de referência
Imunoglobulina G (Ig G)	5061 mg/dL	1230 mg/dL	540-1822
Imunoglobulina A (Ig A)	31 mg/dL	12 mg/dL	63-484
Imunoglobulina M (Ig M)	17 mg/dL	30 mg/dL	22-240
Cadeias Leves Kappa Livres *	3.7 mg/L	7.6 mg/dL	3.3-19.4
Cadeias Leves Lambda Livres *	394.2 mg/L	146.6 mg/dL	5.7-26.3
Relação Kappa/ Lambda livres	0.009	0.05	0.260-1.650
Cadeias Leves Kappa (Urina de 24h) *	<0.4 mg/dL	<0.4 mg/dL	<=0.9
Cadeias Leves Lambda (Urina de 24h) *	3.2 mg/dL	1.2 mg/dL	<0.7
Imunofixação sérica*	Identificou-se uma fração monoclonal Ig G/ Lambda		

*Análise realizada noutro laboratório Synlab.

Os parâmetros imunológicos revelaram o aumento do valor da imunoglobulina G e diminuição dos valores da imunoglobulina A e M (Tabela XI). O valor das cadeias leves lambda estava muito aumentado e o das cadeias leves kappa diminuído. Na imunofixação sérica identificou-se fração monoclonal Ig G/ Lambda.

Todos os dados corroboraram a suspeita de uma gamapatia monoclonal do tipo Ig G/ lambda em que é observada a presença de uma proteína M cadeias gama/lambda. A existência desta gamapatia monoclonal levou ao aumento da produção da imunoglobulina G e conseqüentemente a uma redução das restantes imunoglobulinas (Ig A e Ig M). Relativamente à relação kappa/lambda livres, esta encontra-se muito diminuída em virtude do valor das cadeias lambda estar bastante elevado. Com a avaliação dos doseamentos urinários identificou-se ainda proteinúria de Bence Jones (cadeias leves do tipo lambda). Esta proteína produzida em excesso e em elevadas concentrações no soro, é excretada na urina quando há uma diminuição da capacidade de filtração renal levando a uma atrofia tubular.

Além disso, a elevação da proteína amiloide A (Tabela IX) está associada ao depósito de cadeias monoclonais de baixo peso molecular (amiloidose de cadeias leves) em vários tecidos levando à progressiva destruição dos órgãos. Estas cadeias são geralmente produzidas por o clone indolente de plasmócitos que surge associada a esta patologia. O aumento da concentração sérica deste marcador tem valor de mau prognóstico. A beta-2-microglobulina é também utilizada como marcador de prognóstico em mielomas múltiplos e linfomas sendo que neste caso o seu valor está normal. Relativamente à LDH, é uma enzima libertada quando há lesão celular e a sua acentuada elevação deve-se possivelmente à destruição das células malignas que ocorre de modo evidente nestas patologias.

Após o tratamento (Resultados 2), analisando os parâmetros hematológicos (Tabela X) verificou-se recuperação do valor da hemoglobina, do número de eritrócitos e do hematócrito embora o utente ainda se encontre anémico. O número de plaquetas normalizou, o valor do RDW continua muito aumentado com observação de anisopoiquilocitose acentuada no ESP

(Figura IX.A) e alguns plasmócitos que não são normalmente observados em ESP de indivíduos não doentes (Figura IX.B). No ESP foram observados neutrófilos hiposegmentados, em bastão e com granulações tóxicas que, refletem uma perturbação da maturação dos mesmos. O número de reticulócitos circulante superior ao normal indica-nos que a anemia é do tipo regenerativa, ou seja, a eritropoiese está a ocorrer eficazmente e a medula óssea tem capacidade de resposta à destruição celular.

Além disso a diminuição do valor da VS, da ferritina e da LDH são indicadores de uma evolução favorável da doença devido ao tratamento (Tabela IX). A diminuição das proteínas de fase aguda e das imunoglobulinas contribui para a redução da agregação eritrócitária e por essa razão, o valor da VS diminui significativamente após o tratamento. O valor da ALP aumentou e os restantes parâmetros da função hepática normalizaram (AST, ALT, GGT, bilirrubina total e conjugada).

