

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Relatório de estágio em contexto profissional no Laboratório de Análises Clínicas – Unilabs

Mestrado em Biologia Clínica Laboratorial

Sara dos Santos Macedo

Orientadores

Dr. Nuno Guilherme Rolão Aguiar

Professora Doutora Ana Cristina Silvestre Ferreira



Vila Real, 2020

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Relatório de estágio em contexto profissional no Laboratório de Análises Clínicas – Unilabs

Mestrado em Biologia Clínica Laboratorial

Sara dos Santos Macedo

Orientadores:

Dr. Nuno Guilherme Rolão Aguiar

Professora Doutora Ana Cristina Silvestre Ferreira

Vila Real, 2020

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro por me ter acolhido e permitido passar os melhores anos da minha vida.

Ao Laboratório Unilabs - Vila Real representado pelo Dr. Nuno Guilherme Rolão Aguiar por me ter recebido como estagiária e por possibilitar a realização do estágio.

Aos colaboradores do laboratório por toda a simpatia, ajuda e conhecimentos transmitidos! Foram sem dúvida essenciais neste percurso.

À professora Ana Cristina Silvestre Ferreira pela co-orientação, disponibilidade e acompanhamento ao longo de todo este trabalho.

Aos meus pais o meu gigante obrigado por todo o carinho, amor e paciência para me aturar. Obrigado por acreditarem sempre em mim e me apoiarem nesta etapa.

Ao meu irmão, o meu peste, por me chatear sempre que pode e por estar sempre comigo ainda que com a sua distância de segurança para garantir que não é uma pessoa de afetos.

Ao meu PI por toda a paciência e mais alguma que teve comigo nos meus momentos de desespero e cansaço, por ser o meu companheiro de vida e por ser a pessoa mais AWESOME que existe!

Aos meus amigos, Lia, Inês Q., Inês B. e Rui por toda a ajuda neste percurso e por serem a minha segunda família.

E por fim, mas não menos importantes, aos pais do meu PI por todo o carinho que sempre me deram.

RESUMO

Cada vez mais as análises clínicas são valorizadas dada a sua importância para o diagnóstico correto por parte dos médicos. Por esta razão, é necessário haver um processo contínuo de melhoria das técnicas, assim como, inovação das máquinas.

O relatório de estágio é referente ao estágio realizado no laboratório de análises clínicas do grupo Unilabs presente em Vila Real e neste são abordadas as técnicas utilizadas bem como os parâmetros analisados em cada setor: hematologia, bioquímica, imunologia, análise de urina e microbiologia.

Para além das técnicas e parâmetros avaliados são ainda descritas as fases presentes num estudo laboratorial (fase pré-analítica, analítica e pós-analítica) bem como do controlo de qualidade interno e externo realizado no laboratório Unilabs. Estes dois temas apresentam grande importância pois permitem evitar qualquer tipo de erros que possam interferir com o resultado das análises pedidas pelo clínico e assim levar ao diagnóstico correto do paciente.

Com a conclusão do estágio verificou-se que houve um consolidar de todos os conhecimentos abordados ao longo do mestrado tendo também sido adquiridos outros conhecimentos igualmente úteis e necessários para a vida profissional. Além do objetivo mencionado anteriormente também o estágio teve como objetivo cumprido a compreensão do funcionamento das diversas áreas do laboratório e o desenvolvimento de um sentido crítico na aceitação dos resultados.

Palavras-chave: Laboratório, Análises, Hematologia, Bioquímica, Imunologia, Microbiologia, Urina.

ABSTRACT

The value of clinical analyzes is increasing due to their importance to physicians' correct diagnosis. For this reason, it is crucial to have a continuous process of techniques improvement as well as, technological innovation.

This internship report refers to the internship carried out in the clinical analysis laboratory of the Unilabs group at Vila Real and this will address the techniques used and the parameters analyzed in each sector: hematology, biochemistry, immunology, urine analysis and microbiology.

In addition to these analyzes, the steps for a laboratory study are also described (pre-analytical, analytical, and post-analytical phases) as well as the internal and external quality controls carried out in the Unilabs laboratory. These two topics are crucial since they avoid any errors that may interfere with the result of the analyzes requested, preventing an incorrect diagnosis of the patient or allowing a correct diagnosis.

With the conclusion of the internship, it was verified that there was a consolidation of all the knowledge covered throughout the master's degree, having also acquired other knowledge that was equally useful and necessary for professional life. In addition to the aforementioned objective, the internship also had the objective of understanding the operation of the various areas of the laboratory and developing a critical sense in the acceptance of the results.

