



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Diana Pereira de Figueiredo

RELATÓRIO DE ESTÁGIO
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

VOLUME 1

**Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas
orientado pela Professora Doutora Teresa Carmo Pimenta Dinis Silva e pelo
Doutor António Ferreira Neves e apresentado à Faculdade de Farmácia da
Universidade de Coimbra**



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Diana Pereira de Figueiredo

RELATÓRIO DE ESTÁGIO
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

**Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas
orientado pela Professora Doutora Teresa Carmo Pimenta Dinis Silva e pelo
Doutor António Ferreira Neves apresentado à Faculdade de Farmácia da
Universidade de Coimbra**

Estágio realizado no laboratório de Análises Clínicas - AVELAB

Janeiro de 2021 a Junho de 2021

Setembro de 2022

AGRADECIMENTOS

É com o maior prazer que início este relatório agradecendo a todas as pessoas que acompanharam todo o meu percurso.

O maior agradecimento é aos meus pais e ao meu irmão por tudo o que fizeram e fazem por mim, durante estes anos. O amor, o carinho, a compreensão, força e incentivo que me dão.

Agradecer também ao resto da minha família, avós e tios pelo apoio e um agradecimento especial ao meu falecido avô que sempre acreditou em mim.

Aos meus amigos, em especial à Mara e Daniela que fizeram igualmente parte deste percurso, pela amizade e apoio que sempre demonstraram.

Um agradecimento também ao laboratório AVELAB por me ter proporcionado a realização do estágio e a todos os colaboradores por terem contribuído no sucesso do estágio como também no meu desenvolvimento pessoal.

Por último, um agradecimento especial à Professora Doutora Teresa Carmo Pimenta Dinis Silva minha orientadora externa, pelo acompanhamento, disponibilidade constante e apoio na orientação e realização deste relatório.

INDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABELAS	6
ABREVIATURAS	7
RESUMO	10
1. INTRODUÇÃO	12
2. ENQUADRAMENTO CIENTÍFICO	13
3. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO	13
4. FASE PRÉ-ANALÍTICA	15
4.1. COLHEITA DAS AMOSTRAS.....	15
4.1.1. Amostras colhidas no laboratório AVELAB	16
4.2. TRANSPORTE, TRIAGEM E SEPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	19
5. FASE ANALÍTICA	20
6. CONTROLO DE QUALIDADE	22
6.1. Controlo de qualidade interno	23
6.2. Controlo de qualidade externo	23
7. SETOR DE HEMATOLOGIA	24
7.1. AUTO-ANALIZADORES E RESPETIVAS METODOLOGIAS.....	24
7.1.1. Sysmex XT-2000i e Sysmex-XE 2100.....	24
7.1.2. Ves-Matic 30 Plus.....	26
7.1.3. ADAMS A1c HA-8180V e HA-8180T	27
7.1.4. STA <i>Compact Max Systems</i>	27
7.2. PARÂMETROS LABORATORIAIS	27
7.2.1. Hemograma.....	27
7.2.2. Esfregaço do sangue periférico.....	34
7.2.3. Velocidade de sedimentação	37
7.2.4. Hemoglobina glicada	39

7.2.5.	Hemostase.....	39
7.2.6.	Outras determinações analíticas.....	44
7.2.6.1.	<i>Coombs</i> direto e indireto.....	44
7.2.6.2.	Grupo sanguíneo.....	44
7.2.6.3.	Crioglobulinas.....	45
7.2.6.4.	Crioaglutininas.....	46
8.	SETOR DA BIOQUIMICA	47
8.1.	AUTO-ANALIZADORES E RESPETIVAS METODOLOGIAS.....	47
8.2.	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	48
8.2.1.	Metabolismo dos Hidratos de Carbono.....	48
8.2.2.	Metabolismo dos lípidos.....	50
8.2.3.	Equilíbrio electrolítico e ácido-base	55
8.2.4.	Função renal.....	56
8.2.5.	Função hepática.....	59
8.2.6.	Metabolismo Proteico.....	62
8.2.7.	Função pancreática	66
8.2.8.	Função Cardíaca.....	66
8.2.9.	Metabolismo do Ferro.....	67
9.	SETOR DA MICROBIOLOGIA	69
10.	SETOR DA IMUNOQUÍMICA	70
11.	FASE PÓS ANALÍTICA	71
12.	CONCLUSÃO	72
13.	REFERÊNCIAS	73
14.	ANEXOS	78
14.1.	ANEXO I: Equipamentos utilizados nos setores de hematologia e bioquímica.	78
14.2.	ANEXO II: Valores de referência.....	80
14.3.	ANEXO III: Morfologias atípicas observadas nos esfregaços de sangue periférico ..	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Etapas da fase pré-analítica	14
Figura 2: Ordem de colheita do sangue venoso.....	16
Figura 3: Histogramas de distribuição.....	24
Figura 4: Perfil eletroforético das proteínas do plasma.....	62

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I: Diferentes tipos de amostras biológicas analisadas no laboratório AVELAB	15
Tabela II: Tubo a usar para as análises mais comuns no laboratório AVELAB.....	17
Tabela III: Auto-analisadores do laboratório AVELAB	20
Tabela IV: Técnicas manuais utilizadas no laboratório AVELAB com a respectiva metodologia por setor	21
Tabela V: Parâmetros do plaquetograma	32
Tabela VI: Alterações morfológicas nas linhagens sanguíneas	34
Tabela VII: Inclusões mais frequentes nos eritrócitos	36
Tabela VIII: Fatores que afetam a VS	37
Tabela IX: Variações patológicas da VS	37
Tabela X: Causas dos desequilíbrios nos níveis de glicose no sangue	48
Tabela XI: Classificação de hiperlipoproteinémias	53
Tabela XII: Diferentes causas da azotemia	56
Tabela XII: Alterações que conduzem ao aumento da bilirrubina	61
Tabela XIV: Interpretação laboratorial do proteinograma	63
Tabela XV: Características das imunoglobulinas	65

ABREVIATURAS

AEQ	Avaliação Externa de Qualidade
ALT	Alanina Aminotransferase
ALP	Fosfatase Alcalina
aPTT	Tempo Parcial de Tromboplastina Ativada
AST	Aspartato Aminotransferase
BASO	Basófilo
CHGM	Concentração de Hemoglobina Globular Média
CQE	Controlo de qualidade externo
CQI	Controlo de qualidade interno
CK	Creatina Cinase
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CPS	<i>Chromogenic Plate Substrate</i>
DCV	Doenças Cardiovasculares
DD	Dímero-D
DGS	Direção-Geral de Saúde
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
GGT	Gama Glutamil Transferase
GOT	Glutamato-Oxaloacetato Transaminase
GPT	Glutamato-Piruvato Transaminase
HbA1c	Hemoglobina Glicada
HbF	Hemoglobina Fetal
HDL	Lipoproteína de elevada densidade, do inglês, <i>High Density lipoprotein</i>
HGM	Hemoglobina Globular Média

Ht	Hematócrito
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i>
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Pressão
Ig	Imunoglobulina
INR	<i>International normalized ratio</i>
LDH	Lactato Desidrogenase
LDL	<i>Low Density lipoprotein</i>
LMC	Leucemia Mielóide Crónica
LLC	Leucemia Linfocítica Crónica
NRBC	<i>Nucleated red blood cells</i>
EN ISSO	<i>European Norm; International Organization for Standardization</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Proteína C Reativa
PDW	<i>Platelet distribution width</i>
PEROX	Peroxidase
PLT	Plaquetas
PTGO	Prova de Tolerância à glucose oral
RBC	<i>Red Blood Cell</i>
RIQAS	<i>Randox International Quality Assessment Scheme</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
RDW	<i>Red Cell Distribution Width</i>
RET	Reticulócitos
Rpm	Rotações por minuto
SSC	<i>Side scatter</i>
SFL	Sinal de fluorescência lateral
TSDT	Técnico superior de diagnóstico e terapêutica

TP	Tempo de protrombina
VDRL	<i>Venereal Disease Research Laboratory</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
VGM	Volume Globular Médio
VPM	Volume Plaquetar Médio
VS	Velocidade de Sedimentação

RESUMO

O relatório de estágio constitui uma parte integrante do Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) e espelha parte do conhecimento adquirido durante o estágio curricular no laboratório de análises clínicas AVELAB.

O estágio no laboratório de análises clínicas AVELAB iniciou-se a 4 de Janeiro de 2021 e terminou a 30 de Junho de 2021. Durante os 6 meses, fui integrada nas diversas valências clínicas abordadas no presente laboratório, com a duração de 1 mês em cada uma, sob a orientação do Dr. António Ferreira Neves.

Em termos estruturais, o relatório inclui uma breve caracterização do laboratório médico de análises clínicas AVELAB com a descrição da aprendizagem teórica e prática obtida durante todo o período de estágio com uma descrição mais pormenorizada do trabalho desenvolvido nos setores de Bioquímica e Hematologia.

ABSTRACT

This internship report is an integral part of the Master's Degree in Clinical Analysis of the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra (FFUC) and reflects part of the knowledge acquired during the curricular internship in the clinical analysis laboratory AVELAB.

The internship at the AVELAB clinical analysis laboratory started on January 4, 2021 and ended on June 30, 2021. During the 6 months, I was integrated in the several clinical valences in this laboratory, lasting 1 month in each one, under the guidance of Dr. António Ferreira Neves.

In structural terms, the report includes a brief characterization of the AVELAB medical laboratory of clinical analysis with a description of the theoretical and practical learning obtained throughout the internship period presenting a more detailed description of the work developed in the Biochemistry and Hematology sectors.

I. INTRODUÇÃO

“Declare o passado, diagnostique o presente, preveja o futuro.”

Hippocrates

O presente relatório representa o elemento de avaliação final do Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), que descreve as atividades e formação adquirida durante o estágio curricular no Laboratório Médico de Análises Clínicas AVELAB em Aveiro, sob a orientação do Doutor António Ferreira Neves, especialista pela Ordem dos Farmacêuticos, o qual, juntamente com toda uma equipa inigualável, contribuíram para a minha formação e desenvolvimento profissional e pessoal.

Este estágio foi realizado durante um período de seis meses, de Janeiro de 2021 a Julho de 2021, contemplando a passagem pelos setores de Microbiologia, Auto-imunidade, Bioquímica e Hematologia sendo estas duas últimas valências as que escolhi para um maior aprofundamento. O estágio curricular do Mestrado em Análises Clínicas proporcionou-me uma formação especializada, acoplada à formação académica adquirida, nas várias valências da área do diagnóstico laboratorial com a integração no meio profissional. Isto, permitiu-me efetivamente, uma autonomia na componente laboratorial com a realização, validação e compreensão das técnicas laboratoriais além de conferir competências e responsabilidades como profissional.

O laboratório de análises clínicas tem um papel fundamental na prevenção, diagnóstico e prognóstico da doença assim como na intervenção farmacológica. Torna-se assim essencial que o laboratório assegure que os resultados por ele emitidos sejam fiáveis e concordantes com a real situação clínica do doente, garantindo a qualidade dos serviços prestados. Essa qualidade depende de todas as partes integrantes do laboratório, desde técnicos superiores, administrativos a médicos especialistas em Patologia Clínica.

Os objetivos do presente relatório são fazer uma caracterização do local de estágio, uma descrição da fase pré-analítica e dos parâmetros avaliados nas diferentes valências, com uma maior relevância nas áreas de Hematologia e Bioquímica, bem como a identificação do tipo de produto biológico necessário à sua execução, o seu significado clínico, a metodologia utilizada nos vários auto-analizadores e, ainda, o controlo de qualidade interno e a avaliação externa da qualidade.

2. ENQUADRAMENTO CIENTÍFICO

“ Future discoveries will not likely be made by morphologists ignorant of molecular biologic findings, or by biologists unaware or scornful of morphologic data, but by those willing and capable of integrating them through a team approach...- Rosai “

Patologia (da palavra grega *pathología* significa o estudo do sofrimento) é uma especialidade da ciência médica focada na causa, desenvolvimento, mudanças estruturais / funcionais e à história natural associada às doenças. Doença refere-se a um desvio definível de um fenótipo normal, evidente por meio de sintomas do paciente que permitem em determinado nível adicionar sensibilidade e especificidade ao diagnóstico.¹

Chegar ao diagnóstico correto depende de inúmeros fatores, sendo a determinação de biomarcadores um dos requisitos mais específicos para o mesmo. Um biomarcador é definido como uma característica que é medida e avaliada quer como um indicador de processos fisiológicos ou patogénicos quer como resposta a uma determinada terapêutica.² Os exames laboratoriais procuram determinar biomarcadores nas mais diversas amostras (sangue, urina, muco, saliva, secreções respiratórias, secreções vaginais ou uretrais, suor, fezes, líquido de articulações e tecidos.

Os laboratórios clínicos são instalações de saúde que oferecem uma ampla gama de procedimentos laboratoriais que auxiliam os médicos a realizar o diagnóstico, tratamento e a monitorização dos pacientes, sendo estes os principais objetivos dos exames laboratoriais.

A tríade patologia, laboratório e diagnóstico funciona como um todo, pois para o sucesso quer a nível clínico quer a nível laboratorial é necessário a cooperação e compreensão das três áreas. Não se consegue chegar ao diagnóstico, sem compreender a patologia e não se compreende a patologia se não se compreenderem os exames laboratoriais fornecidos pelo laboratório. Uma análise laboratorial é muito mais do que uma colheita de sangue e a determinação dos diferentes valores dos analitos. Compreende o bem estar de um ser humano, e o rumo para se conseguir obter a melhor qualidade de vida.

3. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

O laboratório Central AVELAB, fundado em 1956, situado no distrito de Aveiro, presta serviço de segunda a sábado, integrando cerca de 100 postos de colheita dispersos por oito distritos das regiões Norte e Centro de Portugal. Como gestão e certificado de

qualidade, o laboratório AVELAB encontra-se certificado pela Norma NP EN ISSO 9001:2008.

O laboratório médico de análises clínicas AVELAB é dirigido pelo diretor clínico Dr. Américo Freitas, compreendendo uma equipa diversificada, desde médicos especialistas em análises clínicas, farmacêuticos, técnicos superiores de diagnóstico e terapêutica (TSDT), técnicos superiores de laboratório e pessoal administrativo preparados e formados para prestar serviço de qualidade.

O laboratório AVELAB engloba um vasto número de postos de colheita distribuídos por vários concelhos da região norte e centro com o objetivo de prestar serviço a um número elevado de utentes, nomeadamente aos que necessitam de um cuidado diferencial, seja pela dificuldade de acesso a serviços de saúde seja por limitações de mobilidade pessoal. É de salientar que também presta serviço ao domicílio, e é parte integrante de clínicas privadas, lares de idosos e medicina de trabalho.

O laboratório central conta com um fluxo de, aproximadamente, 200 utentes por dia, e presta serviços à comunidade no campo das análises clínicas, nas áreas da Hematologia, Bioquímica e Imunologia, Microbiologia e Biologia Molecular. O seu horário de funcionamento nos dias úteis é das 7:30 às 19:00 horas e aos sábados das 8:00 às 13:00 horas. Fisicamente é constituído por 4 pisos organizado em diferentes áreas de trabalho, Hematologia, Coagulação, Microbiologia, Urinálise, Bioquímica e Imunologia, Auto-imunidade e Biologia Molecular. Compreende ainda uma sala de espera, cinco salas de colheitas (três para colheita de amostras biológicas sem risco biológico associado e duas para colheitas de amostras do trato respiratório superior, pertencentes à classe de risco 3), sala de receção e triagem das amostras, áreas administrativas e sala de lavagens. As análises efetuadas em cada setor analítico são validadas no próprio setor.

O AVELAB está informatizado com um sistema de gestão laboratorial – *Appolo*- que permite gerir e armazenar a longo prazo, todas as informações que chegam ao laboratório, desde informação e histórico analítico dos utentes, pedidos de análises, elaboração de listas de trabalho com as diversas técnicas a efetuar, gestão dos resultados fornecidos pelos auto-analizadores dos diferentes setores e ainda emitir o boletim de análises. Este sistema de gestão laboratorial permite assim garantir a rastreabilidade das amostras, desde o pedido de análises efetuado pelo médico até à validação final de todos os parâmetros analíticos e saída do relatório individual do utente. Toda a informação do laboratório AVELAB é seguida por

uma política de privacidade através de medidas administrativas e tecnológicas segundo o regulamento geral de proteção de dados e de acordo com a Lei 58/2019.

4. FASE PRÉ-ANALÍTICA

Convencionalmente, a prática laboratorial é dividida em três fases: pré-analítica, analítica e pós-analítica. A fase pré-analítica, descrita na Figura 1, inicia-se a partir do momento em que o utente se dirige à receção, com a requisição médica das análises clínicas a realizar, as quais são integradas no sistema de gestão laboratorial. Excepcionalmente, quando o utente quer fazer análises a título particular é nossa função tentar aconselhá-lo quanto às determinações a realizar consoante a situação em questão. Após o registo dos dados do utente e das respetivas requisições segue-se a preparação do paciente, obtenção da amostra, transporte até ao laboratório e triagem da mesma.

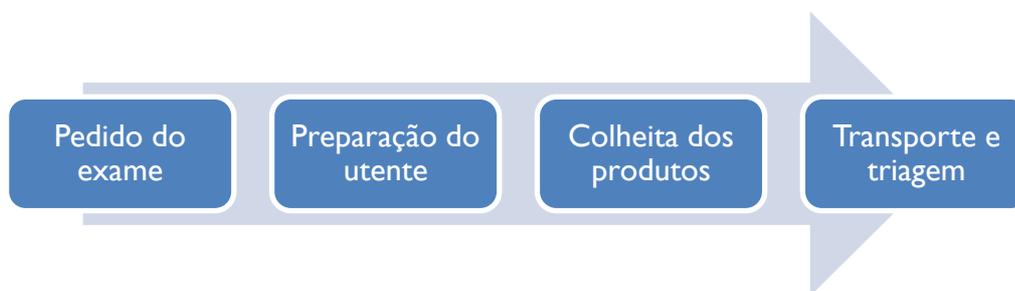


Figura 5: Etapas da fase pré-analítica

A fase pré-analítica é considerada a fase com maior suscetibilidade a erros laboratoriais. Os erros pré-analíticos mais comuns vão desde à ausência de dados de identificação do paciente, tubos inadequados para as análises prescritas, colheitas inadequadas até à ausência de amostras.³

De seguida são descritas algumas das principais etapas e procedimentos da fase pré-analítica.

4.1. COLHEITA DAS AMOSTRAS

As colheitas são realizadas predominantemente no período da manhã devido ao requisito mais comum ser o jejum de 8 a 12 horas. Na sala de colheitas, os técnicos do laboratório procedem à correta identificação do utente e à observação das análises requisitadas. Em amostras colhidas pelo próprio utente, por exemplo a urina, apenas se procede à identificação da mesma e certifica-se de que obedeceu aos requisitos de colheita.

4.1.1. Amostras colhidas no laboratório AVELAB

Existem diferentes tipos de amostras de produtos biológicos. Na tabela I especificam-se os diferentes tipos de amostras que são colhidas no laboratório AVELAB.