Os parâmetros da eletroforese de proteínas revelaram uma diminuição do valor da gamaglobulina para a normalidade, ainda que, fosse observada a presença da proteína M (Tabela X). O proteinograma (Figura VIII.B), identificava agora apenas um traçado com alteração na região gama, sem observação de um pico estreito. Os doseamentos imunológicos séricos revelaram uma normalização do valor da Ig G e uma diminuição do valor das cadeias leves lambda sérico e urinário revelando recuperação e uma resposta promissora ao tratamento (Tabela XI).

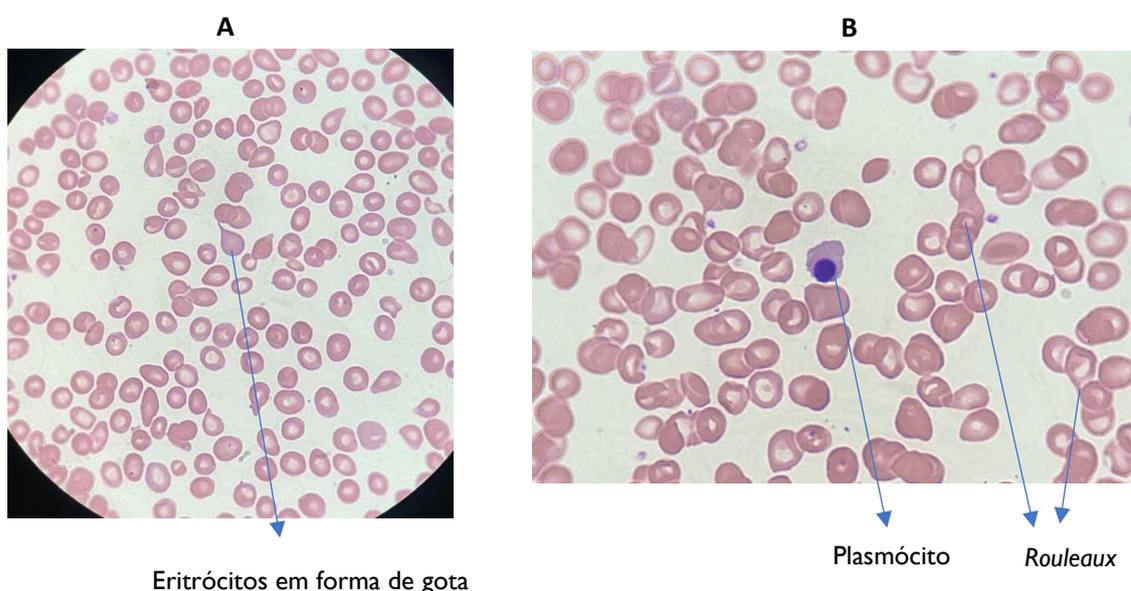


Figura IX. Observação ao microscópico ótico do ESP (Objetiva 100x) do caso clínico I. A: Observação de hipocromia e acentuada anisopoiquilicose. B: Observação de plasmócitos e rouleaux.

CASO CLÍNICO 2

Uma utente do sexo feminino foi submetida a uma operação para remoção de um carcinoma no fígado. Após 2 meses dirigiu-se ao laboratório para realizar os exames analíticos solicitados pelo médico que apresentam os seguintes resultados (*Tabela XII*).

Tabela XII. Resultados dos parâmetros hematológicos e bioquímicos do caso clínico 2.

Parâmetro	Resultados	Intervalo de referência/ Unidades
Hematologia		
Eritrócitos	4.11	3.90-5.10 ×10 ¹² / L
Hemoglobina	12.4	12.0-15.2 g/dL
Hematócrito	38.3	37.0-46.0%
VGM	93	85-98 fL
HGM	30	28-32 pg
CHGM	32	32-36 g/dL
RDW	14.8	12.0-14.7%
Leucócitos	7.03	3.90-11.10 ×10 ⁹ / L
Neutrófilos	5.41	1.80-7.40 ×10 ⁹ / L
Eosinófilos	0.00	0.02-0.67 ×10 ⁹ / L
Basófilos	0.01	<0.13 ×10 ⁹ / L
Linfócitos	1.03	1.10-3.50 ×10 ⁹ / L
Monócitos	0.58	0.21-0.92 ×10 ⁹ / L
Plaquetas	281	170-430 ×10 ⁹ / L
Tempo de protrombina	10.9	10.5-12.9 segundos
Bioquímica		
Ureia	34	17-49 mg/dL
Creatinina	0.74	0.50-1.20 mg/dL
Bilirrubina total	14.25	0.20-1.20 mg/dL
Bilirrubina conjugada	10.67	<=0.50 mg/dL
Aspartato- aminotransferase (AST)	84	5-34 UI/L
Alanina-aminotransferase (ALT)	135	<34 UI/L
Fosfatase alcalina (ALP)	587	40-150 UI/L
Gamaglutamil transferase (GGT)	1439	<38 UI/L
Desidrogenase láctica (LDH)	287	125-220 UI/L
Sódio (Na)	135	136-145 mmol/L
Potássio (K)	5.2	3.5-5.1 mmol/L
Cloro (Cl)	99	98-107 mmol/L
Proteína C reativa (CRP)	1.56	<0.80 mg/dL
Proteínas totais	6.7	6.4-8.3 g/dL
Albumina	3.0	3.2-4.6 g/dL
CA 19.9	7539	<37.0 U/mL