Keywords: Laboratory, Analysis, Hematology, Biochemistry, Immunology, Microbiology, Urine.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	I
RESUMO.....	II
ABSTRACT	III
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	VIII
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO	3
1.1 - FASES DO ESTUDO LABORATORIAL.....	3
1.2- MATERIAIS PARA COLHEITA.....	5
1.3 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE	6
1.3.1– Controlo de qualidade interno (CQI)	6
1.3.2 – Controlo de qualidade externo (CQE).....	7
CAPÍTULO II – HEMATOLOGIA	9
2.1 – SYSMEX XN-1000	10
2.1.1 – Parâmetros avaliados	13
2.2 - ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS	15
2.3 - HB9210 PREMIER	17
2.3.1 - Parâmetros avaliados.....	18
2.4 - VES-MATIC CUBE 200.....	19
2.5 - SYSMEX CA-600 SERIES.....	20
2.5.1 – Parâmetros avaliados	21
CAPÍTULO III – BIOQUÍMICA	23
3.1 - ADVIA 1800 CHEMISTRY SYSTEM (SIEMENS).....	23
3.1.1 – Parâmetros Bioquímicos avaliado.....	24
3.2 - CAPILLARYS 2 - SEBIA.....	34
3.2.1 – Parâmetros avaliados.....	35

CAPÍTULO IV – IMUNOLOGIA	37
4.1- ADVIA CENTAUR XP -SIEMENS.....	37
4.1.1– Parâmetros avaliados.....	41
4.2– TÉCNICAS MANUAIS	47
4.2.1- TPHA	47
4.2.2 – RPR – Carbono.....	49
4.2.3 - Teste de Gruber-Widal.....	50
4.2.4 - Brucella Wright.....	50
CAPÍTULO V – ANÁLISE DE URINA	53
5.1 - iQ200 SERIES.....	53
5.2 – iChemVELOCITY.....	55
CAPÍTULO VI – MICROBIOLOGIA.....	57
5.1 – MEIOS DE CULTURA.....	57
CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANEXOS.....	67
ANEXO 1 – Valores laboratoriais de referência hematologia.....	67
ANEXO 2 - Valores laboratoriais de referência bioquímica e imunologia.....	68
ANEXO 3 - Valores laboratoriais de referência urina.....	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-Percurso pré-analítico das amostras.....	4
Figura 2-Materiais de colheita utilizados no laboratório Unilabs	5
Figura 3-Esquema representativo da hematopoiese	9
Figura 4-Aparelho Sysmex XN-1000.....	10
Figura 5-Esquema representativo da citometria de Fluxo	11
Figura 6-Resultados emitidos do canal XN - CBC – NRBC.....	11
Figura 7-Resultados emitidos do canal XN – DIFF.	12
Figura 8-Resultados emitidos do canal PLT-F	12
Figura 9-Resultados emitidos do canal RET	12
Figura 10-Aparelho Hb9210 Premier	17
Figura 11-Eluição da hemoglobina glicada e hemoglobina e as respetivas curvas.....	18
Figura 12-Aparelho VES-MATIC CUBE 200.....	19
Figura 13-Aparelho Sysmex CA-600	20
Figura 14-Esquema resumo da cascata de coagulação	21
Figura 15- Equipamento ADVIA 1800 Chemistry System - Siemens.....	23
Figura 16-Equipamento Capillarys II da Sebia	34
Figura 17-Resultados, apresentados no monitor, da eletroforese de proteínas	34
Figura 18-Equipamento ADVIA Centaur XP – Siemens.....	37
Figura 19-Partículas paramagnéticas revestidas.....	38
Figura 20-Complexos formados no método sandwich	39
Figura 21-Modelo competitivo: Antígeno marcado com éster de acridínio.....	39
Figura 22-Modelo competitivo: Anticorpo marcado com éster de acridínio	40
Figura 23-Formato de captura de anticorpo	40
Figura 24-Interpretação dos resultados do método TPHA.	48
Figura 25-Etapas das diluições do teste semi-quantitativo TPHA	49
Figura 26-Equipamento IQ200 Series	53
Figura 27-Equipamento iChem Velocity.....	55
Figura 28-Tira reativa de urina presentes no iChemVELOCITY.	55
Figura 29-Placa com agar CLED (A) e agar Columbia (B).	57
Figura 30-Materiais usados na cultura de urina.....	58

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1-Controlo da qualidade interna nos diferentes setores.....	6
Tabela 2-Avaliação do controlo de qualidade externo	7
Tabela 3-Células sanguíneas e respetivas visualizações ao microscópio.....	16
Tabela 4-Parâmetros analisados no setor da Bioquímica e respetivos métodos e utilidades.	32
Tabela 5-Grupos de proteínas e respetivas funções.....	35
Tabela 6-Possíveis resultados após análise de anticorpos Rubella IgM e IgG.....	44
Tabela 7-Parâmetros analisados no ADVIA Centaur XP e respetivos princípios.....	46
Tabela 8-Reagentes usados no Kit TPHA	48
Tabela 9-Categorias possíveis das imagens captadas.....	53

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADN - Ácido desoxirribonucleico

ALT – Alanina amino transferase

aPTT – tempo de ativação parcial de tromboplastina

ARN – Ácido ribonucleico

AST - Aspartato aminotransferase

Beta hCG - Gonadotrofina coriónica humana

BSA – Albumina de soro bovino

CK - Creatina cinase

CLED - Cistina lactose deficiente em eletrólitos

COS - Columbia com sangue de ovelha

CQE – Controlo Qualidade Externo

CQI – Controlo Qualidade Interno

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

FSH - Hormona folículo-estimulante

GGT - Gama glutamil transferase

HbA1c – Hemoglobina glicada

HBsAg - Anticorpos para o Antígeno HBs

HCV – Vírus Hepatite C

HIV - Vírus da imunodeficiência Humana

HDL - High-density lipoprotein

HPLC - High performance liquid chromatography

IgA – Imunoglobulina A

IgG - Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IRF – Fração imatura dos reticulócitos