Tabela 2: Diferentes tipos de amostras biológicas analisadas no laboratório AVELAB

Sangue	Sangue venoso
Urina	Primeira urina da manhã – Urina tipo II (mais concentrada)
	Urina aleatória (colhida a qualquer hora do dia) – Testes rápidos de rotina
	Urina de 24 horas – Determinação de analitos que apresentem variação diurna e noturna
Exsudatos	Vaginal
	Uretral
	Nasal / Faríngeo / Amigdalino / Orofaríngeo
Outros produtos Biológicos	Fezes
	Esperma
	Cabelo, pele e unhas

4.1.1.1. **Colheita de sangue venoso**

A amostra mais utilizada a nível laboratorial é o sangue venoso. É necessário verificar se os requisitos para as análises pretendidas e a situação do utente estão compatíveis, como por exemplo o jejum, pois a ingestão alimentar influencia a maioria dos parâmetros analíticos (glicose, colesterol, entre outros); o uso de terapêuticas como suplementos de ferro e levotiroxina são considerados relevantes quando é requisitado o estudo do metabolismo do ferro e da tiróide respetivamente, pois a sua toma leva a valores falsos elevados; a ingestão de suplementos alimentares ou medicamentos naturais também se deve ter em conta. Quando são requisitados testes de coagulação deve-se perguntar sempre ao utente se faz alguma terapêutica anticoagulante oral e anotar na sua ficha médica, não podendo fazer a sua toma antes da colheita.

Posteriormente prepara-se a colheita do sangue venoso, sendo necessária a escolha dos tubos de acordo com as análises pretendidas como representado na Tabela II, assim como a ordem de execução, pré-estabelecida pelas *guidelines* do *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, para minimizar o risco de contaminação do sangue de um tubo com

o anticoagulante do tubo anterior (Figura 2). Este é um dos fatores mais importantes a ter em conta, dado que uma troca de tubos pode impossibilitar determinações analíticas pretendidas sendo necessário pedir ao utente uma nova colheita.⁴

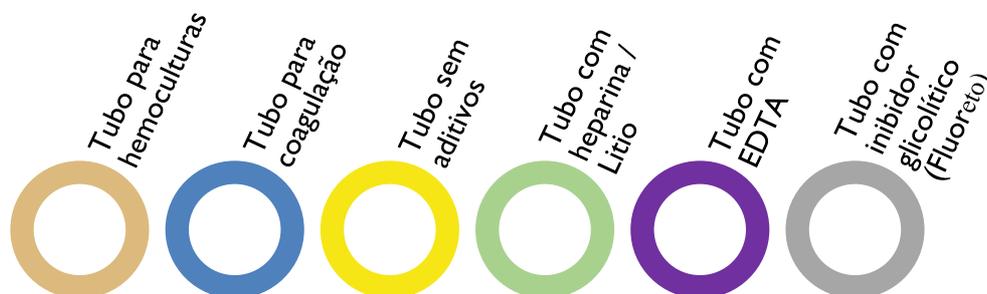


Figura 6: Ordem de colheita do sangue venoso

Procede-se à identificação dos tubos com um código de barras que contém toda a informação do utente registada no sistema informático, para não ocorrer troca de identidade das amostras.

Antes da realização da colheita o técnico deve proceder à higienização/proteção das mãos e da zona onde realiza a punção para evitar contaminantes provenientes da flora comensal da pele. Coloca-se o garrote e faz-se a punção de acordo com as normas estabelecidas. A aplicação correta do garrote é fundamental; este possibilita a criação de uma barreira que promove a passagem de água, iões difusíveis e compostos de baixa massa molecular do vaso para os tecidos, aumentando assim a concentração de vários analitos do sangue no local da punção. O uso inadequado do garrote deve ser evitado, tal como o seu tempo prolongado, de modo a evitar-se a hemólise *in vitro* que gera interferências analíticas e biológicas, sendo a interferência pré-analítica mais comum. Paralelamente, pode levar ao aumento falso dos eritrócitos, potássio, lactato desidrogenase (LDH) e aspartato aminotransferase (AST).⁵

É ainda de salientar que, em colheitas pediátricas ou com acesso venoso difícil a colheita é feita em tubos específicos pediátricos, com um volume menor. Imediatamente após a colheita de sangue deve proceder-se à homogeneização do tubo, de modo a evitar a formação de coágulos.

Tabela II: Tubo a usar para as análises mais comuns no laboratório AVELAB

Cor da tampa do tubo	Anticoagulante	Amostra obtida	Análises de Rotina
Roxo	EDTA tripotássico	Sangue total	Hemograma com/sem fórmula leucocitária; Hemoglobina glicada A1c; Velocidade de sedimentação; HLA B27 (Antigénio); Grupo sanguíneo e VDRL;
Amarelo	Sem anticoagulante e com gel separador	Soro	Determinações Imunoquímicas e Bioquímicas
Azul claro	Citrato trissódico 1:9	Plasma	Estudo da coagulação sanguínea
Azul escuro	Sem ou com anticoagulante isento de metais	Soro ou sangue total	Determinações Imunoquímicas e Bioquímicas

O tubo utilizado para as análises bioquímicas tem geralmente gel separador e sílica. A sílica favorece a retração do coágulo e o gel permite a separação física entre o soro e a porção celular. A separação é fundamental para determinados analitos, nomeadamente a glicose, visto que ao ocorrer a separação física dos eritrócitos do soro, a glicose não é consumida pelos eritrócitos, permanecendo o seu valor *in vivo*.

O anticoagulante EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético) preserva a morfologia dos componentes celulares do sangue, por isso é o anticoagulante de eleição para estudos hematológicos, o seu papel principal é a quelatação dos iões cálcio prevenindo a coagulação. Como o sangue não coagulou, a porção líquida (sem componentes celulares) é o plasma. Volumes de amostra insuficientes conduzem a níveis de EDTA relativamente elevados, aumentando assim a quelatação do magnésio e zinco, interferindo nos valores de enzimas como a fosfatase alcalina.⁶

A heparina, outro anticoagulante tradicionalmente usado, induz uma mudança conformacional da antitrombina III acelerando a inibição da trombina e do fator Xa, que impede a ativação da trombina e a formação de fibrina a partir do fibrinogénio. Contudo possui propriedades quelantes mínimas e concentração relativamente baixa de catiões, não interferindo significativamente no equilíbrio hídrico. No laboratório existem tubos de

heparina de lítio e de sódio e são usados nomeadamente para análises genéticas e determinação de iões como cobre e magnésio.

O anticoagulante citrato de sódio tem um mecanismo de atuação semelhante ao EDTA que impede a formação do coágulo, devido ao mecanismo de quelatação do cálcio. A proporção é de 9 volumes de sangue para 1 volume de citrato, conservando assim os fatores de coagulação e é centrifugado a 2500 rpm durante 15 minutos, para a obtenção de plasma, que é rico em fatores de coagulação e pobre em plaquetas. No caso da pesquisa de anticoagulante lúpico, é necessário efetuar duas centrifugações para a obtenção de um plasma isento de plaquetas.

Para obter soro, o que se pretende é que haja formação de coágulo, logo utilizam-se tubos isentos de anticoagulante, apenas contêm um gel separador e ativador da coagulação, que tem como objetivo permitir uma melhor separação do soro do sangue total coagulado. Posteriormente as amostras são enviadas para a sala de triagem, para distribuição pelos diferentes setores.

4.2. TRANSPORTE, TRIAGEM E SEPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Todo as amostras, quer sejam provenientes do laboratório central quer de postos de colheita, seguem para o setor da triagem, onde se faz a sua separação e preparação para os diferentes setores. Os tubos sem anticoagulante são triados e centrifugados a 3000rpm/15min, para posterior separação do soro em alíquotas se necessário, e envio imediato para o setor da Bioquímica e Auto-imunidade. É de realçar, que existem análises mais específicas (como por exemplo, a determinação de pró-BNP, o teste respiratório para pesquisa de *Helicobacter pylori*, a determinação de metais) em que a amostra é enviada para um laboratório exterior (Ambar e Cerba), pois são análises pouco requisitadas, que não justificam o investimento do laboratório.

Após a centrifugação procede-se à observação da amostra tendo em conta os critérios de rejeição da amostra. Assim, verifica-se se estão lipémicas, hemolisadas ou ictéricas e regista-se no processo do utente, pois são parâmetros que alteram determinados analitos (bilirrubina, ferro, magnésio, potássio, entre outros).⁷ O volume também é conferido, pois se for insuficiente para realizar as análises necessárias, é pedida uma nova amostra.

As amostras para análise bacteriológica vão diretamente para o setor da Microbiologia onde são triadas e processadas. Os tubos de tampa roxa (EDTA) e azul claro (citrato de sódio) vão para o setor de Hematologia onde são devidamente triados, sendo que os tubos com EDTA são colocados no agitador mecânico (*Speci-Mix*) e os tubos com citrato sódico vão para o setor de coagulação e são centrifugados a 3000 rpm/10min para subsequente obtenção do plasma. As amostras de risco biológico (SARS-CoV-2) e amostras para tipagem genética para pesquisa do HLA-B27 seguem para o setor da Biologia Molecular.

5. FASE ANALÍTICA

Após o processo de colheita de amostras, segue-se a fase analítica que compreende a execução analítica do pedido da amostra previamente colhida. O processamento analítico nesta fase é maioritariamente automático devido à tecnologia avançada usada pelos auto-analisadores dos diferentes setores, como descrito na Tabela III, que permite a análise simultânea de um elevado número de amostras com eficácia e em que a qualidade dos resultados é assegurada diariamente pelo controlo de qualidade interno (CQI) e pela participação em programas de avaliação externa da qualidade (AEQ).

Tabela III: Auto-analisadores do laboratório AVELAB

AUTO-ANALIZADORES	FUNÇÃO/DESCRIÇÃO
HEMATOLOGIA	
<i>Ves-matic cube 30 - MENARINI</i>	Velocidade de Sedimentação Globular
<i>Sysmex XE-2100</i>	Hemograma
<i>Sysmex XT-2000i</i>	Hemograma
<i>ADAMS A1c HA-8180 e HA-8180T</i>	Deteção das variantes da hemoglobina
Coagulação	
<i>STA Compact Max Systems</i>	Testes de Coagulação
Bioquímica e Imunologia	
<i>ARCHITECT Ci8200</i>	Determinação de parâmetros bioquímicos e imunológicos
<i>ARCHITECT i1000</i>	Determinação de parâmetros bioquímicos e imunológicos
Auto-imunidade	
<i>ImmunoCAP - Phadia 250</i>	Deteção de imunoglobulinas específicas
<i>Capillarys Sebia 2</i>	Deteção de imunoglobulinas
Microbiologia	
<i>BD Phoenix™ Automated Microbiology System</i>	Identificação e Antibiograma: sensibilidade e resistência de bactérias e leveduras
Urianálise	
<i>Aution Max AX-4030</i>	Análise sumária de urina
<i>SediMAX conTRUST</i>	Sedimento urinário
<i>SENTiFIT 270 Analyser</i>	Sangue oculto nas fezes

Contudo, praticam-se ainda técnicas manuais nos diferentes setores do laboratório AVELAB e que estão descritas na Tabela IV.

Tabela IV: Técnicas manuais utilizadas no laboratório AVELAB com a respetiva metodologia por setor

Setor	Determinações analíticas	Metodologia
Hematologia	Esfregaço de sangue periférico	Observação ao microscópio após coloração
Coagulação	Tipagem dos sistemas AB0 e <i>Rhesus</i>	Hemoaglutinação
	Teste de <i>Coombs</i> Indireto e Direto	Hemoaglutinação
	D-Dímeros	Aglutinação
Microbiologia	Urocultura	Exame a fresco e cultural em CPS
	Exame bacteriológico	Exame a fresco e cultural em geloses de sangue e <i>Saboraud</i>
	Exame Parasitológico de Fezes	Exame a fresco direto e pós-concentração
	VDRL	Aglutinação com partículas de carvão
	Teste de <i>Paul Bunnell</i>	Aglutinação em Látex

6. CONTROLO DE QUALIDADE

Os laboratórios estão frequentemente sujeitos a influências externas e internas que afetam a forma como trabalham e que posteriormente influenciam os resultados analíticos obtidos. O controlo de qualidade permite a obtenção de resultados com exatidão para o diagnóstico e monitorização de patologias de modo a garantir que não sejam apenas detetados erros clinicamente significativos, mas também que nenhuma falsa rejeição ocorra, uma vez que a repetição do processamento laboratorial associado a essas rejeições requer custos adicionais.

O laboratório AVELAB garante a qualidade do processo pré-analítico e analítico, com base em critérios definidos. Para isso, há a implementação de um sistema de controlo de qualidade interno (CQI) e externo (CQE) para cada setor.

6.1. Controlo de qualidade interno

O controlo de qualidade interno (CQI) permite avaliar laboratorialmente e estatisticamente amostras controlo, cujos valores analíticos são conhecidos, averiguando a precisão e exatidão dos ensaios com base nos valores de referência conhecidos para assegurar a reprodutibilidade dos resultados. Caso ocorram não conformidades, é necessário a implementação de ações corretivas ou preventivas. Ou seja, permite detetar diferentes variações ou tipos de erros (sistemáticos e aleatórios) que podem ocorrer laboratorialmente.

Nos diferentes setores do laboratório AVELAB a periodicidade com que este controlo é realizado depende do analito em questão, por exemplo, analitos doseados diariamente em grande volume (exemplo: ionograma, glicose, transaminases, entre outros) o controlo é realizado diariamente de manhã. Os analitos menos requisitados na rotina laboratorial só são controlados quando existe o seu pedido. Pode ser exigido a passagem do controlo durante o dia, caso se verifiquem valores anormais de determinados analitos.

Verifica-se que o controlo interno foi garantido analisando as cartas de controlo (gráfico de *Levey-Jennings*) que, de acordo com as regras de *Westgard*, nos reportam a relevância de cada desvio padrão permitindo um controlo de qualidade mais rigoroso.

6.2. Controlo de qualidade externo

O controlo de qualidade externo (CQE) tem como objetivo medir a exatidão (cálculo da diferença de valores para o valor verdadeiro) dos resultados obtidos pelo estudo, o que significa que visa obter um resultado igual ao obtido pelo método de referência podendo dar indicações sobre a estabilidade do método ao longo do tempo.

Este controlo é garantido por programas externos de avaliação mensais, que são realizados pela entidade internacional RIQAS (*Randox International Quality Assessment Scheme*). Além disso, o laboratório AVELAB encontra-se certificado de acordo com a Norma NP EN ISSO 9001:2008, pela *Bureau Veritas Certification*. Isto inclui a realização de auditorias externas e ensaios, de modo a verificar que o laboratório está em conformidade com os requisitos estabelecidos.

7. SETOR DE HEMATOLOGIA

O setor da Hematologia é onde se analisa e avalia o estado de normalidade dos órgãos hematopoiéticos, das células sanguíneas e de patologias a si associadas, nomeadamente anemias, leucemias, linfomas e alterações na coagulação do sangue. É aqui que se realizam dois dos exames mais requisitados pelo clínico, o hemograma e a velocidade de sedimentação.

Dos recursos humanos do setor da Hematologia fazem parte quatro TSDT e um farmacêutico especialista em Análises Clínicas. Os quatro TSDT têm como função a coordenação, gestão do controlo de qualidade interno e externo assim como a validação técnica dos resultados e a visualização dos esfregaços de sangue periférico.

Neste setor trabalha-se maioritariamente com sangue total não coagulado para garantir que todas as células estão em suspensão na amostra. A colheita da amostra é feita de acordo com a requisição clínica, isto é, quando há o pedido de hemograma, velocidade de sedimentação e HbA1c, que são as análises mais requisitadas a colheita de sangue é feita para um tubo com ácido etilenodiaminotetra-acético tripotássio (K_3EDTA). A amostra deve ser bem homogeneizada não apresentar coágulos e deve ser processada até 2-4 horas após a colheita, pois as amostras “envelhecidas” apresentam alterações nas contagens celulares.

Durante a duração do estágio no setor da hematologia acompanhei toda a rotina laboratorial, desde a triagem dos tubos à realização de esfregaços sanguíneos e observação das diferentes linhas celulares assim como testes de coagulação e determinação do grupo sanguíneo entre outras técnicas manuais.

7.1. AUTO-ANALIZADORES E RESPETIVAS METODOLOGIAS

7.1.1. **Sysmex XT-2000i e Sysmex-XE 2100**

O hemograma e a contagem de reticulócitos são determinados nos auto-analisadores hematológicos - *Sysmex-XE 2100* e *Sysmex XT-2000i* (Anexo I). Estes dois auto-analisadores combinam diferentes metodologias com elevada sensibilidade como a impedância elétrica e métodos óticos e a sua utilização depende da análise requisitada. O hemograma é efetuado no *Sysmex-XE 2100* e em casos de pedidos de contagem de reticulócitos ou hemogramas com pouco volume utiliza-se o *Sysmex XT-2000i*.

Os resultados são expressos quantitativamente e na forma de histogramas, alertando ainda, caso seja detetada alguma anomalia relativamente aos valores de referência, quer seja por defeito ou por excesso.

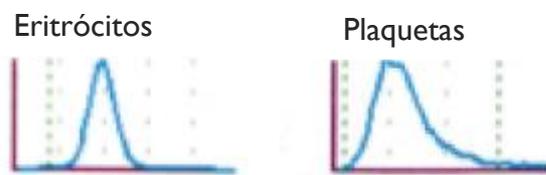


Figura 7: Histogramas de distribuição

O método da impedância eléctrica com focagem hidrodinâmica ou Princípio de *Coulter*, sucintamente, baseia-se numa variação da resistência eléctrica quando uma partícula no líquido condutor passa através de uma abertura. Permite fazer a contagem dos glóbulos vermelhos e plaquetas e o cálculo do volume globular e plaquetário médios (VGM e VPM). A amostra (sangue total) é aspirada e é dividida em duas-alíquotas distintas para as diferentes medições. Uma alíquota é misturada com um diluente e libertada para a câmara (canal RBC/PLT) onde são realizadas as contagens dos eritrócitos e plaquetas. Cada vez que uma célula passa pela abertura a corrente eléctrica entre os eléctrodos altera originando um pulso na voltagem, cujo tamanho é proporcional ao tamanho da célula. O número de pulsos está directamente relacionado com o número de células permitindo assim obter histogramas de distribuição de volumes dos eritrócitos e das plaquetas, como visualizamos na Figura 3. Por norma partículas com volume entre 2 e 20 fL são contadas como plaquetas e com mais do que 36 fL são contadas como eritrócitos. A contagem é feita com aplicação da focagem hidrodinâmica que minimiza a variação dos impulsos eléctricos na zona de deteção e a recirculação das células, para minimizar os erros de contagem celular.

A outra alíquota é misturada com um reagente e a contagem de leucócitos é realizada à medida que as células passam através da câmara. Células com volume superior a 35 fL são anotadas como leucócitos.