Analisando o hemograma, todos os valores se encontram dentro do intervalo de referência exceto o RDW que está ligeiramente aumentado, revelando anisocitose. Por outro lado, os parâmetros bioquímicos como a ureia e a creatinina estão normais, não revelando sinais de alterações na função renal. No entanto, os parâmetros habitualmente usados para avaliar a função hepática, encontram-se muito alterados mesmo após a remoção do tumor.

O valor da bilirrubina conjugada está muito elevado, sugerindo que o processo de conjugação da bilirrubina está a ocorrer, mas após ser conjugada no fígado, esta não consegue ser excretada devido a um possível processo colestático. A suspeita de obstrução nos canalículos biliares (colestase), impedindo o fluxo da bÍlis, reflete-se no observável aumento da ALP e da GGT, uma vez que estas enzimas são libertadas para a corrente sanguínea quando ocorre lesão nos canalículos biliares.

De outro modo, verifica-se ainda o aumento da AST e da ALT, sendo o valor da ALT superior ao da AST. A ALT é uma enzima com atividade essencialmente no fígado e por essa razão é mais sensível e específica que a AST, visto que também se encontra igualmente presente noutros órgãos. O aumento destas enzimas relacionados com a elevação do valor da bilirrubina leva à suspeita de existência de lesão hepatocelular resultando na sua libertação para a corrente sanguínea. Embora o valor do tempo de protrombina esteja normal, a diminuição do valor da albumina poderá estar associada à perda de função do fígado com alteração na síntese proteica.

Relacionando as alterações dos parâmetros mencionados com a elevação acentuada do marcador tumoral CA 19.9 pode suspeitar-se de um tumor no fígado recidivo uma vez que este marcador é utilizado para monitorizar a resposta ao tratamento em carcinomas hepatocelulares e a sua elevação não é indicadora de bom prognóstico.

CASO CLÍNICO 3

Um utente do sexo masculino com 23 anos dirigiu-se ao laboratório SynlabHealth Centro, os resultados dos exames analíticos estão representados na Tabela XIII.

Tabela XIII. Resultados dos parâmetros imunológicos e bioquímicos do caso clínico 3.

Imunologia		Bioquímica		
Parâmetro	Resultados	Parâmetro	Resultados	Intervalo de referência
Hepatite A, Ac Anti-VHA total *	Positivo	Bilirrubina total	0.54	0.20-1.20 mg/dL
Hepatite A, Ac Anti-VHA Ig M *	Negativo	Bilirrubina conjugada	0.22	<=0.50 mg/ dL
Hepatite B, Ag HBs	Positivo	Aspartato-aminotransferase (AST)	52	5-34 UI/L
Hepatite B, Ag HBe*	Negativo	Alanina-aminotransferase (ALT)	42	<34 UI/L
Hepatite B, Ac HBs	Negativo	Fosfatase alcalina	82	40-150 UI/L
Hepatite B, Ac HBe*	Positivo	Gamaglutamil transferase (GGT)	16	<38 UI/L
Hepatite B, Ac HBc	Positivo			
Hepatite B, Ac HBc Ig M	Negativo			
Hepatite C, Ac Anti-VHC	Negativo			
Hepatite D, Ac Anti-VHD total *	Negativo			
Hepatite D, Ac Anti-VHD Ig M *	Negativo			

*Análise realizada noutro laboratório Synlab.