ISE - Eléktodos seletivos de iões

ISI - Índice de Sensibilidade Internacional

LDH – Lactato desidrogenase

LDL - Low-density lipoprotein

LH - Hormona Luteinizante

NEQAS - National External Quality Assessment Service

PCR – Proteína C reativa

PSA - Antígeno prostático específico

PT – Tempo de protrombina

RBP – Proteína de ligação ao retinol

RIQAS - Randox International Quality Assessment Scheme

RNI – Razão normalizada internacional

T3 – Hormona Triiodotironina

T4 – Hormona tiroxina

TBG – Globulina ligadora de tiroxina

TG – Tireoglobulina

TPO – Tireoperoxidase

TSH - Hormona estimuladora da tiróide

TT – Tempo de trombina

INTRODUÇÃO

O presente relatório de estágio tem como objetivo descrever todas as atividades realizadas durante 8 meses de estágio curricular no Laboratório de análises clínicas do grupo Unilabs presente em Vila Real, descrevendo os materiais utilizados e métodos.

Cada vez mais as análises clínicas têm um grande impacto nas decisões tomadas pelos clínicos, pois só com uma correta análise é possível obter um correto diagnóstico e assim ajustar a terapêutica adequada ao paciente. Como tal, a área das análises clínicas encontra-se em constante desenvolvimento pelo que, as técnicas utilizadas têm cada vez mais tendência para a eficácia, garantindo assim uma maior qualidade dos resultados.

Além do desenvolvimento de novas tecnologias com fim a melhorar os equipamentos é essencial a realização do controlo de qualidade, seja ele interno ou externo, pois só assim podemos validar os resultados e ter a certeza que vamos permitir ao clínico um diagnóstico correto.

Este estágio visou a aprendizagem de toda a dinâmica do laboratório desde a colheita das amostras à sua análise, o acompanhamento de toda a atividade laboratorial incorporada na rotina do laboratório nas áreas de hematologia, imunologia, bioquímica, análise de urina e microbiologia, bem como o desenvolvimento também de um sentido crítico na aceitação dos resultados.

Este relatório encontra-se dividido em 6 capítulos, sendo que no 1º capítulo será abordada a caracterização do laboratório de análises clínicas do grupo Unilabs, e nos restantes 5 capítulos será feita a descrição dos métodos usados em cada área do laboratório, nomeadamente hematologia e coagulação, imunologia, bioquímica, análise de urina e microbiologia.

No final encontram-se ainda presentes nos anexos os valores de referência relativos a cada parâmetro analisado.

CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

O laboratório do grupo Unilabs - Vila Real, desenvolve a sua atividade nas áreas de hematologia, bioquímica, imunologia, análise de urina e microbiologia realizando em média cerca de 500 colheitas para análise por dia.

No setor de Hematologia são realizados: hemogramas, determinação da velocidade de sedimentação, doseamento da hemoglobina glicada, provas de coagulação e coloração/observação ao microscópio do esfregaço de sangue. No setor da Bioquímica e Imunologia são realizados testes bioquímicos e testes imunológicos respetivamente e por fim no setor da análises de urina e microbiologia são realizadas análises e culturas de urina.

O laboratório assegura a realização dos exames laboratoriais, necessários para o diagnóstico de patologias, prescritos pelos médicos ou por pedidos autónomos (ex: avaliação ao colesterol) e procura garantir sempre um nível elevado de qualidade nas suas atividades a fim de servir da melhor forma todos os seus clientes e profissionais que dependem do seu serviço.

1.1 - FASES DO ESTUDO LABORATORIAL

A principal preocupação do laboratório está relacionada com a qualidade dos resultados obtidos sendo que esta qualidade depende dos procedimentos que se fazem desde a colheita até ao resultado. Estes procedimentos dividem-se em 3 importantes fases: a Fase Pré-Analítica, Analítica e Pós-Analítica¹.

Fase Pré-Analítica

A designação “fase pré-analítica”, surgiu na literatura no século XX e pode ser definida como o conjunto de todos os “passos por ordem cronológica, desde o pedido do clínico, incluindo a requisição analítica, preparação do doente, colheita da amostra primária e transporte para e dentro do laboratório, terminando quando o processo analítico começa”² (figura 1). Esta fase é muito importante pois um erro é suficiente para condicionar todas as outras fases e assim influenciar o resultado final¹.

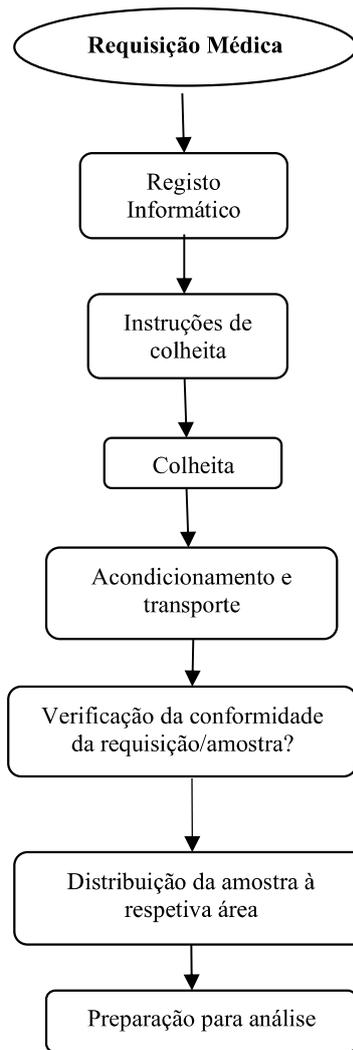


Figura 1-Percurso pré-analítico das amostras.