A citometria de fluxo com o recurso a um corante fluorescente de polimetina acoplada a focagem hidrodinâmica permite fazer a contagem diferencial de leucócitos, e a contagem de eritroblastos (*nucleated red blood cells-NRBC*), com base nas características morfológicas e químicas destas células sanguíneas (tamanho e complexidade celular). A amostra é diluída com um corante fluorescente que se liga especificamente aos ácidos nucleicos e organelos citoplasmáticos, permitindo a diferenciação das subpopulações

leucocitárias. O laser semiconductor ao incidir nas células coradas dispersa a luz e permite a obtenção de três sinais diferentes: -dispersão lateral da luz (relacionada com a complexidade e granularidade das células), -dispersão frontal (relacionada com o volume celular) e – emissão de fluorescência (relacionada com a quantidade de DNA e RNA), que são e convertidos em impulsos elétricos.^{8,9}

A quantificação da hemoglobina é feita pelo método do lauril sulfato de sódio (SLS), que é um reagente livre de cianeto. A amostra é diluída com um reagente de lise que hemolisa os eritrócitos e os leucócitos, provocando a libertação da hemoglobina dos eritrócitos. O grupo heme sofre oxidação (Fe^{2+} a Fe^{3+}) e forma-se metahemoglobina que liga ao grupo hidrofílico do SLS, formando um complexo corado SLS-HB, que absorve luz, sendo essa absorvância medida por fotometria e proporcional à concentração de hemoglobina na amostra.⁹

O auto-analizador integra um *software* que processa e apresenta os dados gerados pelo equipamento. O *software* do auto-analizador para além de processar os dados obtidos, compara-os com outros pré-definidos alertando para a possibilidade de microcitose, macrocitose, anemia, agregação de eritrócitos por suspeita de existência de aglutininas frias, trombocitose ou trombocitopenia, agregados plaquetários, linfocitose, linfócitos atípicos, granulócitos imaturos ou células blásticas.

7.1.2. Ves-Matic 30 Plus

A determinação da velocidade de sedimentação é realizada no equipamento automatizado Ves-Matic 30 Plus da Menarini (Anexo I). A amostra a utilizar é sangue total colhido em tubo com EDTA e é aspirada para um capilar onde ocorre a sedimentação dos eritrócitos. A leitura da sedimentação é automática através de um sensor ótico-eletrónico por fotometria de infravermelhos a um comprimento de onda de 950 nm, em intervalos de tempo precisos. Os impulsos elétricos que são captados por um fotodetector são diretamente proporcionais à concentração de eritrócitos presentes no capilar. A utilização dos raios infravermelhos evita interferências causadas pela presença de lípidos ou bilirrubina aumentadas nas amostras.

Os valores obtidos são idênticos aos obtidos pelo método de *Westergreen* (método de referência) mas com maior sensibilidade e especificidade e com a vantagem de usar muito menos amostra e requerer menos tempo. A metodologia manual (método de *Westergren*) não é muito usual mas recorre-se a ela para confirmação de resultados.¹⁰

7.1.3. ADAMS A1c HA-8180V e HA-8180T

A determinação da HbA1c, hemoglobinas F e A₂ é realizada nos auto-analisadores ADAMS A1c HA-8180V e HA-8180T (Anexo I). O princípio utilizado é a Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) que utiliza sangue total como amostra para determinar os parâmetros referidos anteriormente. Consistindo numa fase líquida móvel, um injetor de amostra automático, uma coluna (fase estacionária) e um detetor.

Na prática, os eritrócitos são hemolisados, libertando a hemoglobina e quando a amostra é injetada as partículas carregadas positivamente ficam retidas devido à carga negativa da coluna. As moléculas que ficam retidas na coluna são eluídas em função crescente da sua afinidade, utilizando tampões de fosfato inorgânico de baixa a alta polaridade.

As hemoglobinas são detetadas espectrofotometricamente pela leitura a 420 e 500 nm e para além da quantificação da HbA1c, HbF, e HbA₂ deteta ainda outras hemoglobinas anormais.¹¹

7.1.4. STA Compact Max Systems

No laboratório AVELAB, são efetuados três testes para a avaliação global da coagulação: Tempo de Protrombina (TP), Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (aPTT) e a quantificação do fibrinogénio com recurso ao auto-analizador *STA Compact Max* (Anexo I). O equipamento *STA Compact Max Systems* efetua os diferentes tipos de análises e funciona com um sistema de cuvetes que contém uma esfera metálica que é induzida a oscilar para medir o tempo necessário para a formação do coágulo após a adição dos reagentes estimulantes do processo de coagulação. A deteção da amplitude de oscilação da esfera metálica permite medir a coagulação da amostra por um método designado de cronométrico. Este sistema é insensível a interferências, como hemólise, bilirrubinas e lípidos aumentados.¹²

7.2. PARÂMETROS LABORATORIAIS

7.2.1. Hemograma

O hemograma é um dos exames mais requisitado no laboratório AVELAB e também é uma ferramenta crucial complementar ao diagnóstico, permitindo obter uma análise quantitativa e qualitativa dos diversos elementos celulares do sangue – eritrócitos,

leucócitos e plaquetas. Inclui diversos parâmetros, de acordo com as diferentes séries celulares:

- Eritrograma (Série vermelha) - Quantificação da hemoglobina, Hematócrito (Ht), Número de glóbulos vermelhos circulantes e Índices eritrocitários (volume globular médio (VGM), Hemoglobina corpuscular média (HGM), Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHGM) e Amplitude da distribuição eritrocitária (RDW), Contagem e caso seja especificamente requisitado a Percentagem dos eritroblastos e reticulócitos.
- Leucograma (Série branca) - Contagem total e diferencial dos leucócitos com a respetiva fórmula leucocitária (Neutrófilos, Eosinófilos, Basófilos, Linfócitos e Monócitos);
- Plaquetograma (Série megacariocítica) – Contagem de Plaquetas, Plaquetócrito e Índices plaquetares (Volume Plaquetar Médio (VPM) e a Amplitude de dispersão plaquetar (PDW));

Os valores de referência são apresentados no Anexo 2.

7.2.1.1. Eritrograma

7.2.1.1.1. Eritrócito

Os eritrócitos são células bicôncavas flexíveis, que perdem o núcleo e os organelos na sua maturação, sendo células anucleadas. A sua principal função é o transporte de oxigénio até aos tecidos devido ao seu interior ser constituído essencialmente por hemoglobina que é a proteína também responsável pela sua coloração. O seu tempo de meia vida é de aproximadamente 120 dias.

A contagem de eritrócitos corresponde ao número total de eritrócitos circulantes presentes num dado volume de sangue total (por litro), sendo expressa em número de células por microlitro de sangue (células/ μ l).¹³

7.2.1.1.2. Hemoglobina

A hemoglobina é a principal componente dos eritrócitos e é sintetizada fundamentalmente no eritroblasto, na medula óssea, sendo a responsável pela ligação do oxigénio a nível pulmonar e a sua libertação a nível dos tecidos. É quantificada

espectrofotometricamente no auto-analizador ADAMS Alc HA-8180V como referido anteriormente e é expressa em gramas por decilitro (g/dl).

As principais hemoglobinas no adulto por ordem decrescente são Hb A ($\alpha_2\beta_2$), Hb A₂ ($\alpha_2\delta_2$) e Hb F ($\alpha_2\gamma_2$).

É um parâmetro crucial no diagnóstico e tratamento de anemias como também na interpretação de outras situações clínicas, sendo que valores de hemoglobina abaixo dos valores de referência (tendo em conta a idade e o sexo) podem ser devidos a deficiência de ferro, vitamina B12 e folato, defeitos hereditários da hemoglobina, como anemia falciforme e talassemias, casos de cirrose hepática, hemorragias, entre outros. Valores acima do valor de referência podem ser sinais de desidratação ou produção excessiva de eritrócitos na medula óssea.¹³

7.2.1.1.3. Índices Eritrocitários

Volume Globular Médio (VGM)

O volume globular médio (VGM) corresponde ao volume médio de um glóbulo vermelho, expresso em fentolitros (fL). É determinado diretamente pelo auto-analizador como referido anteriormente ou calculado manualmente tendo em conta o valor do hematócrito e o número de eritrócitos.

O valor de VGM acima dos valores de referência indica eritrócitos grandes e um valor de VGM diminuído indica eritrócitos diminuídos, sendo fundamental na diferenciação das anemias microcíticas, normocíticas ou macrocíticas.¹³

Hemoglobina Globular Média (HGM)

A hemoglobina globular média determina a quantidade média de hemoglobina em cada eritrócito. O auto-analizador traduz o seu valor de acordo com os valores da concentração de hemoglobina e do número de eritrócitos. O resultado é expresso em picogramas (pg) e permite caracterizar os eritrócitos quando à sua coloração. Quando se observa um valor de HGM baixo, significa que existe pouca quantidade de hemoglobina no eritrócito — hipocromia (eritrócitos pouco corados) e um valor elevado — hiperchromia (eritrócitos hiperpigmentados).¹³

Concentração de hemoglobina Globular média (CHGM)

A concentração de hemoglobina globular média corresponde à concentração média de hemoglobina por eritrócito e é usualmente expressa em grama por decilitro (g/dl). A determinação da CHGM permite também identificar eritrócitos hipocrômicos, caso o valor esteja diminuído.¹³

Amplitude da distribuição eritrocitária (RDW)

Esta amplitude indica a variação na distribuição do volume dos eritrócitos, sendo obtida a partir de um pico no histograma dos eritrócitos, e é expressa em porcentagem. Situações patológicas podem alterar o tamanho dos eritrócitos e no histograma aparece mais do que um pico ou um alargamento no pico anormal, como por exemplo em casos de anisocitose eritrocitária.¹³

Hematócrito

O hematócrito (Ht) é definido como a razão entre o volume de glóbulos vermelhos e o volume total de sangue e é expresso como uma razão (L/L) ou em porcentagem (%). É determinado pelo auto-analizador tendo em conta o tamanho de todos os glóbulos vermelhos medidos na contagem relativamente ao volume de sangue usado nessa contagem ou manualmente.

Um valor de Ht inferior ao valor de referência está associado à diminuição do número de eritrócitos que pode ser devido, por exemplo, a uma eritropoiese ineficaz como acontece nas anemias, hemólise, hemorragias. Nas grávidas pode aparecer diminuído devido à hemodiluição. É um parâmetro que permite auxiliar no diagnóstico de anemia ou policitemia.¹³

Reticulócitos

Os reticulócitos correspondem aos eritrócitos imaturos, que se encontram em circulação há menos de 48 horas. São células anucleadas que ainda contêm RNA remanescente, nomeadamente RNA ribossomal que não apresenta afinidade para um corante comum, sendo necessário o uso de corantes supravitais como o azul de metileno novo. Este corante vai precipitar o RNA citoplasmático residual sob a forma de grânulos e filamentos.

A sua determinação é feita pelo auto-analizador sendo possível a sua contagem manual através da contagem de reticulócitos em 1000 eritrócitos, num esfregaço sanguíneo

corado com um corante adequado. Este tipo de parâmetro no laboratório AVELAB requer um controlo prévio visto que não é uma análise muito requisitada na rotina laboratorial.

A sua determinação é representativa da atividade medular permitindo diferenciar anemia regenerativas (valores elevados de reticulócitos) ou não (valores reduzidos de reticulócitos). O aumento periférico do número de reticulócitos, designado por reticulocitose, pode surgir na consequência de situações como quimioterapia, transplantes de medula óssea ou tratamento de anemias e indica uma eritropoiese eficaz.¹¹

7.2.1.2. Leucograma

O leucograma abrange a contagem global das diferentes células leucocitárias e a fórmula leucocitária. Os leucócitos são células nucleadas que medeiam as respostas imunológicas, e incluem dois grupos que os permite classificar em relação ao seu núcleo: polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e mononucleares (linfócitos e monócitos). Do ponto de vista funcional os neutrófilos e monócitos são responsáveis pelos processos de fagocitose enquanto os linfócitos estão mais envolvidos na libertação de moléculas citotóxicas e no reconhecimento de antigénios ou na produção de anticorpos.

As alterações que ocorrem no número de leucócitos incluem o seu aumento (leucocitose) ou a sua diminuição (leucopenia) em relação aos valores de referência. Os valores são expressos quantitativamente em termos absolutos e relativos e na forma de histogramas tridimensionais que permite distinguir as cinco subpopulações tendo em conta as características do seu tamanho e complexidade. Os resultados são úteis no auxílio do diagnóstico de doenças inflamatórias, infecciosas, leucemias, linfomas e outras doenças hematológicas malignas.¹⁵

7.2.1.2.1. Neutrófilos

Os neutrófilos correspondem aos granulócitos mais abundantes no sangue periférico. Possuem um núcleo lobulado denso, com dois a cinco lóbulos e um citoplasma acidófilo com grânulos finos rosa ou cinza-azulado. Pode haver a presença de outro tipo de neutrófilos no sangue periférico, designados neutrófilos em bastão, que ainda não completaram a sua maturação.

A sua função reside essencialmente na defesa primária do organismo, mais precisamente em reações inflamatórias, devido às suas características de fagocitose, quimiotaxia e motilidade. A sua diminuição, neutropenia é considerada fisiológica em

indivíduos de etnia africana, mas em condições patológicas pode ser devida a granulopoiese ineficaz, e a infecções virais, bacterianas ou fúngicas, entre outras causas. A neutrofilia é o termo designado para o seu aumento e pode ter como causas infecções bacterianas, hemorragias agudas, leucemias, tabagismo, doenças metabólicas, leucemias, necrose tecidual e síndromes mieloproliferativas.¹⁶

7.2.1.2.2. Linfócitos

Os linfócitos são o segundo tipo de leucócitos mais abundantes no sangue periférico, apresentando-se como células pequenas, com citoplasma basófilo, núcleo sem lóbulos e com cromatina densa e sem grânulos específicos. Existem duas populações distintas de linfócitos, os linfócitos inativos e os ativados. Os linfócitos inativos têm um tamanho mais pequeno e os ativos apresentam um volume maior e um citoplasma mais basófilico, visto que já reagiram contra determinado antigénio.

A sua diminuição pode ser devido a anemia aplásica, síndromes mielodisplásicas, linfoma de *Hodkin* ou terapias com eritropoietina. Pelo contrário, o seu aumento pode ser devido a infecções virais, esplenectomia, Leucemia Linfocítica Crónica (LLC), linfomas. Em condições patológicas podem apresentar alterações morfológicas, isto é, linfócitos atípicos que diferem no tamanho apresentando-se maiores, com citoplasma mais basófilico que o linfócito normal e o núcleo irregular, que aparecem em grande número na Mononucleose infecciosa.¹⁷

7.2.1.2.3. Monócitos

Os monócitos correspondem às células maiores que existem em circulação no sangue periférico. Apresentam um núcleo oval, ou reniforme com citoplasma que cora de azul e pode conter vacúolos e grânulos citoplasmáticos. Quando alcançam os tecidos, os monócitos convertem-se em células grandes e fagocíticas designadas macrófagos.

O seu aumento, designado monocitose, ocorre em casos de infecções provocadas por bactérias ou micobactérias, artrite reumatóide, Leucemia Mielomonocítica Crónica, doenças granulomatosas (Sarcoidose), carcinomas da mama, ovário, próstata, doenças do colagénio, entre outras. Menos comum, temos a sua diminuição, monocitopenia, em casos de infecções agudas ou administração de corticosteróides.¹⁸

7.2.1.2.4. Eosinófilos

Os eosinófilos possuem um núcleo com cromatina densa e sem nucléolos, apresentando o citoplasma com granulações eosinófilas. A sua diminuição, designada por eosinopenia pode ocorrer no caso de infeções agudas, síndrome de *Cushing* ou durante o uso de determinados fármacos. Pelo contrário, o seu aumento é denominado eosinofilia e observa-se em reações alérgicas, infeções parasitárias, intoxicação por metais pesados (chumbo).¹⁹

7.2.1.2.5. **Basófilos**

Fisiologicamente existem no sangue periférico em quantidades reduzidas e estão implicados em reações alérgicas. O núcleo apresenta dois a três lóbulos e cromatina densa e o citoplasma geralmente não é visível devido à presença de numerosos grânulos citoplasmáticos escuros que contêm no seu interior heparina e histamina. A desgranulação pode ocorrer quando há a ligação à Imunoglobulina E (IgE) provocando a libertação de histamina. Nos tecidos ocorre a sua conversão para mastócitos.

A alteração que ocorre com mais frequência na corrente sanguínea é a basofilia, ou seja o aumento de basófilos acima dos valores de referência, como acontece em reações de hipersensibilidade, hipotiroidismo, sideropenia, Policitemia Vera, infeções (sinusite crónica, varicela, varíola). A sua diminuição, basopenia, também pode ocorrer devido a infeções e hipertiroidismo.²⁰

7.2.1.3. **Plaquetograma**

As plaquetas são produzidas na medula óssea por fragmentação do citoplasma dos megacariócitos. Têm um tamanho muito reduzido e apresentam uma forma discóide e grânulos azurófilos. O seu papel fundamental é na hemóstase. Os parâmetros avaliados no plaquetograma estão representados na Tabela V.

Tabela V: Parâmetros do plaquetograma

PLT (x10⁹/L)	Número total de plaquetas. Aumento = Trombocitose Diminuição = Trombocitopenia
VPM (fL)	Volume Plaquetário Médio
PDW (%)	Dispersão dos Volumes Plaquetares (Índice de variação do tamanho das plaquetas)

A alteração plaquetária mais comum é a trombocitopenia. Quando se observa trombocitopenia deve verificar-se o histórico do utente para ver se é concordante com outros parâmetros, verificar a existência ou não de coágulo na amostra de sangue e realização de um esfregaço sanguíneo, para excluir situações de pseudotrombocitopenia (agregados plaquetares, plaquetas gigantes ou satelitismo). A pseudotrombocitopenia é a diminuição da contagem de plaquetas *in vitro*, devido à formação de agregados plaquetares no tubo de EDTA, devido à ativação da glicoproteína GPII/III das plaquetas pelo auto-anticorpo IgG que pode ser indicativo de uma colheita incorreta ou devido ao anticoagulante e deve-se repetir a colheita para um tubo com citrato de sódio. Outro acontecimento que pode induzir uma contagem incorreta das plaquetas é o satelitismo onde ocorre a formação de “rosetas” em torno dos neutrófilos.

A trombocitopenia é sugestiva de uma eritropoiese ineficaz, síndromes mielodisplásicas, infeções virais e coagulação intravascular disseminada. Pelo contrário, a trombocitose é sugestiva de esplenectomia, LMC, trombocitemia essencial, hemorragias.²¹

A validação dos resultados do hemograma é automatizada pelo *software* do equipamento, de acordo com a idade e o sexo do utente. Qualquer alteração nos valores do hemograma relativamente aos de referência gera um sinal de alarme emitido pelo contador automático e o técnico responsável pela validação técnica procede à interpretação do hemograma para avaliar eventuais causas da alteração tendo em conta a história clínica geral do utente, nomeadamente outros parâmetros laboratoriais (exemplo: ferro, ferritina, VS, entre outros). Posteriormente à interpretação dos dados do hemograma com outros parâmetros laboratoriais e clínicos, caso seja relevante, procede-se à execução de um esfregaço do sangue periférico para observação ao microscópio.