Analisando os parâmetros bioquímicos, o valor da AST e da ALT estão ligeiramente aumentados enquanto a GGT, ALP e bilirrubina total e conjugada estão normais. Relativamente aos parâmetros imunológicos, o indivíduo apresenta positividade para a existência de anticorpos anti-VHA total e negatividade para a existência de anticorpos anti-VHA Ig M o que indica que esteve em contacto com o vírus e adquiriu imunidade, podendo dever-se a uma infeção passada ou vacinação contra VHA. Por outro lado, com a pesquisa do antígeno HBs positiva conclui-se que o utente foi infetado pelo vírus VHB e ainda não ocorreu seroconversão, dado que a deteção do anticorpo anti-HBs é negativa. Como o anticorpo anti-HBc Ig M está negativo e o anti-HBc total positivo, deduz-se que não se trata de uma infeção recente. Com isto podemos suspeitar de uma hepatite B crónica em fase não replicativa, visto que o anticorpo anti-HBe é positivo. A suspeita de diagnóstico de hepatite B crónica poderia ser confirmada se se soubesse que a presença do AgHbs dura há mais de 6 meses. O anticorpo anti-VHC negativo e o anticorpo anti-VHD Ig M e anti-VHD total demonstram que o indivíduo não esteve em contacto com o VHC e VHD.

Podemos correlacionar estes dados com os parâmetros bioquímicos dado que, na hepatite B crónica em fase não replicativa não se espera observar um aumento significativo da AST e da ALT, porque não está a ocorrer replicação viral nos hepatócitos levando a que não ocorra lesão hepatocelular com libertação destas enzimas para a corrente sanguínea. Perante isto, poderia ser recomendado fazer determinação da carga viral para avaliar o estado da doença.

CASO CLÍNICO 4

Um utente do sexo masculino de 59 anos dirigiu-se ao laboratório para a realização de exames analíticos. O caso apresentado trata-se de uma Leucemia Linfocítica diagnosticada posteriormente noutro laboratório através de outros métodos de diagnóstico.

Tabela XIV. Resultados dos parâmetros bioquímicos e hematológicos do caso clínico 4.

Parâmetro	Resultados	Intervalo de referência/ Unidades
Hematologia		
Eritrócitos	4.52	4.50-5.60 $\times 10^{12}$ / L
Hemoglobina	14.0	13.7-17.2 g/dL
Hematócrito	46.2	40.0-50.0%
VGM	102	83-98 fL
HGM	31	28-32 pg
CHGM	32	32-36 g/dL
RDW	14.2	11.6-14.1%
Leucócitos	112.06	3.70-9.50 $\times 10^9$ / L
Neutrófilos	7.40	1.50-6.50 $\times 10^9$ / L
Eosinófilos	0.34	0.02-0.67 $\times 10^9$ / L
Basófilos	0.11	<0.13 $\times 10^9$ / L
Linfócitos	99.85	1.10-3.50 $\times 10^9$ / L
Monócitos	4.37	0.21-0.92 $\times 10^9$ / L
Plaquetas	222	170-430 $\times 10^9$ / L
Tempo de protrombina	10.9	10.5-12.9 segundos
Tempo de trombina parcial activada (aPTT)	22.0	21.8-28.0 segundos
Bioquímica		
Ureia	42	13-43 mg/dL
Creatinina	1.08	0.60-1.30 mg/dL
Ácido úrico	5.6	3.7-7.7 mg/dL
Bilirrubina total	0.64	0.20-1.20 mg/dL
Bilirrubina conjugada	0.22	<=0.50 mg/dL
Aspartato-aminotransferase (AST)	19	5-24 UI/L
Alanina-aminotransferase (ALT)	17	<45 UI/L
Fosfatase Alcalina (ALP)	111	40-150 UI/L
Gamaglutamil transferase (GGT)	19	<55 UI/L
Desidrogenase láctica (LDH)	179	125-220 UI/L
Creatina Quinase (CK/CPK)	67	30-200 UI/L
Cálcio (Ca)	9.4	8.4-10.2 mg/dL
Fósforo inorgânico (P)	3.1	2.3-4.7 mg/dL
Magnésio (Mg)	2.2	1.6-2.6 mg/dL
Proteína C reativa (CRP)	0.06	<0.80 mg/dL
Albumina	4.9	3.5-5.0 g/dL
Beta-2-microglobulina	2.68	0.97-2.64 mg/L