Fase Analítica

A fase analítica corresponde à fase da realização da análise, incluindo-se nesta fase também a calibração, o controlo de qualidade, a manutenção dos equipamentos e a preparação das amostras¹. A calibração e o controlo interno são realizados diariamente e permitem avaliar a precisão dos resultados obtidos, sendo estes diariamente recolhidos e comparados com os valores de referência do controlo usado.

Para a realização correta da análise é necessário ter em conta alguns fatores, como por exemplo, a escolha do método de análise adequado, verificar a qualidade dos instrumentos e equipamentos usados, assim como verificar também a qualidade dos reagentes usados pois todos estes fatores podem levar a uma análise incorreta da amostra,

o que irá interferir com os resultados, levando assim a um falso diagnóstico por parte do médico.

Fase Pós-Analítica

A fase pós-analítica, corresponde à validação dos resultados terminando com a emissão do boletim analítico e entrega deste¹. Os erros de interpretação por parte do clínico e o fornecimento de valores de referência incorretos constituem um ponto crítico da fase pós-analítica, tendo por isso também nesta fase uma especial atenção.

1.2- MATERIAIS PARA COLHEITA

São diversos os materiais usados para a acolheita de amostras biológicas, desde diferentes tubos para colheita de sangue, assim como coletores de urina. Após a colheita alguns destes espécimes têm de sofrer preparação de modo a serem submetidos a análise.



- Tubo com EDTA K_3 para obtenção de amostras de sangue total utilizadas na hematologia para a determinação do hemograma, velocidade de sedimentação e hemoglobina glicosilada.
- Tubo com um ativador de coagulação. Para a obtenção de soro é necessária a centrifugação do tubo, 3500 rpm durante 10 minutos, após a retração do coágulo e é usado nas análises da área da bioquímica e da imunologia.
- Tubo de citrato de sódio para a obtenção de plasma utilizado nas provas de coagulação. É centrifugado a 3600 rpm, durante 15 minutos.
- Coletor de urina estéril. Daqui a urina é colada num tubo para análises bioquímicas, ou utilizada nas provas de microbiologia.

Figura 2-Materiais de colheita utilizados no laboratório Unilabs. Retirada e adaptada de <https://sa.sol-m.com/noticias/diferencas-de-tubos-para-coleta-de-sangue/>

1.3 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE

1.3.1– Controlo de qualidade interno (CQI)

O controlo de qualidade interno consiste na análise diária de uma amostra controlo e tem como objetivo a deteção de problemas na rotina dos métodos aplicados no laboratório.

A aceitação dos controlos é baseada na interpretação dos gráficos leving-jenning e das regras de Westgard, sendo que caso um resultado se encontre fora do estipulado procede-se à calibração e/ou controlo.

Através deste controlo diário, descrito na tabela 1, antes da utilização dos aparelhos para as análises propriamente ditas, o laboratório garante que os resultados obtidos sejam utilizados com confiança no diagnóstico, prognóstico e decisão terapêutica.

Tabela 1-Controlo da qualidade interna nos diferentes setores.	
Equipamento	Controlo de qualidade interno
Bioquímica	
<u>Capillarys II</u>	- Sebia control
<u>ADVIA 1800</u>	- Unassayed control – 2 níveis - Quantitative urine control – 2 níveis - Anemia control - Elevated CRP control - Cardiac markers Plus control
Imunologia	
<u>ADVIA Centaur XP</u>	- Anemia control - Anti TG, TPO control - IgM control - Viroclear control - Virotrol HIV control - Syphilis control - Tumor Marker Control – 2 níveis - Lyphocheck immunoassay Plus Control – 3 níveis
Hematologia	
<u>Sysmex XN-1000</u>	- L1,L2 e L3 XN Check control
<u>Hb9210 Premier</u>	- Biorad Lyphocheck Diabetes control – 2 níveis
<u>VES-MATIC CUBE 200</u>	- Sedimentation Rate control – 2 níveis

<u>CA-600 Series</u>	- Lyphocheck coagulation control – 2 níveis
Análise de urinas	
<u>iChem Velocity</u>	- Irispec CA/CB/CC control
<u>IQ200 Series</u>	- iQ control/Focus Set control

1.3.2 – Controlo de qualidade externo (CQE)

Além do controlo de qualidade interno, o laboratório é submetido também a um controlo de qualidade externo. Este consiste em duas entidades externas - (Randox International Quality Assessment Scheme (RIQAS) e National External Quality Assessment Service (NEQAS) - que procedem ao envio para o laboratório de uma amostra para ser analisada a determinados parâmetros e cujas concentrações já são conhecidas, no entanto, o laboratório desconhece.