7.2.2. Esfregaço do sangue periférico

O esfregaço de sangue periférico consiste numa das principais técnicas manuais usadas em hematologia tanto como meio complementar de diagnóstico de eventuais doenças hematológicas, como para confirmar e/ou complementar os resultados obtidos no hemograma pois, permite fazer uma avaliação qualitativa e quantitativa da linhagem leucocitária, o estudo da morfologia celular e a verificação da presença ou não de células imaturas.

A amostra utilizada é sangue venoso proveniente do sangue contido no tubo com EDTA. Resumidamente consiste numa preparação de uma fina camada de células sobre uma lâmina de vidro que depois de seca é fixada e corada manualmente pela técnica de *May-Grunwald-Giemsa*. A coloração de *May-Grunwald-Giemsa* é uma coloração policromática e tem na sua constituição metanol, um corante ácido (eosina) e um corante básico (azul de metileno), que permite diferenciar as células e os seus componentes. O corante ácido tem afinidade para estruturas básicas ou eosinofílicas, sendo exemplo a hemoglobina, o citoplasma dos leucócitos e os grânulos dos eosinófilos e o corante básico para estruturas basófilas (núcleos). Esta coloração permite corar de cor-de-rosa os eritrócitos, núcleos de leucócitos com tons de azul a roxo e plaquetas com citoplasma lilás escuro contendo grânulos vermelho roxos.

Durante a visualização do esfregaço, podem-se observar diversas alterações morfológicas nas linhagens sanguíneas que estão representadas na Tabela VI permitindo fazer a identificação de alterações morfológicas significativas, que auxilia no diagnóstico de muitas patologias como, por exemplo, as anemias.¹³

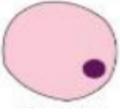
Tabela VI: Alterações morfológicas nas linhagens sanguíneas

Série Vermelha			
	Alteração		Patologia
Dimensão	Anisocitose	Macrocitose	Deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico; Mieloma múltiplo; Hepatopatias
		Microcitose	Talassemias; Anemia associadas a deficiência de ferro; Síndrome mielodisplásica
Cor	Anisocromia	Hipocromia	Anemia ferropénica
		Anisocromia	Resposta a tratamento de anemia
		Hipercromia	Esferocitose, Eliptocitose
		Policromatofilia	Stress hematopoiético

Forma	Poiquilocitose	Macrócitos, Micrócitos, Células em alvo, Estomatócitos, Células em lápis, Equinócito, Acantócito, Célula falciforme, Pecilocito em lágrima, Eliptócito, Fragmentos, Microesferócito	
	Distribuição	<i>Rouleaux</i> (eritrócitos empilhados), Aglutinação	Doenças do colágeno, hiperfibrinogenemia, Mieloma, Anemia hemolítica
Série Branca			
	Variações na segmentação nuclear dos neutrófilos		
	Existência de linfócitos atípicos		
	Granulação tóxica dos neutrófilos		
	Presença de blastos das várias linhagens leucocitárias		
Série Plaquetária			
Tamanho	Plaquetas gigantes	LMC, Síndrome Mielodisplásica.	
Morfologia	Deficiência de grânulos α (cinza)	Síndrome de Plaquetas Cinzentas; Formação defeituosa por megacariócitos displásicos.	
Número	Trombocitose, Trombocitopenia	Ver tabela da função plaquetária.	

Além destes três grandes tipos de alterações, os eritrócitos, podem apresentar inclusões devidas à anormal maturação das células, a intoxicações que afetam a síntese da hemoglobina, a alterações da síntese de hemoglobina, a agregados de ferritina e à presença de microrganismos. Na Tabela VII estão referidas as inclusões mais vistas no laboratório AVELAB. Outro exemplo de alteração que se pode observar é a presença de células imaturas, os eritroblastos. A sua média de vida é de 40 horas e é neles que tem início a síntese de hemoglobina, contudo, a sua presença no sangue não é normal com exceção dos recém nascidos prematuros. As causas da sua presença são por exemplo uma eritropoiese hiperplásica, anemia ferropénica e envenenamento por chumbo. ¹³

Tabela VII: Inclusões mais frequentes nos eritrócitos

Inclusões	Característica	Causa/Patologia
Corpos de <i>Heinz</i> 	Precipitados de hemoglobina desnaturada.	Hb instáveis ou Meta-hemoglobina.
Corpos de <i>Howell-Jolly</i> 	Corpúsculos de DNA remanescentes	Anemia; Esplenectomia
Ponteado Basófilo 	Grânulos azuis distribuídos irregularmente. RNA desnaturado.	Intoxicação por chumbo; Talassemia beta minor.
Corpos de Pappenheimer 	Agregados de ferro (azul)	Talassemia major; Anemia sideroblástica

Durante o estágio também foi possível observar algumas células da linhagem mielóide e linfóide no esfregaço de sangue periférico, que podem ser indicativo de determinadas patologias, como por exemplo de plasmócitos (em casos de infecção, inflamação e neoplasias), linfócitos atípicos (mononucleose infecciosa) ou granulócitos imaturos (anemia megaloblástica).

7.2.3. Velocidade de sedimentação

A velocidade de sedimentação (VS) é a medida da velocidade com que os eritrócitos, que estão em suspensão no plasma, sedimentam no fundo do tubo, durante um determinado tempo em repouso. Tal como o hemograma, é dos testes mais requisitados no laboratório de hematologia.

A sedimentação é composta por três fases após a sua agitação: agregação (*rouleaux*), queda dos agregados a velocidade constante e por fim a sedimentação final no fundo do tubo. A sua queda depende da concentração de proteínas de fase aguda presentes (Ig e fibrinogénio), visto que o seu aumento faz com que haja uma diminuição nas forças de repulsão entre os eritrócitos e a sua velocidade de sedimentação aumente. A força de repulsão dos eritrócitos é devida às cargas negativas das proteínas membranares.

Este parâmetro não é específico para nenhum estado patológico mas fornece uma indicação do nível das proteínas de fase aguda, sendo um marcador de processos inflamatórios. A sua determinação é efetuada no analisador automático Ves-Matic 30 Plus da Menarini como referido anteriormente. Existem particularmente três tipos de fatores que afetam a VS (Tabela VIII), fatores globulares, plasmáticos e mecânicos.²²

Tabela VIII: Fatores que afetam a VS

Fatores Globulares	Formação de <i>rouleaux</i> ; Número, forma e tamanho dos eritrócitos
Fatores Plasmáticos	Viscosidade do sangue (aumento de eritrócitos); Aumento de Fibrinogénio; Aumento de Globulinas plasmáticas (α , β e γ)
Fatores mecânicos	Vibrações; Temperatura; Tempo de execução da técnica (eritrócitos tornam-se esféricos); Proporção de anticoagulante e sangue; Posição do tubo (vertical);

A velocidade de sedimentação pode ser alterada por variações fisiológicas como a idade, o sexo (feminino), período menstrual e gravidez. Existem diversas variações patológicas da VS (Tabela IX).

Tabela IX: Variações patológicas da VS

Diminuição da VS	Poliglobulias; Hipofibrinogenémia; Anisocitose; Anemia Falciforme; Coagulação intravascular disseminada; Esferocitose hereditária; Policitémia; Uso de anti-inflamatórios.
Aumento da VS	Anemias; Infeções agudas e crónicas; Processos inflamatórios agudos (ex. apendicite); Doenças reumáticas (ex. febre reumática, artrite reumatóide); Necrose tecidual; Leucemias, mielomas, plasmocitomas e neoplasias em geral; Pós-operatório; Gravidez; Cirrose hepática;

De salientar que a proteína C-reativa (PCR) é frequentemente requisitada em paralelo com a velocidade de sedimentação, uma vez que se trata de uma proteína de fase aguda e é um indicador sensível de inflamação, pelo que os dois parâmetros evidenciam ainda mais a presença de processo inflamatório.²³

7.2.4. Hemoglobina glicada

A hemoglobina glicada (HbA1c) resulta de uma modificação química irreversível (glicação) de pós-tradução entre a glicose circulante e os grupos amina livres da hemoglobina. Logo, os valores de HbA1c dependem da concentração de glicose livre no sangue, sendo que o aumento da concentração de glicose leva ao aumento de HbA1c.

A sua determinação é realizada no aparelho ADAMS A1C – HA-8160, e é um bom indicador da glicemia dos últimos 2-3 meses. A HbA1c é uma das análises mais requisitadas em pessoas com diabetes *mellitus*, ou suspeição de diabetes. Fisiologicamente, o valor normal da percentagem de HbA1c situa-se entre 4 a 6% enquanto uma pessoa diabética descompensada pode ter esse valor elevado, sabendo-se que a partir de 7% traduz uma hiperglicemia não controlada, o que pode levar a problemas crónicos e complicações a longo prazo.

De salientar que o seu valor pode ser igualmente alterado por outros fatores como situações de elevado turnover eritrocitário, hemoglobinopatias, presença de outras variantes de hemoglobina, anemia ferropénica ou megaloblástica ou toma de ácido acetilsalicílico, alcoolismo crónico ou hipertrigliceridémia.^{6, 7, 24}

7.2.5. Hemostase

A hemostase é um processo fisiológico que permite preservar a normal funcionalidade vascular e da circulação sanguínea, assegurando e prevenindo a hemorragia espontânea e promovendo a paragem das hemorragias resultantes de lesões vasculares, graças à formação de coágulos de sangue (tampão hemostático).

Existem cinco fatores fundamentais interligados na hemostase: os vasos sanguíneos, as plaquetas, os fatores de coagulação, os inibidores de coagulação e o sistema fibrinolítico. Além de englobar estes fatores engloba também uma sequência de reações locais que têm como objetivo controlar a hemorragia, nomeadamente:

- Resposta vascular – constrição do vaso lesado;
- Hemostase primária – formação do trombo plaquetário;
- Hemostase secundária – formação do coágulo de fibrina;
- Hemostase terciária – fibrinólise;

Como consequência de uma lesão num vaso sanguíneo ocorre a exposição do subendotélio lesado com o fator *von Willebrand* (FVW) promovendo assim a adesão e

ativação das plaquetas. Consequentemente, as plaquetas ativadas libertam substâncias químicas que atraem plaquetas adicionais para o local da lesão, resultando na sua agregação. Estes eventos descritos juntamente com a vasoconstrição são os eventos iniciais da resposta hemostática, que resultam na formação de um tampão hemostático primário. A ativação da cascata da coagulação leva à formação de fibrina que ao aprisionar os agregados de plaquetas nos locais de lesão vascular, converte os tampões primários e instáveis em tampões hemostáticos secundários firmes e estáveis.

O processo fisiológico da hemostase é traduzido no equilíbrio dinâmico entre mecanismos pró-coagulantes e anticoagulantes, aliado a um processo de fibrinólise. Havendo um desequilíbrio, este pode vir a desencadear a ocorrência de fenómenos trombóticos ou hemorrágicos.

A compreensão da hemostase é essencial para a deteção de patologias hemorrágicas e trombóticas bem como para a monitorização da terapêutica anticoagulante.

25

7.2.5.1. Avaliação Global da Coagulação

A coagulação sanguínea corresponde à hemostase secundária, é um processo multifatorial e dinâmico que culmina na ativação sequencial de enzimas e que resulta na formação de trombina em quantidades suficientes para a conversão do fibrinogénio em fibrina.

A cascata da coagulação *in vitro* é experimentalmente dividida em duas vias distintas, a via intrínseca ou de contacto, e a via extrínseca, pois são iniciadas por mecanismos diferentes, contudo ambas convergem numa via comum na qual a ativação do fator X (Xa) leva, em último acontecimento, à formação de fibrina. A via intrínseca da coagulação é desencadeada quando o fator XII é ativado pelo contacto com uma superfície carregada negativamente, estando também envolvidos neste processo outros fatores como o fator XI, a pré-caliceína e o cininogénio de alta massa molecular. Da interação destes elementos é ativado o fator XI que ativa o fator IX. Consequentemente, os fatores IXa e VIIIa na presença de fosfolípidos estimulam a conversão do fator X em Xa. Na via extrínseca, a coagulação tem início quando ao plasma se adiciona tromboplastina e cálcio que remete para a coagulação fisiológica, isto é, os tecidos que sofreram a lesão libertam o fator tecidual que vai complexar com o fator VII. O complexo resultante age sobre o fator X, ocorrendo a sua conversão em Xa. A partir da ativação do fator X as duas vias seguem um caminho comum, no qual ocorre a conversão de protrombina em trombina. A trombina é responsável pela formação da fibrina a partir do fibrinogénio.^{26, 27}

É importante ter em consideração para correlações laboratoriais que alguns fatores de coagulação são produzidos no fígado. Se houver um comprometimento da função hepática, haverá valores diminuídos de fatores de coagulação.

No laboratório AVELAB, são efetuados três testes para a avaliação global da coagulação: Tempo de Protrombina (TP), Tempo de Tromboplastina Parcialmente Ativada (aPTT) e a quantificação do fibrinogénio no equipamento automatizado STA Compact Max, como referido anteriormente.

7.2.5.2. Tempo de Protrombina

O tempo de protrombina (TP) tem como objetivo avaliar a atividade de três fatores dependentes de vitamina k (fatores II, VII, e X), assim como do fator V e do fibrinogénio

Laboratorialmente determina-se o tempo necessário para a formação de coágulo após adição ao plasma de tromboplastina e cálcio.

Na tentativa de minimizar a discrepância entre os diferentes tipos de testes que avaliam o TP, a Organização Mundial de Saúde (OMS) propôs que as tromboplastinas fossem padronizadas, de acordo com uma preparação de referência internacional e criou um índice de sensibilidade internacional (*International Sensitivity Index (ISI)*). Para além disso, o resultado é dado normalmente sob a forma de razão (razão entre o tempo de protrombina da amostra e o tempo de protrombina de um plasma referência) denominada razão internacional normalizada (*International Normalized Ratio - INR*):

$$INR = \left(\frac{TP \text{ do paciente}}{TP \text{ (média dos controlos)}} \right)^{ISI}$$

Concetualmente, o INR traduz-se na razão entre o TP do utente e o TP de um plasma de referência, em segundos. O valor de INR deve ser de 1 numa pessoa saudável. Em doentes sujeitos a terapêutica anticoagulante o valor deve manter-se entre 2-3. Para os doentes com prótese valvular mecânica 2,5-3,5. Um dos principais objetivos do INR é monitorizar a terapêutica anticoagulante oral, sobretudo se se tratar de antagonistas da vitamina K.

O INR pode estar diminuído em estados pró-trombóticos, por exemplo num pós-operatório. Para uma melhor interpretação do TP deve-se também avaliar o aPTT, pois perante um TP aumentado e um aPTT normal deve fazer-se a determinação do fator VII. A

deficiência hereditária de fator VII é uma doença rara e que resulta numa doença hemorrágica, com quadro clínico variável.²⁷

7.2.5.3. Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

O Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (aPTT) corresponde ao tempo que leva a formar-se o coágulo de fibrina após a cascata de coagulação ser ativada pela adição de um ativador de superfície, fosfolípidos (tromboplastina parcial) e cálcio.

A determinação do aPTT é o teste mais utilizado para a avaliação da eficiência dos fatores da via intrínseca, particularmente dos fatores XII, XI, IX e VIII).

É comumente utilizado na monitorização laboratorial da terapia anticoagulante com heparina, sendo também um método de deteção do anticoagulante lúpico e o método mais adequado para investigar coagulopatias por défice de um ou mais fatores da coagulação como a hemofilia.²⁷

O valor de referência para o aPTT é 25,4 – 34,3 segundos.

O aPTT apresenta relação com outros parâmetros laboratoriais como o fibrinogénio e os Dímeros-D. Em situações de PT ou aPTT aumentados podemos estar perante a deficiência de um ou mais fatores da coagulação ou na presença de um inibidor. Para fazer a distinção é comum fazer-se uma diluição do plasma em estudo com uma mistura de plasmas normais, vulgarmente designada por “*pool de plasma*”, em partes iguais e repete-se o teste. Se, por exemplo, o valor do aPTT normalizar, significa que foram consumidos os fatores da coagulação da mistura de plasmas saudáveis e que o valor inicial do aPTT aumentado se deve à diminuição de fatores da coagulação. Neste caso, devem quantificar-se os fatores da coagulação, nomeadamente o VIII e IX que correspondem às patologias mais frequentes, e o fator de *Von Willebrand*, uma vez que é o transportador do fator VIII.

O fator de *Von Willebrand* é uma proteína plasmática de adesão, essencial na hemostasia primária e secundária. Tem a capacidade de ligação às estruturas expostas do subendotélio e promove a agregação plaquetar e ainda se liga ao fator VIII e protege-o da inativação causada pela proteína C e fator IX, mantendo os seus níveis plasmáticos. Defeitos quantitativos e/ou qualitativos no fator de *Von Willebrand* estão na causa da doença genética hemorrágica hereditária de *Von Willebrand*, a mais frequente entre as doenças hemorrágicas congénitas.

Se o valor de aPTT permanecer aumentado significa que existem inibidores da coagulação, sendo a principal suspeita o anticoagulante lúpico. Caso a determinação deste anticoagulante seja positiva, reflete um risco trombótico, pois é um inibidor inespecífico

antifosfolipídico relacionado com a hipoprotrombinémia. Contudo, aumento do aPTT pode dever-se ainda a outras causas como a deficiência de vitamina K e patologia hepática, entre outras.^{28, 29}

7.2.5.4. Tempo de trombina

O tempo de trombina (TT) avalia o tempo de conversão do fibrinogénio em fibrina, última etapa da via comum, após adição de trombina ao plasma do doente, finalizando com a formação do coágulo. É um parâmetro que reflete a quantidade de fibrinogénio presente na amostra. A coagulação deve demorar, por norma, 14 a 16 segundos.

O TT pode estar aumentado devido a inibidores da trombina, como por exemplo a terapêutica com heparina e o fibrinogénio disfuncional ou diminuído como acontece perante um aumento dos produtos de degradação da fibrina.²⁹

7.2.5.5. Fibrinogénio

O fibrinogénio, também conhecido como Factor I da coagulação, é uma glicoproteína presente no plasma, sintetizada no fígado e nos megacariócitos, que se transforma em fibrina sob a ação da trombina e a sua quantificação é considerada um teste específico para a avaliação da coagulação.

A quantificação do fibrinogénio baseia-se no método de *Clauss*, no qual a adição de trombina promove a conversão do fibrinogénio em fibrina. O tempo decorrido desde a adição de trombina até à formação do coágulo é inversamente proporcional ao nível de fibrinogénio. A sua concentração é expressa em mg/dl.