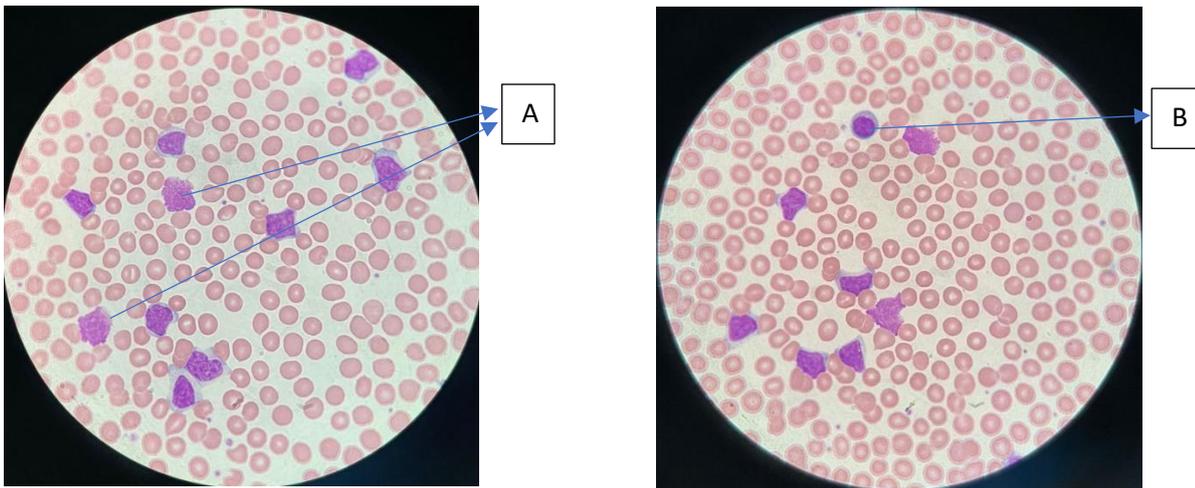


Figura X. Observação ao microscópio ótico do ESP (Objetiva de 100x) do caso clínico 4. A- Sombras de Gumprecht; B- Linfócito pequeno com escasso citoplasma

Analisando o leucograma conclui-se que o utente tem uma acentuada leucocitose, devido à expressiva linfocitose e monocitose (Tabela XIV). O aumento dos linfócitos muito acima dos valores de referência, é a primeira suspeita de que se possa tratar de uma doença linfoproliferativa, porém esta hipótese apenas poderá ser confirmada através de imunofenotipagem do sangue periférico. Além disso, o VGM elevado reflete uma macrocitose e o RDW ligeiramente aumentado uma anisocitose.

No esfregaço sanguíneo foi observada a anisocitose mencionada, com macrocitose e um grande pleomorfismo linfocitário, quer em tamanho, quer na relação núcleo/citoplasma, quer na densidade nuclear, com alguns núcleos a esboçar nucléolos, sugestivo de alterações na maturação dos linfócitos libertados para a corrente sanguínea pela medula óssea (Figura X.B). Foram ainda observadas sombras de Gumprecht comuns em ESP de indivíduos portadores de Leucemia Linfocítica Crónica, que são formadas devido à friabilidade da membrana celular das células desta patologia, que lisam após a realização do esfregaço (Figura X.A).

Os restantes parâmetros bioquímicos estão dentro do intervalo de valores normais e apenas a beta-2-microglobulina está ligeiramente aumentada (Tabela XIV). Em algumas neoplasias hematológicas o valor da LDH está habitualmente elevado, devido à acentuada destruição celular que leva à libertação desta enzima para a corrente sanguínea. Porém, neste caso clínico não se observa o aumento da LDH.

Relativamente à beta-2-microglobulina, esta proteína está presente em todas as células nucleadas, mas é especialmente expressa nos linfócitos, sendo libertada quando ocorre destruição destas células. O valor aumentado é sugestivo de um aumento da destruição dos linfócitos, sendo que quanto maior o seu valor, pior será o prognóstico do utente.

Perante estes resultados, apenas a imunofenotipagem por citometria de fluxo pode esclarecer a suspeita de leucemia linfocítica, permitindo ainda caracterizar a neoplasia.