Seguidamente, o laboratório trata a amostra enviada da mesma forma que trata as restantes amostras, analisando-a e enviando os resultados à entidade externa, que irá comparar os valores de referência com os resultados da análise, concluindo assim a qualidade desta.

A periodicidade e entidade externa responsável pelo controlo externo encontra-se descritas na tabela 2.

Setor	Entidade do controlo externo	Periodicidade
<u>Bioquímica</u>	RIQAS NEQAS	Mensalmente
<u>Imunologia</u>	RIQAS NEQAS	
<u>Hematologia</u>	RIQAS NEQAS	
<u>Análise de Urina</u>	RIQAS	

CAPÍTULO II – HEMATOLOGIA

A hematologia é a especialidade clínica responsável pelo estudo das células sanguíneas. Nesta área são estudados essencialmente os elementos figurados do sangue nomeadamente hemácias, leucócitos e plaquetas que correspondem a cerca de 45% da composição do sangue total, sendo os restantes 55% correspondentes à água plasmática (cerca de 50%) e solutos plasmáticos como as proteínas (correspondendo a aproximadamente 70% dos solutos plasmáticos), metabolitos orgânicos e produtos finais de diferentes vias metabólicas (cerca de 20%) e componentes inorgânicos que contribuem para aproximadamente 10% de todos os solutos³.

O processo através do qual ocorre a formação e maturação de células sanguíneas é designado Hematopoiese e tem origem numa célula estaminal pluripotente que se encontra na medula óssea, a qual pode originar uma célula estaminal linfóide - dará origem aos linfócitos - ou uma célula estaminal mielóide que se pode dividir e diferenciar, como se pode ver na figura 3, dando origem às restantes células sanguíneas: hemácias, plaquetas e leucócitos, sendo estes últimos divididos em granulócitos (basófilos, eosinófilos e neutrófilos) e agranulócitos (linfócitos e monócitos)⁴.

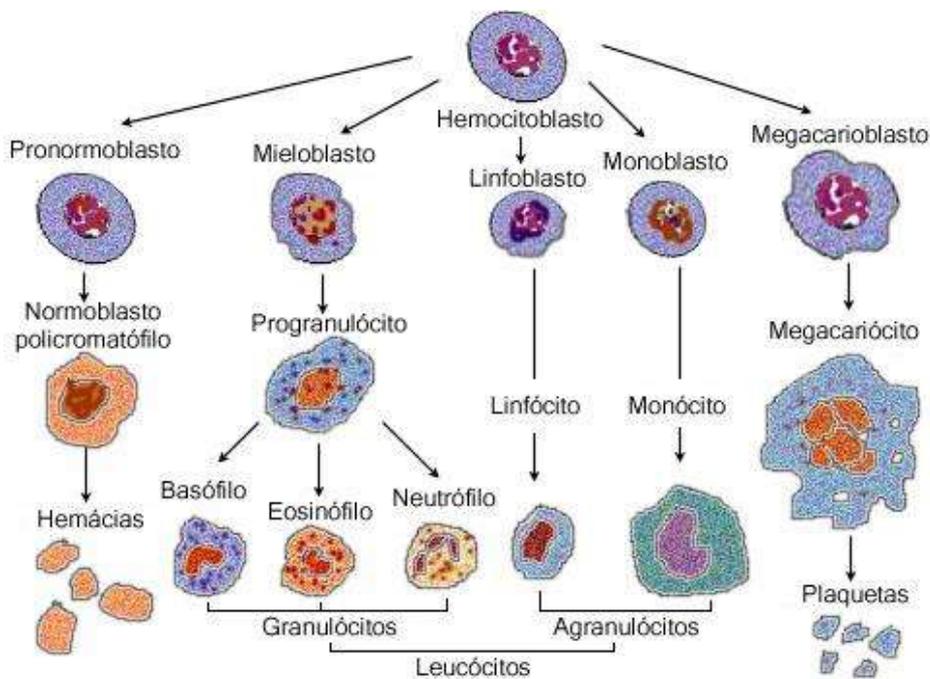


Figura 3-Esquema representativo da hematopoiese. Retirada e adaptada de https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Illu_blood_cell_lineage.jpg

Para o estudo dos elementos figurados do sangue são usados equipamentos específicos os analisadores celulares automáticos e são também realizados esfregaços sanguíneos para avaliação da morfologia celular e validação das contagens automáticas.

2.1 – SYSMEX XN-1000

No Unilabs para realização do hemograma é utilizado o Sysmex XN-1000 (Figura 4), um analisador celular automático que funciona por tecnologia de citometria de fluxo fluorescente.

A citometria de fluxo é uma técnica que permite realizar a separação e contagem individual das células, sendo neste caso usada para a realização de hemogramas (estudo das hemácias, leucócitos e plaquetas) permitindo também fazer a identificação e contagem de eritroblastos (eritrócitos nucleados) e reticulócitos, ambas formas imaturas das hemácias⁵.

Neste aparelho as células são examinadas enquanto fluem através de uma célula de fluxo começando pela aspiração da amostra de sangue e seguidamente a diluição e marcação da amostra com um marcador fluorescente que se liga especificamente aos ácidos nucleicos⁵.