Níveis elevados de fibrinogénio (hiperfibrinémias), implicam a possibilidade de formação de muita fibrina, estando associados a um aumento do risco trombótico, devido ao aumento da agregação dos eritrócitos e da viscosidade do sangue, tal como pode acontecer na diabetes *mellitus*, síndromes inflamatórias e obesidade. Níveis baixos (hipofibrinémia) podem ocorrer em situações como a doença hepática, fibrinólise ou a coagulação intravascular disseminada. Como o fibrinogénio é uma proteína de fase aguda, está frequentemente elevado durante os processos inflamatórios (reumatismo inflamatório, cancro, linfomas).²⁹

7.2.5.6. Dímeros-D

Os Dímeros-D (DD) resultam da degradação enzimática da fibrina pela plasmina, ou seja, os seus valores sistêmicos refletem a degradação da fibrina, considerando-se relevante no estudo da fibrinólise e também da coagulação.

No laboratório AVELAB a sua determinação é feita através de um método manual de imunoaglutinação que utiliza microesferas de latex, que possuem Ac monoclonais específicos para os Dímero-D que, quando presentes no plasma em estudo, levam a aglutinação destas microesferas aumentando a turvação da mistura reacional.

O aumento fisiológico dos dímero-D pode verificar-se em fumadores, exercício físico intenso, gravidez ou pós-operatório. Em caso de patologia, o aumento verifica-se comumente em situações de infeção, coagulação intravascular disseminada, anemia falciforme, tromboembolismo atrial ou venoso (TEV), síndromes coronárias agudas.³⁰

7.2.6. Outras determinações analíticas

7.2.6.1. Coombs direto e indireto

O teste de *Coombs* ou teste da antiglobulina é usado para detetar a presença de anticorpos contra os glóbulos vermelhos circulantes e pode ser designado de direto ou indireto, baseando-se no princípio da hemaglutinação.

O teste de *Coombs* direto permite detetar anticorpos (alo- ou auto-anticorpos) ligados aos eritrócitos do paciente, *in vivo*, — eritrócitos sensibilizados, enquanto o teste de *Coombs* indireto tem como objetivo detetar anticorpos incompletos no soro, incapazes de se ligarem aos eritrócitos. O reagente usado permite reconhecer anticorpos do tipo IgG.³¹

O pedido do teste de *Coombs* pelo clínico pode ser útil no diagnóstico de diversas patologias como: doença hemolítica do recém-nascido, anemia hemolítica em adultos ou pesquisa de reações hemolíticas após transfusões sanguíneas. É comumente utilizado em grávidas Rh negativas, com o objetivo de detetar anticorpos anti-Rh em circulação.

7.2.6.2. Grupo sanguíneo

No setor da coagulação também se realizam os testes para determinar o grupo sanguíneo, que dependem dos antigénios presentes na superfície do eritrócito, sendo os mais importantes o sistema AB0 e o fator Rh. Existem 3 tipos de antigénios: A, B, e O. A cada antigénio descrito corresponde uma isoaglutinina (Anti-A ou Anti-B), a qual está

ausente no soro de um sujeito com o respetivo antígeno. Os reagentes usados para a tipagem sanguínea são anticorpos monoclonais IgM, nomeadamente anti-A, anti-B e anti-D que se misturam com as células do utente numa lâmina de vidro. A técnica usada para a tipagem do sistema Rh é igual à do sistema ABO, ou seja, aglutinação. Os grupos Rh negativos (ausência de antígeno D) e os AB precisam de confirmação pelo método em tubo, utilizando um reagente com clones diferentes.³²

7.2.6.3. Crioglobulinas

As crioglobulinas são imunoglobulinas séricas, que insolubilizam a temperaturas baixas e se dissolvem após aquecimento, aparecendo fisiologicamente em níveis baixos.

Em condições fisiopatológicas, o seu aumento é designado crioglobulinémia e podem ser classificadas em três tipos de acordo com a imunoglobulina presente. Os complexos proteicos começam a depositar-se nos vasos sanguíneos de médio e grande calibre levando à lesão endotelial e danos nos órgãos alvo. Os sintomas associados à crioglobulinémia são particularmente vasculares (púrpura, urticária ao frio, dor e cianose nas extremidades).

O método utilizado para a deteção de crioglobulinas no laboratório AVELAB é o método manual. A colheita da amostra requer um aquecimento prévio das seringas e tubos de colheita (são obtidos três tubos de soro), condições que evitam a crioprecipitação. A amostra é incubada a 37°C durante 2 horas para solubilizar as crioglobulinas. Após a incubação procede-se à centrifugação e remove-se 1 mL de soro para dois tubos de precipitação, um que é incubado a 4° Celsius e o outro à temperatura ambiente. Ao fim de 24 horas observam-se os resultados:

- Ausência de precipitação ou partículas esbranquiçadas – Prova negativa. Contudo, a observação pode estender-se até ao 7º dia, caso não se tenha observado precipitado.
- Presença de precipitado esbranquiçado – Procede-se à lavagem com soro salino, centrifugação e incuba-se a 37 °C durante 30 minutos para reexaminar.
- Prova positiva – Presença de discreta precipitação, turvação franca ou turvação de aspeto leitoso.

Uma prova positiva é característica de diversas patologias como mieloma, macroglobulinémia de *Waldenström*, leucemia linfocítica crónica, lúpus eritematoso sistémico, síndrome de *Sjögren* e doenças hepáticas (hepatite crónica, cirrose e hepatite C), sendo um dado crucial no seu diagnóstico.³³

7.2.6.4. Crioaglutininas

As crioaglutininas ou aglutininas frias são anticorpos da classe IgM dirigidos contra o antígeno de superfície dos eritrócitos, sendo capazes de os aglutinar a frio. Fisiologicamente são encontrados baixos níveis e a sua alteração para níveis patológicos ocorre em casos de linfoma, cirrose, sarcoidose e em várias patologias infecciosas, como a pneumonia por *Mycoplasma Pneumoniae*, mononucleose infecciosa, entre outras. A doença das aglutininas frias caracteriza-se por uma anemia hemolítica crônica, que tem maior incidência no sexo masculino após os 60 anos de idade, sendo muito característico a acrocianose provocada pelo frio devido à aglutinação dos eritrócitos nos capilares cutâneos.

Para a determinação das crioaglutininas é necessário a obtenção de glóbulos vermelhos. Após a colheita do sangue para um tubo com citrato de sódio, centrifuga-se a amostra e de seguida retira-se o plasma e adiciona-se soro fisiológico na mesma proporção do plasma, de modo a fazer a lavagem dos glóbulos três vezes. Após as lavagens, são realizadas uma série de diluições com o soro do doente, soro fisiológico e as hemácias. Os tubos são incubados durante uma hora e meia, em diferentes condições:

- Aglutininas (em meio salino a 4-6°C), para pesquisa de anticorpos naturais.
- Aglutininas (em meio salino a 37°C);
- Aglutininas (em meio salino a 37°C);

Após o período de tempo estipulado, verifica-se se há ou não aglutinação das hemácias ao microscópio. A presença das crioaglutininas pode interferir laboratorialmente com outros testes como a contagem de eritrócitos, determinação dos índices eritrocitários e do grupo sanguíneo.³⁴

8. SETOR DA BIOQUÍMICA

A Bioquímica Clínica contempla a determinação de analitos presentes nos fluidos corporais como eletrólitos, proteínas e lípidos necessários para o diagnóstico, monitorização e tratamento de patologias.

O setor da bioquímica do laboratório AVELAB integra a área da imunoquímica, que permite a análise de vários parâmetros laboratoriais em diferentes amostras, sendo o soro a amostra mais utilizada. Dos recursos humanos do setor da Bioquímica fazem parte três técnicos de diagnóstico e terapêutica (TSDT) e um farmacêutico especialista em Análises Clínicas. Os três TSDT têm como função a coordenação, gestão do Controlo de Qualidade Interno (CQI) e externo (CQE), assim como a validação técnica dos resultados. É caracterizado por ser um setor inteiramente automatizado, sendo fundamental a intervenção diária dos técnicos no controlo de qualidade, desde a calibração à validação técnica.

A maioria das análises é realizada no aparelho *Architect Ci8200* da *Abbott* complementando com o *Architect i1000* para análises mais específicas. É o setor com maior fluxo diário de amostras.

Como referido anteriormente, o fluido predominante é o soro, obtido após colheita do sangue para um tubo contendo gel e sílica e centrifugado a 3500 rpm durante 15 minutos. É fundamental ter em atenção diferentes aspetos que podem condicionar a qualidade da amostra como o tempo de retração do coágulo ou a colheita inadequada que podem originar fibrina e/ou hemólise que afetam parâmetros bioquímicos. Situações de hemólise afetam a quantificação de potássio e da alanina transferase (AST), por exemplo.³⁵ Após a centrifugação, devem ser separadas alíquotas para os diferentes setores. Além do soro, também se analisa a urina – primeira da manhã e urina de 24 horas. Em casos de urina de 24 horas é necessário registar o volume total no processo. Determinadas análises como oligoelementos e ACTH, são enviadas para um laboratório exterior.

Durante a duração do estágio no setor da bioquímica acompanhei toda a rotina laboratorial, desde a triagem dos tubos à obtenção do resultado.

8.1. AUTO-ANALIZADORES E RESPECTIVAS METODOLOGIAS

No laboratório de Bioquímica do AVELAB para o processamento das análises bioquímicas, existem dois auto-analizadores, o *Architect Ci8200* e o *Architect i1000*.

O auto-analizador *Architect Ci8200* é o mais utilizado, sendo um sistema aberto automatizado que permite o fluxo e processamento rápido e contínuo das amostras, e é

constituído por dois módulos, o da bioquímica e o da imunologia. Neste relatório apenas será abordado o da bioquímica. O *Architect Ci8200* apresenta elevada sensibilidade devido às técnicas usadas, como a espectrofotometria, turbidimetria, nefelometria e potenciometria.

Muito sucintamente, na espectrofotometria ocorre a absorção de radiação eletromagnética de determinado comprimento de onda da região do visível ou do UV próximo, pela solução (amostra), enquanto na turbidimetria e nefelometria ocorre essencialmente dispersão da radiação pelas partículas em suspensão da amostra, diferindo basicamente uma da outra no posicionamento do detetor. A potenciometria é uma técnica eletroquímica que se baseia no uso de elétrodos para medir potenciais elétricos. Um dos elétrodos é sensível à atividade do analito (elétrodo seletivo) e o potencial medido entre esse elétrodo e o de referência (de potencial constante e conhecido) depende da concentração do analito.^{37,38,39}

8.2. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

8.2.1. Metabolismo dos Hidratos de Carbono

8.2.1.1. Glicose

A glicose é um monossacarídeo que deriva do metabolismo dos hidratos de carbono sendo a principal fonte de energia para os tecidos. É armazenada no fígado e no músculo-esquelético na forma de glicogénio e no tecido adiposo na forma de triglicerídeos. A glicémia varia ao longo do dia consoante a ingestão de alimentos e a sua síntese endógena hepática e renal a partir de intermediários como o lactato, o glicerol e outros produtos do metabolismo (neoglicogénese), sendo regulada pela insulina, cortisol e o glicogénio.

Alteração ao nível dessas hormonas gera um desequilíbrio na homeostasia da glicose havendo ou o seu aumento (hiperglicémia), considerada a alteração mais comum, ou a sua diminuição (hipoglicémia), dependendo das suas causas (Tabela X). A hiperglicemia pode ser resultante da ausência total da secreção de insulina, como após uma pancreatectomia total ou pode ser secundária a outros distúrbios endócrinos ou mesmo devido a um anticorpo contra o recetor da insulina ou até fármacos que bloqueiam a libertação da mesma.⁴⁰

A glicémia é uma das análises mais requisitadas no laboratório AVELAB.

Tabela X: Causas dos desequilíbrios nos níveis de glicose no sangue

Hipoglicémia (glicémia em jejum 50 e 60 mg/dL)	Patologia hepática, insuficiência renal grave, septicémia, neoplasias, deficiências hormonais ou nutricionais, hiperinsulinémia (neoplasia pancreática), hiperinsulinémia (insulinoterapia excessiva, ou induzida por fármacos ou álcool)		
Hiperglicémia	Primária	Diabetes <i>mellitus</i> insulino-dependentes/não-dependentes	
	Secundária	Resultante de patologias pancreáticas	Inflamação (Pancreatite aguda ou crónica), pancreatectomia, Infiltração pancreática (hemocromatose, tumores), traumas pancreáticos
		Relacionada com outras patologias endócrinas	Acromegalia, Síndrome de Cushing, Feocromocitoma, Hiperaldosteronismo, entre outros.
		Resultante de fármacos	Esteróides, diuréticos tiazídicos, propranolol, fenitoína e diazóxido, contraceptivos orais, aloxana e estreptozotocina
		Relacionada com outras patologias	Insuficiência renal crónica, hepatopatia crónica, infeção
		Causas diversas	Gestação, insulina anormal

A patologia mais comum resultante do desequilíbrio da glicose é a *Diabetes Mellitus* (DM), sendo a determinação mais frequentemente utilizada para complementar o seu diagnóstico e a sua monitorização^{40, 41}.

A diabetes *mellitus* pode ainda ser classificada em três tipos:

- Tipo I (5-10%): Resulta da produção insuficiente de insulina pelo pâncreas, e os utentes necessitam de recorrer a insulinoterapia (injeções de insulina);
- Tipo II (90%): As células não respondem à insulina, devido a uma deficiência nos recetores e transportadores da glucose, conferindo uma certa resistência à insulina.
- Gestacional: Ocorre durante a gravidez, quando a grávida apresenta níveis elevados de glucose no sangue, sem ter diabetes. É reversível, após o nascimento do bebé.

O diagnóstico da diabetes *mellitus* é feito com a confirmação, de acordo com a Direção Geral de Saúde, de um dos seguintes parâmetros:

- Glicémia em jejum ≥ 126 mg/dl; **ou**
- Sintomas clássicos + glicémia ocasional ≥ 200 mg/dl; **ou**
- Glicémia ≥ 200 mg/dl às 2 horas, na prova de tolerância à glucose oral (PTGO) com 75 g de glucose; **ou**
- Hemoglobina glicada A1c (HbA1c) $\geq 6,5\%$ ⁴²

8.2.1.2. Prova de tolerância à glucose oral

A prova de tolerância à glucose oral (PTGO) é realizada frequentemente durante a gravidez ou na monitorização de indivíduos com níveis de glicémia ambíguos. A sua avaliação é feita em três fases, iniciando com o jejum. Posteriormente administra-se uma sobrecarga de 75 g de glucose ao utente e faz-se a medição da glicémia após 120 minutos. No caso de diagnóstico de diabetes gestacional inclui uma avaliação extra aos 60 min.⁴²

No caso da diabetes gestacional o diagnóstico é feito de acordo com os seguintes valores:

- Glicémia em jejum (início da gravidez) ≥ 92 mg/dl e < 126 mg/dl (ou $\geq 5,1$ e $< 7,0$ mmol/l);
- Glicémia em jejum < 92 mg/dl (24-28 semanas de gestação) → Prova de tolerância oral à glucose (PTGO) com 75 g de glucose. É critério para diagnóstico a confirmação de um ou mais valores:
 - às 0 horas (jejum), glicémia ≥ 92 mg/dl (ou $\geq 5,1$ mmol/l);
 - à 1 hora, glicémia ≥ 180 mg/dl (ou $\geq 10,0$ mmol/l);
 - às 2 horas, glicemia ≥ 153 mg/dl (ou $\geq 8,5$ mmol/l)⁴²

8.2.2. Metabolismo dos lípidos

Os lípidos são moléculas lipossolúveis, com diversas funções, nomeadamente, como precursores de hormonas, fonte de energia e constituintes essenciais da estrutura membranar de todas as células.

O perfil lipídico no laboratório AVELAB é obtido através da determinação do colesterol, triglicerídeos e do colesterol presente nas lipoproteínas. A análise desse perfil

tem um significado clínico relevante para auxiliar no cálculo do risco de doença cardiovascular (ex. aterosclerose); no diagnóstico de diabetes *mellitus*; ou no diagnóstico de perturbações no metabolismo dos lípidos, dislipidémias.

Para a determinação das quatro classes principais de lipoproteínas: quilomicrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL) o requisito fundamental é o jejum de 8-12 horas.^{43,44}

8.2.2.1. Colesterol total

O colesterol total provém da dieta e em maior quantidade da síntese a partir da Acetil-CoA ao nível do hepatócito e encontra-se em duas formas: livre e esterificado (nas lipoproteínas). É dos lípidos plasmáticos de maior interesse.

O aumento da sua concentração (hipercolesterolemia) pode advir de hiperlipidémias, patologias hepáticas, cardíacas ou causas genéticas (hipercolesterolemia familiar), constituindo um risco aumentado de doenças cardiovasculares. Existem fatores variáveis que afetam os níveis de colesterol, como o *stress*, idade, sexo, gravidez, hipotireoidismo, síndrome de *Cushing*.⁴⁴

8.2.2.2. Triglicerídeos

Os triglicerídeos (TG) são provenientes de duas vias: exógena (através da absorção a partir da dieta) e endógena (síntese hepática). São constituídos por três ácidos gordos esterificados a um glicerol e precisam de lipoproteínas (quilomicrons ou VLDL) para o seu transporte e armazenamento no tecido adiposo.

A sua determinação é relevante no diagnóstico e monitorização de doentes com alterações no metabolismo dos lípidos, patologias endócrinas, diabetes *mellitus*, obstrução hepática e outras patologias.

O seu aumento (hipertrigliceridemia) advém de diversos fatores como: dieta rica em hidratos de carbono, diabetes *mellitus* tipo II, hipotireoidismo, gravidez (duplicam fisiologicamente durante o terceiro trimestre), doenças auto-imunes, hipertrigliceridemia familiar, deficiências na sua metabolização (aumento das VLDL, diminuição do seu catabolismo), entre outros.^{44,45}

8.2.2.3. Lipoproteínas de alta densidade (High Density Lipoproteins)

As lipoproteínas de alta densidade (HDL) são as lipoproteínas mais pequenas e com maior densidade e são constituídas predominantemente por proteínas e colesterol esterificado, sendo os fosfolípidos os lípidos maioritários na sua constituição.

Funcionalmente as HDL captam o colesterol em excesso nas células e fazem o transporte reverso do colesterol para o fígado onde é catabolizado em sais biliares constituindo uma forma de excreção, pelo que concentrações elevadas de colesterol-HDL são um bom índice de proteção contra patologias coronárias. Contrariamente, valores reduzidos de colesterol-HDL representam um fator de risco para doenças cardiovasculares.^{44,45}

8.2.2.4. Lipoproteínas de baixa densidade (Low Density Lipoproteins)

As lipoproteínas de baixa densidade, LDL, são as lipoproteínas mais aterogénicas devido a serem as responsáveis pela deposição de colesterol nos tecidos periféricos, particularmente na parede das artérias, constituindo um risco de desenvolvimento da aterosclerose.

Derivam das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e possuem mais lípidos (80%) do que proteínas (20%) e a maioria dos lípidos são constituídos por colesterol esterificado e triglicédeos. Quando ocorre uma diminuição dos recetores a nível do hepatócito estas ficam sujeitas à capacidade oxidativa de células endoteliais, levando à hipercolesterolemia-LDL e quando são oxidadas apresentam propriedades pró-ateroscleróticas.