CASO CLÍNICO 5

Uma utente do sexo feminino com 69 anos dirigiu-se ao laboratório. Os resultados dos exames analíticos estão representados na Tabela XV e na Tabela XVI.

Tabela XV. Resultados dos parâmetros hematológicos do caso clínico 5.

Parâmetro	Resultados	Unidades	Intervalo de referência
Hematologia			
Eritrócitos	4.08	$\times 10^{12} / L$	3.90-5.10
Hemoglobina	11.2	g/dL	12.0-15.2
Hematócrito	33.6	%	37.0-46.0
VGM	82	fL	85-98
HGM	27	pg	28-32
CHGM	33	g/dL	32-36
RDW	13.4	%	12.0-14.7
Leucócitos	6.97	$\times 10^9 / L$	3.90-11.10
Neutrófilos	4.04	$\times 10^9 / L$	1.80-7.40
Eosinófilos	0.02	$\times 10^9 / L$	0.02-0.67
Basófilos	0.04	$\times 10^9 / L$	<0.13
Linfócitos	2.39	$\times 10^9 / L$	1.10-3.50
Monócitos	0.48	$\times 10^9 / L$	0.21-0.92
Plaquetas	189	$\times 10^9 / L$	170-430

Tabela XVI. Resultados dos parâmetros referentes à eletroforese das hemoglobinas do caso clínico 5.

Eletroforese das Hemoglobinas*		
Parâmetro	Resultados	Intervalo de referência
Hemoglobina A	57.9%	96.7-97.8
Hemoglobina S	38.9%	<0.1
Hemoglobina A2	3.2%	2.2-3.2
Relatório: A eletroforese das hemoglobinas revelou uma banda com migração na zona da HbS		
Conclusão: Compatível com traço drepanocítico (heterozigotia AS)		

*Análise realizada noutro laboratório Synlab.

A análise do hemograma revela uma ligeira anemia, suportada pelos valores diminuídos da hemoglobina e do hematócrito. A anemia é do tipo microcítica (valor do VGM diminuído) e hipocrómica (valor do HGM diminuído). Os parâmetros do leucograma estão normais.

No entanto, a eletroforese das hemoglobinas revelou uma banda com migração na zona da hemoglobina S (Hbs) e na avaliação dos parâmetros observa-se uma diminuição da hemoglobina A e aumento da hemoglobina S. A HbS trata-se de uma hemoglobina anormal derivada de uma alteração genética que leva à substituição do aminoácido na posição 6 (ácido glutâmico) da cadeia beta da globina pela valina [34].

Os resultados apresentados são compatíveis com traço drepanocítico, ou seja, a utente possui a hemoglobina S em heterozigose com a hemoglobina A (Hb AS). Nestes indivíduos heterozigóticos (Hb AS) a percentagem de HbS é inferior a 50%, enquanto nos indivíduos homozigóticos (Hb SS) a hemoglobina A está ausente, encontrando-se a HbA2 em percentagem normal [34].

Os portadores (Hb AS) são geralmente assintomáticos e só têm falciformação em situações de hipoxia extrema, contrariamente a utentes homozigóticos Hb SS. Por esta razão, a utente apenas apresenta uma ligeira anemia, visto que a sua alteração genética apenas confere aos eritrócitos alterações na sua deformabilidade em condições de hipóxia extrema, levando a que estes não fiquem sequestradas no baço e sejam destruídos, resultando numa anemia hemolítica. Contrariamente, as anemias hemolíticas são comuns em indivíduos homozigóticos.

CONCLUSÃO

A realização deste estágio permitiu-me compreender a verdadeira importância da experiência profissional no futuro de um técnico de análises clínicas. O estágio ao longo destes 6 meses enriqueceu-me a nível profissional, académico, mas sobretudo a nível pessoal.

Na rotina laboratorial, por vezes somos confrontados com situações imprevisíveis e que nos distanciam de conceitos teóricos adquiridos no decurso do nosso percurso académico. Foi ao vivenciar esta imprevisibilidade onde mais cresci enquanto futura profissional de saúde e desenvolvi a minha capacidade crítica. É tão importante saber fazer, como saber o porquê de fazer e o porquê dos resultados obtidos.