Como passo seguinte dá-se o transporte da amostra para a célula de fluxo onde é iluminada por um laser semiconductor (Figura 5) que separa as células utilizando três sinais diretos⁵:

- Dispersão frontal de luz que fornece indicação do volume celular;
- Dispersão lateral de luz que informa sobre o conteúdo celular, como núcleos e grânulos;
- Fluorescência lateral que mostra a quantidade de ADN e ARN presentes na célula.



Figura 4-Aparelho Sysmex XN-1000.
Foto gentilmente cedida por Unilabs.

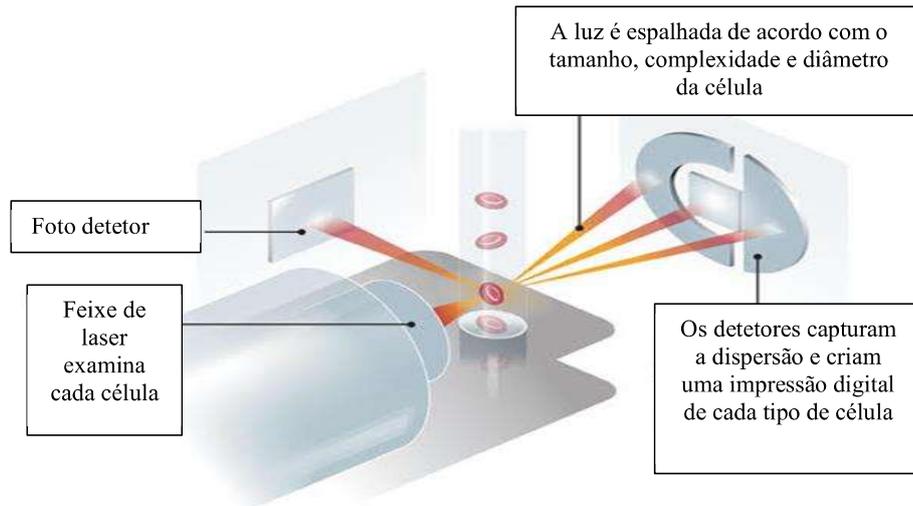


Figura 5-Esquema representativo da citometria de Fluxo. Retirado de IDEXX LaserCyte Dx/IDEXX LaserCyte Hematology Analyzer Operator's Guide, IDEXX Laboratories, 2014

Este aparelho dispõe de 4 canais de medição⁵:

✓ XN - CBC – NRBC

Neste canal o analisador mede a fluorescência lateral que avalia o conteúdo de material nucleico para identificação e quantificação de eritroblastos e leucócitos e a dispersão frontal de luz.

Parâmetros reportáveis por este canal: Leucócitos, Basófilos, Eritrócitos nucleados.

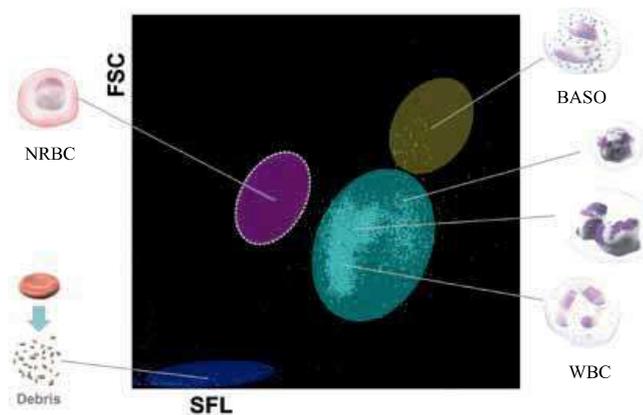


Figura 6-Resultados emitidos do canal XN - CBC – NRBC. Retirado de <https://www.sysmex.com/la/PT/Products/Hematology/XNSeries/Pages/XN-1000-Hematology-Analyzer.aspx>

✓ XN – DIFF

O canal DIFF permite detetar as diferentes populações leucocitárias, realizando assim uma fórmula leucocitária completa.

Parâmetros reportáveis por este canal: Populações leucocitárias e Granulócitos imaturos.

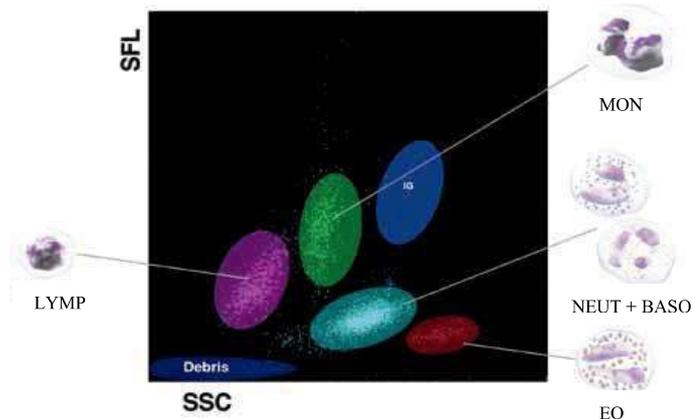


Figura 7-Resultados emitidos do canal XN – DIFF. Retirado de <https://www.sysmex.com/la/PT/Products/Hematology/XNSeries/Pages/XN-1000-Hematology-Analyzer.aspx>

✓ PLT-F

Neste canal são avaliadas as plaquetas, que são identificadas e quantificadas pelo uso de um corante específico, Oxazina, que cora as superfícies dos retículos endoplasmáticos rugosos e das mitocôndrias.