A determinação do colesterol das LDL no laboratório AVELAB é feita de forma indireta, ou seja, é calculada, através da fórmula de *Friedwald* mas apenas quando os triglicéridos se encontram iguais ou inferiores a 400mg/dL:

$$\text{Colesterol LDL (mg/dL)} = \text{Colesterol total} - \left(\frac{\text{Triglicerídeos}}{5} \right) - \text{Colesterol HDL}$$

A divisão por cinco nos triglicéridos corresponde a uma estimativa do colesterol presente nas VLDL.⁴⁴

As concentrações das duas lipoproteínas referidas anteriormente podem aumentar (hiperlipoproteinémias) ou aparecerem diminuídas (hipolipoproteinémias).

8.2.2.5. Hiperlipoproteinémias

As hiperlipoproteinémias são classificadas de acordo com a classificação de *Fredrickson*, avaliando os seus cinco fenótipos, como representado na Tabela XI.⁴⁵ A classificação de *Fredrickson* é acompanhado pelo perfil eletroforético das lipoproteínas, contudo, no laboratório AVELAB não é muito comum sendo que quando há o seu pedido é enviado para um laboratório exterior.

Tabela XI: Classificação de hiperlipoproteinemias.

Fenótipo	Coolesterol (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)	HDL	LDL	Lipoproteínas	Comentários	Causas Secundárias
I (Raro)	160-400	1500-5000	N ou ↓	N		↑ Quilomicrons; Pré-beta normal ou com ligeiro aumento; ↓ de beta e alfa; Soro apresenta sobrenadante cremoso;	Pancreatite aguda, Dor abdominal, Diabetes Mellitus
IIa (comum)	>240	<200	N ou ↓	↑↑		↑ de beta; Pré-beta normal ou diminuída; Alfa normal; Quilomicrons normais; Soro Transparente;	Risco aumentado de doenças cardiovasculares, Hipotiróidismo, Síndrome Nefrótico, Obstrução biliar, Disglobulinemia
IIb (comum)	240-500	200-500	N ou ↓	↑↑		↑ de beta; ↑ de pré-beta; Alfa Normal; Quilomicrons normais; Soro turvo;	Iguals às do tipo IIa, Gota
III (Raro)	300-600	300-600	N ou ↓	N a ↓		↑ de Beta; Pré-beta normal ou ligeiramente aumentada; Alfa normal; Quilomicrons normais; Soro turvo;	Diabetes Mellitus, Hepatopatia, Hipotiróidismo
IV (mais comum)	<240	300-1000	N ou ↓	N		↑ pré beta Beta e alfa normais ou ligeiramente reduzidas Quilomicrons normais; Soro turvo;	Risco aumentado de doenças cardiovasculares, Hipotiróidismo Síndrome nefrótico, Gravidez, Diabetes Mellitus, Pancreatite Disglobulinemia, Urémia, Gota
V (rara)	160-400	1500-5000	N ou ↓	N		Aumento dos quilomicrons Aumento de pré-beta Diminuição de beta e alfa; Plasma leitoso;	Pancreatite, Diabetes Mellitus, Disglobulinemia

É importante ter em consideração na rotina laboratorial que existem parâmetros que afetam a variação da concentração dos lípidos e lipoproteínas plasmáticas como idade, sexo, peso, dieta, álcool, exercício físico, fatores genéticos, fármacos ou distúrbios crônicos (hipotireoidismo, hepatopatia obstrutiva, nefropatia). As concentrações de colesterol aumentam com a idade e a partir do início da vida adulta, em ambos os sexos.^{45,46}

8.2.3. Equilíbrio electrolítico e ácido-base

O equilíbrio hidro-eletrolítico é mantido pelos eletrólitos presentes nos espaços extracelular e intracelular, que permitem manter a osmolaridade e a neutralidade elétrica celular, nomeadamente o sódio (Na^+), potássio (K^+), cloro (Cl^-) e bicarbonato (HCO_3^-).

O ionograma é a análise habitualmente requisitada e que traduz a concentração desses iões.

8.2.3.1. Sódio

O sódio é o principal catião extracelular e o responsável pela manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico. Os sistemas de transporte catiónico ativo presentes na membrana celular mantêm os níveis de Na^+ elevados no espaço extracelular.

Outros mecanismos de controlo do sódio encontram-se a nível renal (sistema renina-angiotensina aldosterona, péptido natriurético atrial) visto que é filtrado livremente nos glomérulos.

A homeostasia do sódio pode ser alterada e levar a situações de hiponatrémia, pseud-hiponatrémia ou hipernatrémia. As causas adjacentes à hiponatrémia pode ser devido a vómitos persistentes, uso de diuréticos, diarreia prolongada, entre outros, sendo distúrbios eletrolíticos mais comum. A pseudo-hiponatrémia pode ocorrer em casos de amostras lipémicas por haver um aumento anormal de macromoléculas ou volume de água diminui. Casos de hipernatrémia ocorrem frequentemente em situações de desidratação.⁴⁶

8.2.3.2. Potássio

O potássio é o principal catião intracelular e a sua concentração é mantida devido ao K^+ estar continuamente a ser bombeado para o interior das células, contra um gradiente de concentração mantendo os gradientes iónicos, fundamental para a manutenção do potencial de membrana. A quantidade de K^+ é estabelecida pela ingestão na dieta e é absorvido pelo

trato gastrointestinal e distribuído e a sua excreção é a nível renal, sendo o seu principal ponto de regulação.

Alterações na homeostasia do K^+ podem originar situações de hipercaliémia, pseudo-hipercaliémia ou hipocaliémia.⁴⁶

8.2.3.3. Cloro

O cloreto é o principal anião extracelular responsável pela pressão osmótica, equilíbrio eletrolítico e ácido-base. Geralmente os seus valores acompanham alterações nos valores do sódio, caso não se reflita essas alterações podem ser devido a desequilíbrios ácido-base. Alterações nas concentrações do cloro podem originar situações de hipoclorémia ou hiperclorémia .

Em situações de hipoclorémia se a concentração sérica de sódio não diminuir, está a ocorrer retenção de bicarbonato, e conseqüentemente aumento de Cl^- . Em casos de acidose metabólica ou alcalose respiratória, há aumento da concentração de Cl^- devido à compensação renal pela excreção de bicarbonato.⁴⁶

8.2.4. Função renal

O rim é um órgão endócrino, que desempenha inúmeras funções, desde a filtração do sangue, excreção de produtos finais do metabolismo formando a urina, controlo da concentração do fluído extracelular e de vários iões e a regulação da água. Apresenta também funções endócrinas, produzindo hormonas como a eritropoietina, renina, 1,25-dihidroxi vitamina D3, prostaglandinas entre outras.⁴⁷

A função renal é estudada a partir de biomarcadores que permitem avaliar a função glomerular e a função tubular.

Os biomarcadores normalmente avaliados no laboratório AVELAB, são a ureia, o ácido úrico e a creatinina, que dão informação acerca da função glomerular. Também ainda dentro da função glomerular e que é indicativo da permeabilidade glomerular é realizado um outro teste designado de microalbuminúria.

8.2.4.1. Ureia

A ureia é o principal produto nitrogenado resultante do catabolismo das proteínas e aminoácidos no fígado, e é transportada para os rins, filtrada pelo glomérulo, reabsorvida a

nível proximal (40-50%) e a restante é eliminada. A sua concentração (urémia) é predominantemente controlada pelos rins através da filtração e reabsorção.

A sua determinação pode ser feita no soro ou urina, sendo o mais comum no soro. Na interpretação dos valores laboratoriais da ureia elevados, as suas causas podem ser diferenciadas em pré-, renais, ou pós-renais, como descrito na Tabela XII quando interpretadas conjuntamente com os valores da creatinina.⁴⁷

Tabela XII: Diferentes causas da azotemia

Azotemia Pré-Renal	Disfunção na perfusão renal	↓Fluxo urinário, ↑reabsorção tubular passiva
	Dietas hiperproteicas	↑Síntese da ureia
	Traumatismos (choque), queimaduras (diminuição do volume sanguíneo), hemólise	↑ Catabolismo proteico
Azotemia Renal	Insuficiência renal aguda ou crónica, glomerulonefrite, Nefrite: crónica; tubular ou glomerular	↓TFG, ↑ dos níveis plasmáticos de ureia até igualarem à quantidade excretada na urina
Azotemia Pós-Renal	Obstrução urinária	Pedras nos rins, prostatites, Aumento acentuado da ureia em relação à creatinina

Em casos mais raros pode ocorrer a diminuição acentuada da ureia, devido a hepatopatias graves (fígado incapaz de sintetizar ureia a partir da amónia em circulação).⁴⁷

8.2.4.2. Creatinina

A creatinina é filtrada livremente a nível do glomérulo, sendo excretada exclusivamente a nível renal, fornecendo uma boa avaliação da capacidade de filtração dos glomérulos, visto que, a concentração plasmática de creatinina é inversamente proporcional à taxa de filtração glomerular (TFG).

Os valores de creatinina variam fisiologicamente de acordo com a idade, sexo, massa muscular da pessoa e fármacos. O seu aumento é sugestivo de patologias renais (glomerulonefrites, pielonefrites, obstruções do trato urinário, entre outros) ou de lesões

musculares, entre outras causas. Os valores de creatinina podem diminuir após a toma de esteróides ou por causas fisiológicas como acontece na gravidez.

Os níveis plasmáticos de creatinina podem ser complementados com os níveis urinários da mesma, pela avaliação da depuração da creatinina numa urina de 24 horas permitindo o cálculo da *clearance* da creatinina.

A *clearance* da creatinina permite avaliar a capacidade da filtração renal através da determinação da velocidade de excreção urinária da creatinina num dado intervalo de tempo, geralmente 24 horas.⁴⁷ A sua determinação é calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Clearance da creatinina (ml/min)} = \frac{\text{creatinúria (mg/dL)} \times \text{débito urinário (ml/min)}}{\text{creatinémia (mg/dL)}}$$

O resultado obtido permite avaliar a capacidade de filtração renal, sendo que a *clearance* de creatinina é inversamente variável com a concentração sérica de creatinina, isto é, quando a creatinina no soro é elevada a depuração é diminuída, sugestivo de dano renal.⁴⁷ É usualmente utilizada na prática clínica para verificar a progressão da nefropatia ou a resposta terapêutica.⁴⁹

8.2.4.3. Ácido úrico

O ácido úrico é o produto final da degradação das purinas. A sua síntese ocorre no fígado e é essencialmente eliminado na urina sendo filtrado pelo glomérulo e parcialmente reabsorvido e secretado no túbulo renal.

O aumento de ácido úrico no soro (hiperuricémia) pode ser devido ao aumento da síntese das purinas e pode conduzir a condições patológicas devido ao facto de ser um composto insolúvel no plasma pelo que tem tendência a depositar-se nas articulações originando inflamação (gota), mas outras patologias podem estar na causa do seu aumento como a anemia falciforme e a insuficiência renal, onde a eliminação de ácido úrico fica comprometida e é acompanhado por valores alterados de creatinina e ureia. Se não houver uma alteração nos marcadores renais, significa que o aumento do ácido úrico se deve a desequilíbrios no catabolismo das purinas.^{47,48}

8.2.4.4. Microalbuminúria

A microalbuminúria permite avaliar a permeabilidade glomerular, e indica a quantidade de albumina excretada na urina, quantidade essa que é relativamente pequena,

mas já é indicativa de alteração glomerular. Quando ocorre um aumento da excreção da albumina a nível urinário (superior a 30 mg/dia) é sugestivo de patologia renal ou de diabetes mellitus.⁴⁹

8.2.5. Função hepática

Os testes comumente realizados para a avaliação da função hepática incluem as determinações séricas da alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), γ -glutamil transferase (GGT), bilirrubina, tempo de protrombina ou o INR e a albumina sérica, que refletem a integridade hepatocelular, o trato biliar e a atividade do sistema reticuloendotelial.⁵²

8.2.5.1. Alanina aminotransferase

A alanina aminotransferase (ALT) também designada por glutamato piruvato transaminase, é uma enzima presente em elevadas quantidades no citoplasma dos hepatócitos e menos predominante, mas também localizada no músculo-esquelético e rim.

Os níveis séricos aumentados desta enzima é são indicativos de que ocorreu uma alteração na integridade da membrana dos hepatócitos (destruição hepatocelular), que pode ser devida a causas diversas tais como hepatites (virais, tóxicas), cirrose, mononucleose infecciosa, colestase extra-hepática, carcinoma hepático e abuso crónico de álcool. O aumento também pode ocorrer no caso de lesões celulares a nível renal ou muscular (rabdomiólise), mas é menos comum.

A sua interpretação deve ser acompanhada conjuntamente com outros analitos, como a Aspartato Aminotransferase (AST).^{50,51}

8.2.5.2. Aspartato Aminotransferase

A aspartato-aminotransferase (AST), também designada por glutamato-oxaloacetato transaminase é uma enzima citoplasmática e mitocondrial. Está igualmente presente no músculo cardíaco, músculo esquelético, rins, cérebro, pâncreas, pulmões, leucócitos e eritrócitos sendo um marcador hepatocelular menos sensível e específico do que a ALT.

No entanto, quando ocorre um dano nesse tecido (fígado) ocorre o seu aumento na corrente sanguínea, pelo que a sua interpretação deve ser feita tendo em atenção os valores

da ALT. Deve ter-se, igualmente em consideração o aspeto da amostra uma vez que, amostras hemolisadas apresentam valores aumentados de AST.⁵²

O aumento dos valores da ALT e AST podem ser significativas de hepatite viral ou lesão celular hepática medicamentosa, mesmo antes da manifestação de sinais e sintomas da doença (como icterícia). Nas hepatites alcoólicas os níveis de AST são mais elevados do que os de ALT, sendo o contrário em situações de hepatite aguda. Condições inflamatórias que afetem o fígado manifestam-se com o aumento significativo da ALT em comparação com a AST.⁵¹

8.2.5.3. Gama-Glutamil Transferase

A γ -glutamil transferase (GGT) está presente no túbulo renal, fígado, pâncreas e na membrana dos canalículos biliares e regula o transporte de aminoácidos através das membranas celulares.

A sua determinação é relevante no diagnóstico e monitorização de patologias do sistema hepático e principalmente do sistema biliar, em casos de lesão canicular. Existem vários fatores que alteram os níveis da γ -GT, como condições fisiopatológicas (hipertensão, diabetes, hiperuricemia), fatores genéticos, ingestão de alimentos, gravidez, fármacos. O seu aumento é sugestivo de obstrução biliar intra e pós hepática e sendo uma enzima indutível pelo etanol (o etanol induz a transcrição da GGT hepática microssómica) a sua concentração também aumenta em casos de ingestão contínua de álcool (alcoolismo e hepatite alcoólica aguda).⁵¹

Aumento conjunto da GGT e da ALP é sugestivo de dano ao nível do trato biliar, contudo, é uma enzima mais sensível que a fosfatase alcalina.

8.2.5.4. Fosfatase alcalina

A fosfatase alcalina é uma enzima presente no fígado, tecido ósseo, intestino, rim e placenta. No fígado encontra-se particularmente no trato biliar. A fosfatase alcalina sérica encontra-se predominantemente na forma livre e numa menor extensão forma complexos com lipoproteínas e é responsável pela hidrólise de uma grande variedade de substratos naturais e sintéticos.

Em casos de patologias hepatobiliares os valores de fosfatase alcalina encontram-se elevados, uma vez que não havendo excreção dos sais biliares devido à obstrução há a destabilização da membrana canalicular e dos hepatócitos originando a libertação da ALP.

Em casos de obstrução no trato biliar por litíase nos ductos ou canalículos, em processos infecciosos resultantes da colangite ascendente ou em lesões invasivas, a fosfatase alcalina atinge valores 10x superiores ao seu valor fisiológico. Na colestase obstrutiva geralmente aumenta para o dobro.

O seu aumento também pode ser indicativo de distúrbios ósseos devido ao aumento da atividade dos osteoblastos, ou pode ser considerado fisiológico no decorrer da adolescência e na gravidez. Na interpretação dos resultados do boletim de análises, um aumento isolado é sugestivo de causa extra-hepática.^{50,51}

8.2.5.5. Lactato desidrogenase

A enzima lactato desidrogenase (LDH) é uma enzima glicolítica responsável pela catalisação da oxidação reversível do L-lactato a piruvato. Está presente em vários tecidos, mais precisamente as isoenzimas LDH₁ e LDH₂ predominam no musculo cardíaco, rins e eritrócitos enquanto as isoenzimas LDH₄ e LDH₅ predominam no fígado e músculo esquelético.

A sua atividade encontra-se relativamente elevada em casos de hepatite, mas dada a pouca especificidade deve ser sempre interpretada juntamente com outros analitos.

8.2.5.6. Bilirrubina total

A bilirrubina é um pigmento tetrapirrólico (amarelo-alaranjado) resultante maioritariamente do catabolismo da hemoglobina (grupo heme) dos eritrócitos senescentes no sistema reticuloendotelial. Em menor quantidade é produzida durante a destruição prematura dos eritrócitos na medula óssea e do catabolismo de proteínas que contêm grupo heme (mioglobina, por ex.).

Do catabolismo do heme resulta a bilirrubina não conjugada, insolúvel, que é transportada para o fígado onde é conjugada com o ácido glucurónico, por meio de uma reação catalisada pela UDP-glucuroniltransferase, resultando a bilirrubina solúvel que é posteriormente excretada na bilis.

Casos de hiperbilirrubinémia podem ser devidos ao aumento da bilirrubina não conjugada, ou da conjugada ou de ambas. Casos de hiperbilirrubinémia não conjugada estão associados à produção excessiva de bilirrubina, diminuição da captação hepática ou conjugação ou ambos. Observa-se em casos de anemia hemolítica, infeções virais e bacterianas, síndrome de Gilbert (defeito genético da UDP-glucuroniltransferase), síndrome

de Crigler-Najjar, grandes hematomas ou em casos de eritropoiese ineficaz. Casos de colestase, hepatite alcoólica ou viral aguda, cirrose, colangite, síndrome de Dubin Jhonson levam a aumento da bilirrubina conjugada.⁵³

8.2.5.6.1. Interpretação laboratorial da Bilirrubinémia

Alterações no metabolismo da bilirrubina podem levar ao seu aumento (hiperbilirrubinémia) sugerindo causas pré-hepática, hepática ou pós-hepática, como representado na Tabela XIII. A interpretação conjunta dos valores da bilirrubina não conjugada e conjugada são fundamentais para essa distinção. Aumentos de bilirrubina podem originar sinais clínicos como icterícia (deposição da bilirrubina não conjugada na pele, adquirindo uma cor amarela).^{47,53}

Tabela XIII: Alterações que conduzem ao aumento da bilirrubina

Causa		
Pré-hepática (↑bilirrubina não-conjugada)	Aumento da produção de bilirrubina	Condições de hemólise, anemia hemolítica
	Falha na captação da bilirrubina pelo fígado	Fármacos; Falência hepática;
Hepática (↑bilirrubina não-conjugada e conjugada)	Má absorção ou falha na conjugação da bilirrubina	Síndrome de Gilbert (patologias genéticas); hepatite; Cirrose avançada;
	Secreção anormal da bilirrubina na bÍlis	Lesão hepatocelular generalizada
Pós-hepática (↑bilirrubina conjugada)	Obstrução do fluxo biliar; Defeito nos transportadores da bilirrubina conjugada para os ductos dos canalículos biliares ou por obstrução à sua passagem para o sistema biliar	Colestase (obstrução no sistema biliar); Hepatite viral, alcoólica; Carcinomas; Doença hepática auto imune; Fármacos

8.2.6. Metabolismo Proteico

As proteínas são moléculas biológicas com inúmeras funções no organismo e presentes quer no compartimento intracelular quer no extracelular, embora em maior

concentração no primeiro. A maioria das proteínas são sintetizadas e catabolizadas a nível hepático, exceto as imunoglobulinas.