Integrar a equipa do SynlabHealth Centro ensinou-me qual o verdadeiro significado de trabalhar em equipa e como a comunicação é essencial para o sucesso do funcionamento do laboratório. Desenvolvi-me a nível pessoal tanto pela capacidade de adaptação que adquiri, como pela autonomia e sentido de responsabilidade.

Em suma, o conhecimento teórico adquirido no decorrer do Mestrado em Análises Clínicas foi fundamental para desempenhar este estágio e atingir os objetivos que me foram propostos. Após viver esta tão grande experiência sinto-me muito mais capacitada para enfrentar o futuro que se avizinha no mundo do trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- [1] MARSHALL Jean *et al.* -**An introduction to immunology and immunopathology**, *Allergy, Asthma Clin. Immunol.*, vol. 14, no. 2, pp. 1–10, Sep. 2018, doi: 10.1186/S13223-018-0278-1/TABLES/4.
- [2] BURTIS, Carl. ; BRUNS, David. -**Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics**, 7th edition. Elsevier, 2016. ISBN: 978-1-4557-4165-6
- [3] ZARRIN, Arash. ; AKHONDI, Hossien. - *Viral Hepatitis*. StatPearls Publishing, 2022. Accessed: Feb. 04, 2023. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556029/>
- [4] LIANG, Jake. -**Hepatitis B: The Virus and Disease**, *Hepatology*, vol. 49, no. 5, pp. 13–21, 2009, doi: 10.1002/hep.22881.
- [5] NGUYEN Mindie *et al.* **Hepatitis B virus: Advances in prevention, diagnosis, and therapy**, *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 33, no. 2, Apr. 2020, doi: 10.1128/CMR.00046-19/FORMAT/EPUB.
- [6] TURGEON, Mary. -**Immunology & serology in laboratory medicine**, 5th ed. United States of America: Mosby Year Book., 1996. ISBN 978-0-323-08518-2
- [7] "**Vírus da hepatite B (VHB)**". <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/vhb/#existe-vacinacao-contra-a-hepatite-b> (accessed Jun. 24, 2023).
- [8] BASIT, Hajira.; TYAGI, Isha.; KOIRALA, Janak.- **Hepatitis C**, *StatPearls*, Nov. 2022, Accessed: Feb. 12, 2023. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430897/>
- [9] KATO, N. -**Genome of Human Hepatitis C Virus (HCV): Gene Organization, Sequence Diversity, and Variation**, <https://home.liebertpub.com/omi>, vol. 5, no. 3, pp. 129–151, Jun. 2009, doi: 10.1089/OMI.1.2000.5.129.
- [10] HOUEN, G.; TRIER, H. -**Epstein-Barr Virus and Systemic Autoimmune Diseases**, doi: 10.3389/fimmu.2020.587380.
- [11] STUEMPFIG, N.; SEROY, J. -**Monospot Test**, *StatPearls*, Aug. 2022, Accessed: Feb. 27, 2023. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539739/>
- [12] SANTOS, Sara. -**Rastreo do Citomegalovírus na Gravidez – Sim ou Não?**, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, 2017.
- [13] ROSS, S. *et al.* -**Diagnosis of Cytomegalovirus Infections**, *Infect Disord Drug Targets*, 2011.
- [14] LEONOR , M.; MENDEZ, D. -**Rubella**, *Infect. Pregnancy An Evidence-Based Approach*,

pp. 63–66, Jan. 2023, doi: 10.1017/9781108650434.010.