Parâmetros reportáveis: Plaquetas e Fração imatura das plaquetas (IPF).

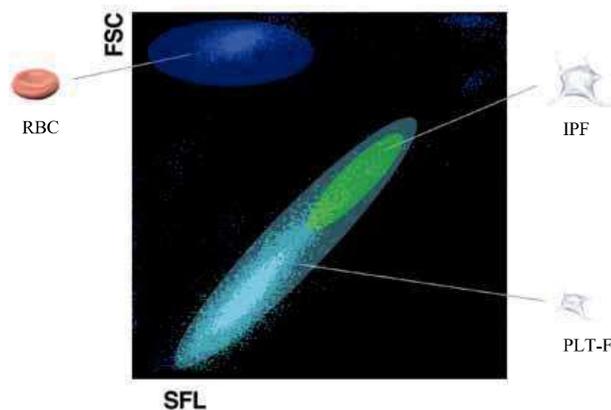


Figura 8-Resultados emitidos do canal PLT-F. Retirado de <https://www.sysmex.com/la/PT/Products/Hematology/XNSeries/Pages/XN-1000-Hematology-Analyzer.aspx>

✓ RET

Através do canal de reticulócitos é obtida uma avaliação celular completa da eritropoiese. Assim, as células vermelhas circulantes no sangue periférico são classificadas e diferenciadas pelo seu tamanho e estado de maturação celular.

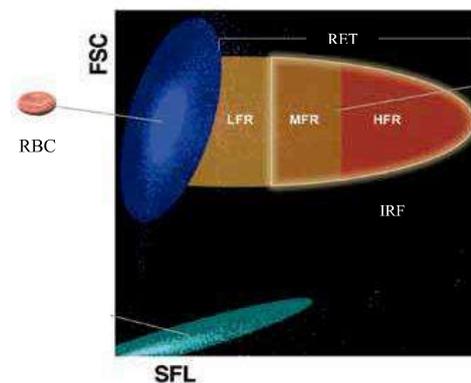


Figura 9-Resultados emitidos do canal RET. Retirado de <https://www.sysmex.com/la/PT/Products/Hematology/XNSeries/Pages/XN-1000-Hematology-Analyzer.aspx>

Parâmetros reportáveis: Hemácias, Reticulócitos e Fração Imatura dos Reticulócitos (IRF) que corresponde à soma da fração dos reticulócitos com valor médio de fluorescência e a fração dos reticulócitos com valor alto de fluorescência.

2.1.1 – Parâmetros avaliados^a

Através do aparelho XN-1000 da Sysmex como já foi mencionado anteriormente é realizado o hemograma onde podem ser avaliados e analisados os diferentes tipos de células sanguíneas:

✓ **Hemácias**

As hemácias são células especializadas, através da eritropoiese, as quais têm como principal função transportar oxigênio para os tecidos e dióxido de carbono dos tecidos para os pulmões, sendo a sua semi-vida no sangue cerca de 120 dias⁶.

A avaliação laboratorial destas é feita não só pelo estudo das suas alterações em número, mas também através da identificação de alterações no tamanho, coloração ou forma em esfregaço sanguíneo⁶.

✓ **Reticulócitos**

Os reticulócitos são glóbulos vermelhos imaturos que se originam na medula óssea e são libertados para o sangue periférico depois do período de maturação e sofrem uma diferenciação em hemácias maduras. Caracterizam-se por serem células grandes, com menos hemoglobina que um eritrócito maduro e anucleadas apresentando um tempo de semi-vida de cerca de 24 horas. A contagem de reticulócitos é geralmente realizada para obter informações acerca do funcionamento da medula óssea⁷.

Uma reticulocitose, ou seja, um número elevado de reticulócitos em circulação ocorre em pacientes anémicos com uma medula óssea funcional, enquanto que pacientes anémicos com uma medula disfuncional apresentam um número diminuído de reticulócitos ao qual se dá o nome de reticulocitopenia.

^a Valores de referência para cada parâmetro presentes no Anexo 1.

Além da contagem em pacientes anémicos, também é realizada a sua contagem na monitorização da atividade regenerativa da medula óssea após quimioterapia ou um transplante de medula óssea⁷.

Em laboratório a diferenciação de um reticulócito de uma hemácia madura é baseada na ausência de núcleo e na presença de ARN e outras substâncias que presentes no reticulócito são perdidas durante o processo de diferenciação⁷.

✓ **Leucócitos**

À semelhança do que acontece com as restantes células sanguíneas, é na medula óssea que os leucócitos são produzidos, e têm no nosso organismo, maioritariamente funções de defesa. Estes apresentam capacidade de diapedese e dividem-se em granulócitos e agranulócitos⁸⁻¹¹.

o Agranulócitos

- Linfócitos, apresentam núcleo esférico que ocupa a maior parte do volume da célula sendo por isso o citoplasma pouco abundante. São as células produtoras de imunoglobulinas, também chamadas anticorpos, que defendem o organismo contra infeções, distinguindo entre as próprias células do organismo e células estranhas. Estes podem subdividir-se em 3 grupos: linfócitos T, linfócitos B e células NK⁹.
- Monócitos, são os maiores dentro da classe dos leucócitos, possuindo um núcleo grande central e oval ou em forma de rim. Estes desempenham um papel chave na resposta imunitária pois são células apresentadoras de antígeno. Podem deslocar-se facilmente para os locais de infeção e diferenciar-se em macrófagos e células dendríticas para provocar uma resposta imunitária. São as células fagocíticas por excelência⁹.

o Granulócitos

- Neutrófilos, apresentam um núcleo denso com 3-5 lobos e citoplasma com grânulos. Estes, como primeira linha de defesa, têm um papel importante na defesa imunitária, além de apresentarem capacidade de diapedese e

possuírem também importantes funções de fagocitose. O seu tempo de semi-vida são cerca de 6-10 horas¹⁰.