A sua determinação faz-se usualmente no soro e urina e é um auxiliar no diagnóstico de patologias agudas ou crónicas. Podemos genericamente dividi-las em albumina e globulinas.

As alterações nos valores fisiológicos das proteínas totais no soro ocorrem especificamente por alterações no volume de água no plasma ou alteração na concentração de determinada(s) proteína(s). Alterações agudas a nível hepático levam a uma alteração ligeira no perfil das proteínas plasmáticas, mas em casos graves ocorre a diminuição da concentração de todas as proteínas (exemplo: cirrose). A hipoproteinémia corresponde à diminuição das proteínas plasmáticas e pode surgir na sequência de patologias renais, inflamações gastrointestinais, hemorragias, situações em que ocorre a perda excessiva de proteínas e quando há aumento da volémia. O aumento das proteínas plasmáticas pode resultar de condições de desidratação, diarreia, doença de Addison, acidose diabética ou mieloma múltiplo.

Para o estudo do metabolismo das proteínas além da determinação da sua concentração é importante perceber se há alteração nas diferentes frações obtidas por eletroforese. A Figura 4 representa o perfil eletroforético das proteínas do plasma normalmente obtido quando a amostra é colocada num meio de suporte como a agarose, a um pH constante e submetida a uma corrente eléctrica. Essencialmente, de acordo com a carga eléctrica das proteínas é possível visualizar cinco bandas distintas que correspondem à albumina, alfa₁-globulinas, alfa₂- globulinas, beta-globulinas e gama-globulinas e cada banda compreende várias proteínas.

Em algumas condições patológicas ocorrem alterações nos diferentes picos do proteinograma. Na Tabela XIV, encontram-se exemplificadas e descritas algumas patologias.⁵⁴

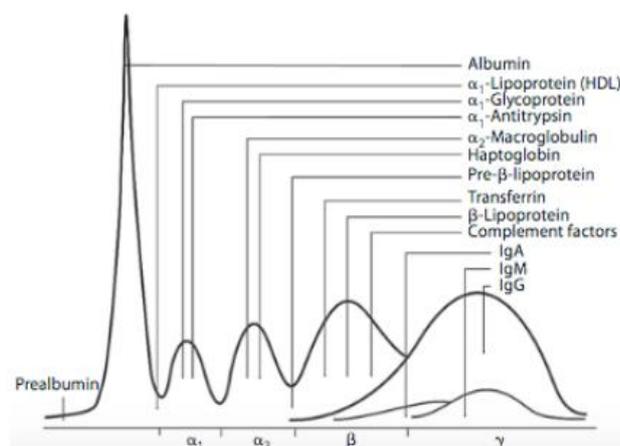
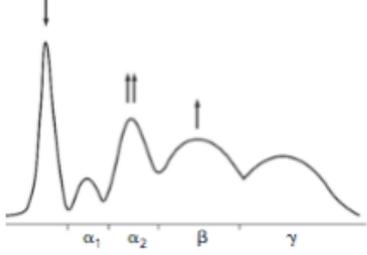
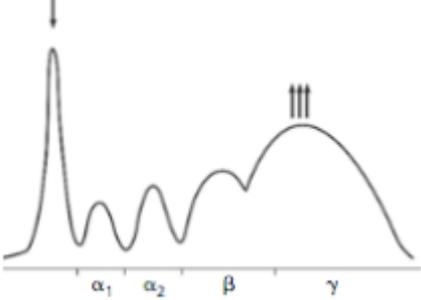
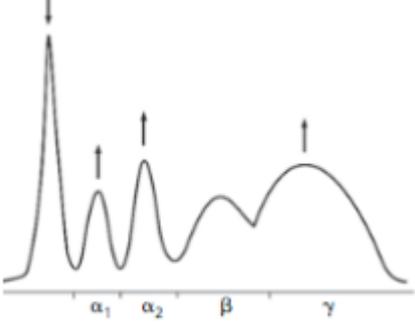


Figura 8: Perfil eletroforético das proteínas do plasma

Tabela XIV: Interpretação laboratorial do proteinograma

<p>Síndrome nefrótica</p>		<p>Perfil que ilustra uma perda crónica de proteínas de baixa massa molecular (\downarrow albumina e \downarrow γ-globulinas (IgG)) e retenção de proteínas de alta massa molecular (\uparrow α-2-globulina).</p>
<p>Patologia hepática (cirrose, hepatite)</p>		<p>Perfil que ilustra uma ponte entre as frações beta globulinas e γ-globulinas e uma diminuição na albumina. Pode haver um ligeiro aumento nas frações α_1 e α_2.</p>
<p>Inflamação Aguda</p>		<p>Perfil que ilustra um aumento das α_1 e α_2-globulinas com diminuição da albumina. Caso esteja presente o aumento das γ-globulinas, significa que é uma inflamação crónica.</p>

8.2.6.1. Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma e é sintetizada no fígado. Desempenha diversas funções de transporte (bilirrubina não conjugada, cálcio, hormonas, fármacos) e armazenamento e é fundamental no controlo da pressão oncótica do plasma. É considerada uma proteína de fase aguda negativa relevante no diagnóstico de patologias derivadas do metabolismo proteico e condições patológicas inflamatórias e renais.

Situações patológicas que levam à diminuição da albumina (hipoalbuminémia) podem ser devidas a patologias hepáticas (défice na sua síntese, aumento do catabolismo), síndrome nefrótico, ascite, edema, hipotiroidismo, polidipsia, gravidez (redistribuição por hemodiluição). O aumento da concentração (hiperalbuminémia) está associado a desidratação aguda (hipovolémia), sendo uma condição rara.⁵⁴

8.2.6.2. Proteínas de fase aguda

As proteínas de fase aguda são proteínas cuja concentração altera quando há necessidade de dar uma resposta a inflamações/lesões, e podem-se dividir em dois grupos: proteínas de fase aguda positivas ou negativas. As proteínas de fase aguda positivas (como a α_1 -antitripsina, dímeros-D, haptoglobina, ferritina, ceruloplasmina, C3, C4 e proteína C reativa, entre outras) aumentam em situações de inflamação. Inversamente, as negativas (transtirretina, transcortina, albumina e transferrina), diminuem.

A quantificação da proteína C reativa (PCR) é um parâmetro frequentemente requisitado sempre que há suspeita de um processo inflamatório. É sintetizada no fígado e a sua produção atinge um máximo após 24 a 38 horas do início de um processo inflamatório. A sua principal função é acoplar-se a estruturas endógenas e exógenas para desencadear mecanismos de defesa (ativação do complemento, opsonização e fagocitose)⁵⁵

8.2.6.3. Imunoglobulinas

As imunoglobulinas (Ig) compreendem cinco classes: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE e todas elas são constituídas por quatro cadeias peptídicas (duas cadeias leves (Kappa e Lambda) e duas cadeias pesadas). São produzidas pelos linfócitos B/plasmócitos quando ocorre o reconhecimento de antígenos específicos (vírus, bactérias), para os neutralizarem e eliminar (resposta imune). A Tabela XV resume algumas das características das imunoglobulinas.⁵⁷

Tabela XV: Características das imunoglobulinas

Ig	Cadeia pesada	Características
IgG	Gama (γ)	É a mais abundante, nomeadamente em respostas inflamatórias. Neutralização de toxinas bacterianas e fagocitose de microrganismos.
IgA	Alfa (α)	Corresponde a 10-15% do total das imunoglobulinas. Abundante em secreções externas (leite materno, saliva). Proteção do trato respiratório e do trato genito-urinário.
IgD	Delta (δ)	Relevante na resposta das células B imunocompetentes através da sua ativação.
IgE	Epsilon (ϵ)	Reações de hipersensibilidade imediata (alergias) por estimulação da produção de histamina.
IgM	Mu (μ)	Corresponde a 5-10% do total das imunoglobulinas. Resposta imunitária primária. Permite caracterizar a infeção (aguda ou crónica)

8.2.7. Função pancreática

O Pâncreas é uma glândula com funções endócrina e exócrina, produzindo hormonas, nomeadamente o glucagon e a insulina, que participam no metabolismo dos hidratos de carbono e enzimas digestivas (α -amilase e lípase), respetivamente.

Os biomarcadores da função pancreática requisitados são as determinações da α -amilase e da lipase, sendo a lipase mais específica que a α -amilase, visto que os seus níveis séricos permanecem elevados mais tempo do que os da amilase.⁵⁷

Estas determinações não eram muito requisitadas ao laboratório AVELAB, pelo que quando acontecia eram enviadas para um laboratório exterior.

8.2.8. Função Cardíaca

8.2.8.1. Creatina Cinase (CK)

A creatina cinase é um biomarcador de função cardíaca responsável pela fosforilação da creatina com o consumo de adenosina trifosfato (ATP), a nível muscular. É uma enzima que possui três isoenzimas, CK-MM, CK-BB e CK-MB, distribuídas por diferentes órgãos. A

CK-MB é a isoenzima específica dos cardiomiócitos, sendo similar à troponina e é fundamental na detecção precoce do enfarto agudo do miocárdio, visto que é libertada quando ocorre necrose dos cardiomiócitos. Os seus valores podem encontrar-se também elevados em casos de exercício físico extremo, toma de estatinas ou danos a nível músculo-esquelético.⁵⁸

8.2.8.2. Lactato desidrogenase

A enzima lactato desidrogenase, já anteriormente referida, também aumenta quando ocorrem lesões cardíacas (insuficiência cardíaca, enfarto agudo do miocárdio, miocardite). Em casos de enfarte agudo do miocárdio os seus valores encontram-se quatro vezes ou mais acima do seu valor de referência. Contudo, não é das enzimas mais sensíveis e específicas para o diagnóstico do enfarte agudo do miocárdio, visto que o seu aumento também ocorre noutras patologias como hepáticas (hepatite viral ou tóxica com icterícia, mononucleose), renais (glomerulonefrite crónica), anemia megaloblástica. O seu falso aumento pode ocorrer em amostras hemolisadas.⁵⁸

8.2.9. Metabolismo do Ferro

8.2.9.1. Ferro sérico

O ferro é o metal de transição mais abundante no organismo e a maior concentração encontra-se na hemoglobina. Desempenha diversas funções essenciais no organismo, desde o transporte de oxigénio para as células a processos metabólicos oxidativos. A sua origem é essencialmente proveniente da dieta ou do turnover dos eritrócitos senescentes e é transportado na corrente sanguínea (Fe^{3+}) pela transferrina.

O ferro sérico reflete principalmente a quantidade de ferro ligado à transferrina. A alteração mais frequente é a sua diminuição (hiposiderémia) que pode ser devido a anemias (associada a deficiência de ferro), hemorragias, hematúria, gravidez. Quando ocorre um aumento do ferro (hipersiderémia), ocorre a saturação das formas de armazenamento e começa a acumular-se nos órgãos, situação designada de hemocromatose (doença autossómica recessiva) ou pode ser devido a patologias hepáticas ou transfusões.

A suspeita de deficiência de ferro na ausência de doenças crónicas ou hemoglobinopatias deve ser complementada com outros parâmetros laboratoriais como o hemograma, reticulócitos e parâmetros do metabolismo do ferro (ferritina, capacidade total

de fixação de ferro e transferrina) e com a avaliação da história clínica (má absorção intestinal, hemorragias, doenças da coagulação).⁵⁹

8.2.9.2. Ferritina

A ferritina é um complexo proteico responsável pelo armazenamento do ferro, que se encontra em quase todas as células, mas em maior concentração no fígado, baço e medula, protegendo a célula dos efeitos tóxicos do metal livre.

É considerada uma proteína globular de fase aguda e pode encontrar-se diminuída em situações de déficit de ferro (anemias por déficit de ferro) ou aumentada em situações de inflamação (artrite reumatóide e doença renal), necrose celular, eritropoiese ineficaz, excesso de ferro ou lesões hepáticas.

8.2.9.3. Transferrina

A transferrina é uma glicoproteína sintetizada nos hepatócitos responsável pela captação do ferro das suas reservas e o seu transporte na forma férrica (Fe^{3+}) por todo o corpo, libertando-o nos eritroblastos. A sua síntese é inversamente proporcional à quantidade de ferro intracelular.

O aumento da sua concentração verifica-se em anemias por déficit de ferro, hemorragias, gravidez. É uma proteína de fase aguda negativa, apresentando-se diminuída em situações de inflamação e é utilizada predominantemente na diferenciação e monitorização da terapêutica de anemias.⁵⁹

9. SETOR DA MICROBIOLOGIA

O setor da Microbiologia Clínica integra as áreas de bacteriologia, micologia e parasitologia que têm como objetivo comum o estudo e a monitorização de patologias causadas por microorganismos.

Na fase pré-analítica as amostras que chegam maioritariamente ao setor da microbiologia são urinas, fezes, exsudados genitais, unhas e hemoculturas. As amostras são triadas e separadas de acordo com a requisição, para serem realizados os procedimentos automatizados ou manuais.

O estágio no setor da Microbiologia, no laboratório de Análises Clínicas AVELAB, decorreu do dia 1 de Abril de 2021 a 31 de Maio de 2021 e tive a oportunidade de integrar a equipa desde a triagem das amostras à execução das metodologias executadas no setor (observação de sedimentos urinários, observação de esfregaços de amostras frescas ou coradas pelas colorações de Gram e/ou *Ziehl-Neelsen*, realização de exame parasitológico, inoculação de meios de cultura e identificação de bactérias e fungos.

As análises mais requisitadas no setor da microbiologia eram a urina tipo II, a urocultura e a pesquisa de sangue oculto nas fezes. Na análise da urina tipo II, o seu processamento era automatizado, com a visualização dos sedimentos, para confirmar que não ocorreram erros na leitura da imagem captada. As amostras para urocultura eram igualmente analisadas, mas após isso, eram centrifugadas para se obter o sedimento e semear em meio CPS. O microorganismo isolado mais frequente correspondia à *Escherichia coli*. Caso o crescimento fosse positivo, procedia-se à sua repicagem para posteriormente proceder à sua identificação, quantificação e respetivo antibiograma.

A área da microbiologia no laboratório AVELAB é o setor com menos automatização.

10. SETOR DA IMUNOQUÍMICA

No setor da Imunoquímica e Auto-imunidade avaliam-se diversos analitos através de ensaios qualitativos ou quantitativos que detetam anticorpos ou antigénios presentes numa determinada amostra, recorrendo ao uso de antigénios ou anticorpos específicos -ensaios imunoquímicos.

O estágio no setor da Imunoquímica, no laboratório de Análises Clínicas AVELAB, decorreu do dia 4 de Janeiro de 2021 a 20 de Fevereiro de 2021 e é parte integrante do setor da bioquímica, visto que os auto-analizadores usados são os mesmos, como aliás já foi referido.

Tive a oportunidade de integrar a equipa, composta por três TSDT, sendo que é um setor maioritariamente automatizado. São analisados parâmetros diversos: indicativos de alergias e anemia, do âmbito da endocrinologia, oncologia e autoimunidade, monitorização terapêutica. Como técnica, o meu papel incidia fundamentalmente na manutenção diária dos auto-analizadores, compreendendo a importância da gestão e controlo de qualidade dos resultados, aplicando os conhecimentos adquiridos nas aulas teóricas do Mestrado em Análises Clínicas.

II. FASE PÓS ANALÍTICA

Nesta fase é quando se faz a validação biopatológica dos resultados dos parâmetros analíticos e a integração dos mesmos no sistema, para que depois possam ser processados e emitidos em boletins de resultados. A validação compreende duas fases, a validação técnica inicial pelo técnico responsável por cada setor e por fim, a validação global do boletim. Durante a validação biopatológica técnica efetua-se a interpretação dos resultados obtidos de forma a ver se são concordantes e caso haja a presença de valores críticos em determinados parâmetros o médico patologista/farmacêutico especialista, entra em contacto com o utente para entrar em contacto urgente com o médico requisitante do pedido das análises.

Após concluída a rotina laboratorial as amostras são devidamente refrigeradas, durante um determinado período de tempo.

12. CONCLUSÃO

O estágio que realizei no Laboratório AVELAB permitiu-me consolidar a nível prático os conhecimentos adquiridos durante a aprendizagem teórica no Mestrado de Análises Clínicas. Deu-me a possibilidade de participar na rotina de um laboratório de análises clínicas, desde a fase pré-analítica à fase pós-analítica, enriquecendo a minha formação tanto a nível profissional como a nível pessoal pela integração no trabalho em equipa.

O laboratório AVELAB mostrou ser um excelente laboratório para formação pela sua qualidade a nível laboratorial, pela possibilidade que dá de integração em todas as valências, incluindo a fase pré-analítica como ainda pela qualidade dos colaboradores que integram a equipa que me forneceram sempre as ferramentas necessárias para esta aprendizagem.

Apesar de ser uma área muito automatizada é fundamental ter os conhecimentos teóricos presentes na rotina laboratorial e compreensão dos pedidos pretendidos pelo clínico.

Finalizo assim, mais uma etapa da minha vida.