- [15] SENSINI, A.- **Toxoplasma gondii infection in pregnancy: Opportunities and pitfalls of serological diagnosis**, *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 12, no. 6, pp. 504–512, 2006, doi: 10.1111/j.1469-0691.2006.01444.X.
- [16] GUBER, H.; FARAG, A- **Henry’s Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods**. 2017. ISBN: 978-0-323-29568-0
- [17] C.-C. for D. C. and Prevention, “CDC - Toxoplasmosis - Biology,” 2020.
- [18] SATYAPUTRA, F. *et al.* - **The Laboratory Diagnosis of Syphilis**, *Journal of clinical microbiology*, vol. 59, no. 10. American Society for Microbiology (ASM), p. e0010021, Sep. 20, 2021. doi: 10.1128/JCM.00100-21.
- [19] MORSHED, M.; SINGHB, A. -**Recent trends in the serologic diagnosis of syphilis**, *Clin. Vaccine Immunol.*, vol. 22, no. 2, pp. 137–143, Feb. 2015, doi: 10.1128/CVI.00681-14/FORMAT/EPUB.
- [20] PIRAHANCHI, T.; JIALAL, I. -**Physiology, Thyroid Stimulating Hormone**, *StatPearls*, May 2022, Accessed: Mar. 17, 2023. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499850/>
- [21] MATHEW, P; RAWLA, P.- **Hyperthyroidism**, *StatPearls*, Jul. 2022, Accessed: Mar. 18, 2023. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537053/>
- [22] CHAKER, L. -**Hypothyroidism**, *Lancet*, vol. 390, no. 10101, pp. 1550–1562, Sep. 2017, doi: 10.1016/S0140-6736(17)30703-1.
- [23] KIM, J *et al.* -**Usefulness of Carbohydrate Antigen 19-9 Test in Healthy People and Necessity of Medical Follow-up in Individuals with Elevated Carbohydrate Antigen 19-9 Level**, *Korean J. Fam. Med.*, vol. 40, no. 5, p. 314, Sep. 2019, doi: 10.4082/KJFM.18.0057.
- [24] DAVID, M.; LESLIE, S. - **Prostate Specific Antigen**, *Aust. Prescr.*, vol. 34, no. 6, pp. 186–188, Nov. 2022, doi: 10.18773/austprescr.2011.096.
- [25] “**Exame do PSA - O que é e como se faz | Instituto da Próstata.**” <https://www.institutodaprostata.com/pt/analises-e-exames/exame-do-psa> (accessed Jul. 03, 2023).
- [26] KANKANLA, V.; MUKKAMALLA, S. -**Carcinoembryonic Antigen**, *StatPearls*, Jan. 2023, Accessed: Apr. 18, 2023. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK578172/>

- [27] HOFFBRAND, A.; MOSS, P. -**Essential Hematology**. 6th Edition, Blackwell Publishing Ltd, 2016. ISBN 978-1-118-40867-4
- [28] RODAK, B.; CARR, J., -**Clinical Hematology Atlas**. Elsevier, 2017. ISBN: 978-0-323-32249-2
- [29] CHAPMAN, J.; ZHANG. Y- **Histology, Hematopoiesis**, *StatPearls*, May 2023, Accessed: Jun. 25, 2023. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534246/>
- [30] BAIN, B - **Blood cells : a practical guide**, 5th edition. Blackwell Science, 2015 ISBN: 978-1-119-82027-7
- [31] HILMAN, R. *et al.* - **Hematology in clinical practice**, 5th edition. 2010. ISBN: 978-0-07-162699-6
- [32] BAIN, B; LAFFAN, M; BATES, I.- **Dacie and Lewis Practical Haematology**, 12th editi. Elsevier, 2017. ISBN: 978-0-7020-6696-2
- [33] TURNER, J.; PARSI, M.; BADIREDDY, M. - **Anemia**, *Preoperative Assess. A Case-Based Approach*, pp. 263–266, Aug. 2022, doi: 10.1007/978-3-030-58842-7_41.
- [34] RIBEIRO, I. - **Hematologia Da Prática Clínica à Teoria**, 1º edição. Lidel, 2015. ISBN: 978-972-757-915-0
- [35] LAPELUSA, A.; DAVE, H. - **Physiology, Hemostasis**, *StatPearls*, May 2023, Accessed: Jun. 25, 2023. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545263/>
- [36] ANTOVIC, J.; BLOMBACK, M. - **Essential Guide to Blood Coagulation**. Blackwell Publishing Ltd, 2010. ISBN: 978-1-4051-9627-7
- [37] YANG, R.; MOOSAVI, L. -**Prothrombin Time**, *Transfus. Med. Hemost. Clin. Lab. Asp. Second Ed.*, pp. 799–803, Oct. 2022, doi: 10.1016/B978-0-12-397164-7.00124-5.
- [38] BOUNDS, J; KOK, S., - **D Dimer**, *StatPearls*, no. 9, pp. 1009–1013, Jul. 2022, Accessed: Jun. 25, 2023. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431064/>
- [39] TISHLOWSKI, K.; GUPTA, V., -**Erythrocyte Sedimentation Rate**, *Lab. Hematol. Pract.*, pp. 638–646, Apr. 2023, doi: 10.1002/9781444398595.ch49.