13. REFERÊNCIAS

1. Funkhouser WK. Pathology: The Clinical Description of Human Disease. *Molecular Pathology*. 2009; 197-207. doi:10.1016/B978-0-12-374419-7.00011-1
2. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2018; 243(3):213-221. doi:10.1177/1535370217750088
3. Zemlin AE. Errors in the Extra-Analytical Phases of Clinical Chemistry Laboratory Testing. *Indian J Clin Biochem*. 2018; 33(2):154-162. doi:10.1007/s12291-017-0657-2
4. WHO Guidelines on Drawing Blood: *Best Practices in Phlebotomy*
5. Wan Azman WN, Omar J, Koon TS, Tuan Ismail TS. Hemolyzed Specimens: Major Challenge for Identifying and Rejecting Specimens in Clinical Laboratories. *Oman Med J*. 2019;3 4(2):94-98. doi:10.5001/omj.2019.19
6. Bowen RA, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem Med (Zagreb)*. 2014; 24(1):31-44. doi:10.11613/BM.2014.006
7. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med (Zagreb)*. 2014; 24(1):57-67. doi:10.11613/BM.2014.008
8. Li B, Zhao H, Yu M. Techniques for Detection of Clinical Used Heparins. *Int J Anal Chem*. 2021 doi:10.1155/2021/5543460
9. Hill VL, Simpson VZ, Higgins JM, et al. Evaluation of the Performance of the Sysmex XT-2000i Hematology Analyzer With Whole Bloods Stored at Room Temperature. *Lab Med*. 2009; 40(12):709-718. doi:10.1309/T0FJYP2RBXEHX4
10. Guia do utilizador: Diese, Ves-Matic-30 Plus
11. Arkray. Method Manual ADAMS A1c. HA8160. 07/2008.
12. Yis OM, Bugdayci G, Pehlivan MB, Yildiz RN, Alisik M. Analytical performance evaluation of Sysmex CS-2500 and Stago STA Compact. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2020; 31(5):324-329. doi:10.1097/MBC.0000000000000920
13. Hoffbrand A. V.; Moss P. A.H., *Fundamentos em Hematologia*. 6° Ed. (2016).
14. Moras M, Lefevre SD, Ostuni MA. From Erythroblasts to Mature Red Blood Cells: Organelle Clearance in Mammals. *Front Physiol*. 2017;8:1076. doi:10.3389/fphys.2017.01076

15. Raskin RE, Latimer KS, Tvedten H. Leukocyte Disorders. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 2004; 63-91. doi:10.1016/B0-72-168903-5/50008-2
16. Summers C, Rankin SM, Condliffe AM, Singh N, Peters AM, Chilvers ER. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol*. 2010;31(8):318-324. doi:10.1016/j.it.2010.05.006
17. Hamad H, Mangla A. Lymphocytosis. In: *StatPearls*. 2022
18. Espinoza VE, Emmady PD. Histology, Monocytes, In: *StatPearls*, 2022
19. Kanuru S, Sapra A. *Eosinophilia*, In: *StatPearls*, 2022
20. Sticco KL, Pandya NK, Lynch DT. *Basophilia*, In: *StatPearls*, 2022
21. Tan GC, Stalling M, Dennis G, Nunez M, Kahwash SB. Pseudothrombocytopenia due to Platelet Clumping: A Case Report and Brief Review of the Literature. *Case Rep Hematol*. 2016; doi:10.1155/2016/3036476
22. Tishkowsky K, Gupta V. Erythrocyte Sedimentation Rate. In: *StatPearls*.: 2022.
23. Harrison M. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein. *Aust Prescr*. 2015; 38(3):93-94. doi:10.18773/austprescr.2015.034
24. Sherwani SI, Khan HA, Ekhzaimy A, Masood A, Sakharkar MK. Significance of HbA1c Test in Diagnosis and Prognosis of Diabetic Patients. *Biomark Insights*. 2016;11:95-104. doi:10.4137/BMI.S38440
25. COLMAN Robert, *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. 5th Edition. (2006)
26. Smith SA, Travers RJ, Morrissey JH. How it all starts: Initiation of the clotting cascade. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2015; 50(4):326-336. doi:10.3109/10409238.2015.1050550
27. Yang R, Moosavi L. Prothrombin Time. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; March 9, 2022.
28. Bharati KP, Prashanth UR. Von Willebrand disease: an overview. *Indian J Pharm Sci*. 2011;73(1):7-16. doi:10.4103/0250-474X.89751
29. Undas A. Determination of Fibrinogen and Thrombin Time (TT). *Methods Mol Biol*. 2017; 105-110. doi:10.1007/978-1-4939-7196-1_8
30. Sathe PM, Patwa UD. D Dimer in acute care. *Int J Crit Illn Inj Sci*. 2014; 4(3):229-232. doi:10.4103/2229-5151.141435
31. Sigdel A, Chalise G, Bolideei M, Malla SS. Comparison between the Manual Method of Indirect Coombs via Gel Technology and Solid Phase Red Cell

- Adherence. *Maedica* (Bucur). 2021;16(2):200-206.
doi:10.26574/maedica.2021.16.2.200
32. Mitra R, Mishra N, Rath GP. Blood groups systems. *Indian J Anaesth*. 2014; 524-528. doi:10.4103/0019-5049.144645
 33. Ferri C, Zignego AL, Pileri SA. Cryoglobulins. *J Clin Pathol*. 2002;55(1):4-13. doi:10.1136/jcp.55.1.4
 34. Gertz MA. Cold agglutinin disease and cryoglobulinemia. *Clin Lymphoma*. 2005; 5(4):290-293. doi:10.3816/clm.2005.n.019
 35. Wan Azman WN, Omar J, Koon TS, Tuan Ismail TS. Hemolyzed Specimens: Major Challenge for Identifying and Rejecting Specimens in Clinical Laboratories. *Oman Med J*. 2019; 34(2):94-98. doi:10.5001/omj.2019.19
 36. Trumbo TA, Schultz E, Borland MG, Pugh ME. Applied spectrophotometry: analysis of a biochemical mixture. *Biochem Mol Biol Educ*. 2013;41(4):242-250. doi:10.1002/bmb.20694
 37. Bakker E, Chumbimuni-Torres K. Modern Directions for Potentiometric Sensors. *J Braz Chem Soc*. 2008; 19(4):621-629. doi:10.1590/S0103-50532008000400003
 38. Borque L, Maside C, Iglesias A. Automated turbidimetry of serum lipoprotein(a). *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1993;31(12):869-874.
 39. Mouri M, Badireddy M. Hyperglycemia. In: *StatPearls*. StatPearls, 2022.
 40. Gurung P, Jialal I. *Plasma Glucose*. (2022)
 41. Genuth SM, Palmer JP, Nathan DM. *Classification and Diagnosis of Diabetes*. 3rd edition, (2018)
 42. Norma da DGS N° 002/2011, de 14/01/2011; "Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus".
 43. Huff T, Boyd B, Jialal I. *Physiology, Cholesterol*. (2022)
 44. Cox RA, García-Palmieri MR. Cholesterol, Triglycerides, and Associated Lipoproteins. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition, 1990. Chapter 31. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK351/>
 45. Beaumont JL, Carlson LA, Cooper GR, Fejfar Z, Fredrickson DS, Strasser T. Classification of hyperlipidaemias and hyperlipoproteinaemias. *Bull World Health Organ*. 1970; 43(6):891-915.

46. Addison WL. The Use of Sodium Chloride, Potassium Chloride, Sodium Bromide, and Potassium Bromide in Cases of Arterial Hypertension which are Amenable to Potassium Chloride. *Can Med Assoc J.* 1928;18(3):281-285.
47. BURTIS, Carl A.; ASHWOOD, Edward R.; BRUNS, David E.; SAWYER, Barbara G.. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 6th Ed. (2008), pp 655-674
48. Mukhopadhyay P, Ghosh S, Pandit K, Chatterjee P, Majhi B, Chowdhury S. Uric Acid and Its Correlation with Various Metabolic Parameters: A Population-Based Study. *Indian J Endocrinol Metab.* 2019;23(1):134-139. doi:10.4103/ijem.IJEM_18_19
49. Pereira JM. Diagnóstico sistemático da nefropatia diabética. DGS. Circular normativa N° 13/DGCG
50. Limdi JK, Hyde GM. Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgrad Med J.* 2003;79(932):307-312. doi:10.1136/pmj.79.932.307
51. Gowda S, Desai PB, Hull VV, Math AA, Vernekar SN, Kulkarni SS. A review on laboratory liver function tests. *Pan Afr Med J.* 2009
52. Koseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S. Effects of hemolysis interferences on routine biochemistry parameters. *Biochem Med (Zagreb).* 2011;21(1):79-85. doi:10.11613/bm.2011.015
53. VanWagner LB, Green RM. Evaluating elevated bilirubin levels in asymptomatic adults. *JAMA.* 2015;313(5):516-517. doi:10.1001/jama.2014.12835
54. Busher JT. Serum Albumin and Globulin. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations.* 3rd edition. (1990), Chapter 101
55. Jain S, Gautam V, Naseem S. Acute-phase proteins: As diagnostic tool. *J Pharm Bioallied Sci.* 2011;3(1):118-127. doi:10.4103/0975-7406.76489
56. Schroeder HW Jr, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol.* 2010, doi:10.1016/j.jaci.2009.09.046
57. Ismail, O. Z., & Bhayana, V. *Lipase or amylase for the diagnosis of acute pancreatitis?*, 2017 1275–1280.
58. Jacob R, Khan M. Cardiac Biomarkers: What Is and What Can Be. *Indian J Cardiovasc Dis Women WINCARS.* 2018; 3(4):240-244. doi:10.1055/s-0039-1679104
59. Higgins Trefor; Beutler Ernest; Doumas Basil, - Hemoglobin, Iron, and Bilirubin. In: Burtis, Carl; Ashwood, Edward; Bruns, David; Sawyer, Barbara. TIETZ

Fundamentals of Clinical Chemistry. St. Louis, Missouri: Elsevier, Saunders, (2008), p. 509-526.

14. ANEXOS

14.1. ANEXO I: Equipamentos utilizados nos setores de hematologia e bioquímica.

<p><i>Sysmex XT-2000i</i></p>	 A Sysmex XT-2000i hematology analyzer, a large white laboratory instrument with a computer monitor and keyboard, used for automated blood cell counting and differential.
<p><i>Sysmex-XE 2100</i></p>	 A Sysmex-XE 2100 hematology analyzer, a white laboratory instrument with a computer monitor and keyboard, designed for automated hematology testing.
<p><i>Ves-Matic 30 Plus</i></p>	 A Ves-Matic 30 Plus urine sediment analyzer, a compact light blue laboratory instrument with a lid open, used for automated urine sediment analysis.
<p>ADAMS A1c HA-8180V</p>	 An ADAMS A1c HA-8180V hemoglobin A1c analyzer, a white laboratory instrument with a sample tray and a small display, used for automated HbA1c measurement.

STA Compact Max Systems



ARCHITECT Ci8200



ARCHITECT i1000

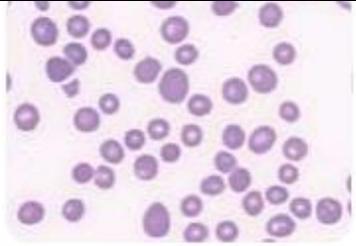
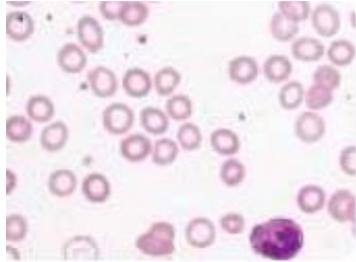
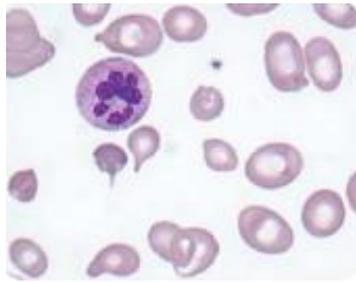
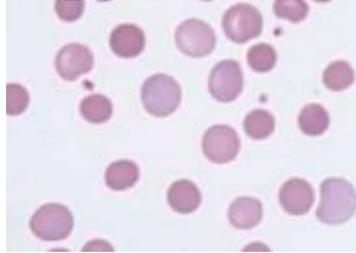
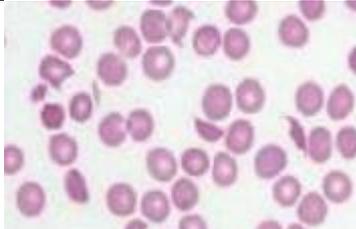


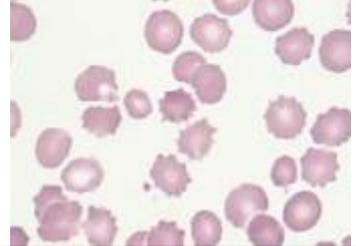
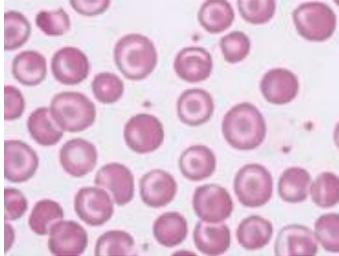
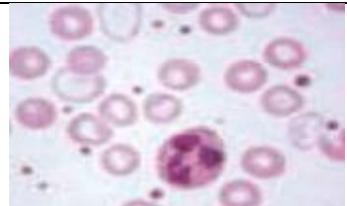
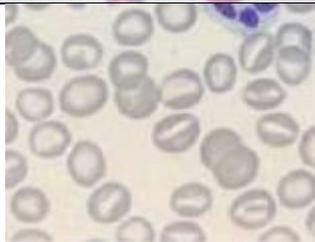
14.2. ANEXO II: Valores de referência

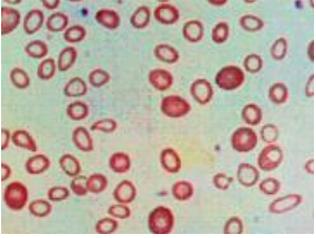
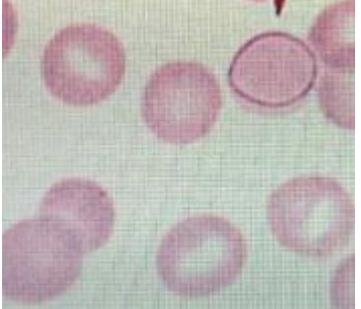
Valores laboratoriais de referência	
Bioquímica	
Alanina-aminotransferase (ALT) sérica	10-40 U/L
Amilase sérica	25-125 U/L
Aspartato-aminotransferase (AST) sérica	15-40 U/L
Ácido úrico sérico	3,0-8,2 mg/dL
Azoto ureico sérico	7-18 mg/dL
Bilirrubina sérica	
Total	0,1-1,0 mg/dL
Direta	0,0-0,3 mg/dL
Cálcio total sérico	8,4-10,2 mg/dL
Colesterol sérico	
Total	<200 mg/dL
HDL	30-70 mg-dL
LDL	<160 mg/dL
Creatinoquinase sérica	Homem: 25-90 U/L
	Mulher: 10-70 U/L
Creatinina sérica	0,6-1,2 mg/dL
Desidrogenase láctica (LDH)	45-90 U/L
Elétrólitos	
Sódio	135-146 mEq/L
Potássio	3,5-5,0 mEq/L
Cloreto	95-105 mEq/L
Bicarbonato	22-28 mEq/L
Magnésio	1,5-2,0 mEq/L
Ferro	50-170 µg/dL
Ferritina sérica	Homem: 15-200 ng/mL
	Mulher: 12-150 ng/mL
Fosfatase alcalina	Homem: 30-100 U/L
	Mulher: 45-115 U/L
Fósforo (inorgânico)	3,0-4,5 mg/dL
γ-glutamil transferase (GGT)	8-78 U/L
Glucose	Jejum: 70-110 mg/dL
	Duas horas pós-pandrial: <12 mg/dL
Hemoglobina A _{1c}	≤6%
Imunoglobulinas séricas	
IgA	76-390 mg/dL
IgE	0-380 U/mL
IgG	650-1500 mg/dL
IgM	40-325 mg/dL
Osmolalidade sérica	275-295 mOsmol/kg H ₂ O
Proteínas	
Total	6,0-7,8 g/dL
Albumina	3,5-5,5 g/dL
Globulinas	2,3-3,5 g/dL
Proteína C reativa	<10 mg/dL
Triglicerídeos	35-160 mg/dL

Valores de referência dos Parâmetros eritrocitários	
Glóbulos Vermelhos	Mulher: $3,9-5,6 \times 10^{12}/L$ Homem: $4,5 - 6,5 \times 10^{12}/L$
Hemoglobina	Mulher: 11,5-16,0 g/dL Homem: 13,6-18,0 g/dL
Hematócrito	Mulher: 36,0-48,0% Homem: 39,8-52,0%
Volume Corpuscular Médio	80-97 fL
Hemoglobina Corpuscular média	26 – 34 pg
Concentração Média da Hemoglobina Corpuscular	32 – 36 g/dL
Reticulócitos	0,5 – 2,5% (25 – 125 \notin 109 /L)
Valores de Referência dos Parâmetros Plaquetares	
Plaquetas	150 – 400 $\times 10^9/L$
Volume Plaquetar Médio	6,5 – 12,4 fL
Valores de Referência dos Parâmetros Leucocitários	
Glóbulos Brancos	$4,0 - 11,0 \times 10^9/L$
Neutrófilos	$1,8 - 8,0 \times 10^9/L$
Linfócitos	$0,8 - 4,0 \times 10^9/L$
Monócitos	$0,2 - 1,2 \times 10^9/L$
Eosinófilos	$0,04 - 0,3 \times 10^9/L$
Basófilos	$0,01 - 0,3 \times 10^9/L$

14.3. ANEXO III: Morfologias atípicas observadas nos esfregaços de sangue periférico

Série vermelha			
Alteração		Patologias associadas	Imagem ao MOC
Macrocitose	Eritrócitos com tamanho superior	Anemia megaloblástica; Síndromes Mielodisplásicas; Alcoolismo; Hepatite crónica;	
Microcitose	Volume inferior ao normal	Defeitos na formação da hemoglobina; Anemia por deficiência de ferro; Talassemia; Casos severos de anemia crónica. Anemia sideroblástica adquirida e congénita (+raro)	
Poiquilocitose	Variação da forma dos eritrócitos	Eritropoiese anormal; Anemia megaloblástica; Deficiência de ferro; Talassemia, Mielofibrose; Síndrome mielodisplásica. Anemia hemolítica congénita	
Esferócitos	Defeito na membrana	Defeitos genéticos da membrana dos eritrócitos: Esferocitose hereditária; Anemia hemolítica auto-imune; Ação de toxinas de bactérias;	
Esquizócitos	Tamanho inferior ao normal e variação da forma	Doenças genéticas; Queimaduras graves; Deficiências adquiridas na eritropoiese	

Acantócito	Presença de espículas, forma e espessura irregulares	Metabolismo de fosfolípidos anormal ou alterações das proteínas membranares dos eritrócitos; Doença hepática grave	
Equinócito	Presença de projeções regulares e curtas	Erro técnico na realização do esfregaço	
Células-alvo	Presença de uma área redonda corada central e uma zona periférica de citoplasma com pouca coloração	Hepatite crônica; Anemia por deficiência de ferro e talassemia; Hemoglobinopatias	
Drepanócitos	Células em foice	Presença de hemoglobina S; Sangue sujeito a anoxia; Drepanocitose;	
Dacriócitos	Formato de lágrima	Mielofibrose; Síndromes mieloproliferativas	
Leptócitos	Eritrócitos extremamente finos	Deficiência de ferro severa; Talassemia; Doença hepática;	
Estomatócitos	Área central bicôncava	Doenças hepáticas; Alcoolismo; Síndromes mielodisplásicas;	

Hipocromia	Diminuição da concentração de Hb (CHGM ↓)	Alteração na síntese de hemoglobina; Anisocitose; Talassemia; Doença hepática; Anemia megaloblástica	
Inclusões Eritrocitárias	Pontuado basófilo (Corpos de Heinz)	Défice G6PDH ou 5-nucleotidase; Talassemia; Anemia megaloblástica; Infeções; Doenças hepáticas; Envenenamento por chumbo ou outros metais pesados; Hemoglobina instável	
	Corpos de Howell-Jolly	Asplenia; Eritropoese extramedular	
	Anel de Cabot	Anemias megaloblásticas; Intoxicação por chumbo	
Rouleaux	Agregados	Doenças do colágeno; Hiperfibrinogênemia	