- Eosinófilos, apresentam até 3 lobos e grânulos citoplasmáticos que são maiores e coram fortemente com corantes ácidos. Estes matam os parasitas libertando certas enzimas citotóxicas e estão envolvidos em reações de hipersensibilidade¹¹.
- Basófilos, são os mais escassos no sangue e apresentam numerosos grânulos citoplasmáticos que se coram fortemente com corantes básicos. Estes participam em processos complexos como a quimiotaxia ou adesão celular além de atuarem como moduladores imunitários durante as reações alérgicas¹¹.

✓ **Plaquetas**

As plaquetas, também conhecidas como trombócitos, são fragmentos de células sanguíneas, cuja produção ocorre na medula óssea, e são intervenientes no processo de coagulação sanguínea¹².

A avaliação do número de plaquetas e do volume médio plaquetário através do plaquetograma, permite detetar possíveis distúrbios plaquetários como a trombocitose (aumento do número de plaquetas), trombocitopenia (diminuição do número de plaquetas) e a presença de plaquetas grandes em circulação¹².

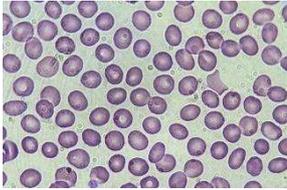
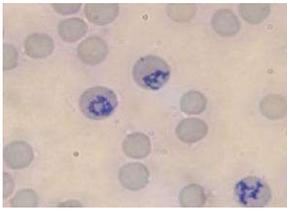
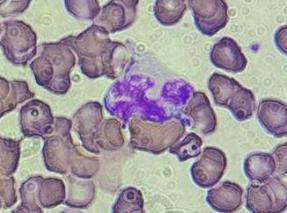
Caso seja detetada alguma alteração plaquetária por parte do equipamento deve-se confirmar através de um esfregaço sanguíneo, pois o aparelho pode detetar apenas duas ou três plaquetas o que não implica que exista apenas esse número de plaquetas pois estas podem encontrar-se agregadas e o aparelho associar a agregação a uma plaqueta apenas mas com um maior volume do que o normal.

2.2 - ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS

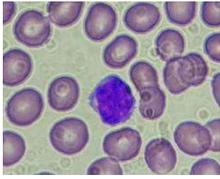
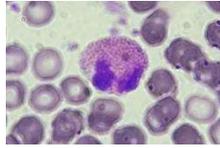
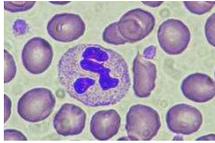
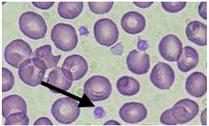
A observação do esfregaço de sangue periférico é feita sempre que no hemograma ocorra uma sinalização específica que indique a necessidade de observação, ou sempre que o patologista necessite algum tipo de confirmação. A obtenção de um bom esfregaço

sanguíneo é muito importante pois depende desta técnica a boa observação das células sanguíneas e identificação de alterações quanto à morfologia, tamanho ou coloração. Para a realização desta técnica:

- 1- Colocar, cuidadosamente, uma pequena gota de sangue no eixo central da lâmina ligeiramente afastado da extremidade.
- 2- Colocar uma lamela em contacto com a lâmina um pouco à frente da gota de sangue, criando-se um ângulo de 30° a 40° entre as duas.
- 3- Retroceder a lamela até contactar com a gota de sangue deixando fluir ligeiramente para trás, fazendo-se logo de seguida o movimento contrário avançando-se com a lamela rapidamente ao longo de todo o comprimento da lâmina para diante da gota de sangue.
- 4- Deixar o esfregaço secar ao ar e de seguida proceder à coloração. As colorações de rotina para a hematologia derivam da técnica de Romanowsky. No laboratório Unilabs é usado o kit RAL.
- 5- Observar ao microscópio.

Tabela 3-Células sanguíneas e respetivas visualizações ao microscópio. <i>Fotos gentilmente cedida por Unilabs.</i>	
Célula sanguínea	Visualização ao microscópio
<u>Hemácias</u>	
<u>Reticulócitos^b</u>	
<u>Monócitos</u>	

^bRetirado e adaptado de <http://patclinveterinaria.blogspot.com/2014/08/tecnica-para-contagem-de-reticulos.html>

<u>Linfócitos</u>	
<u>Eosinófilos</u>	
<u>Basófilos^c</u>	
<u>Neutrófilos</u>	
<u>Plaquetas</u>	

2.3 - HB9210 PREMIER

Este aparelho determina a percentagem de hemoglobina glicada presente no sangue dos pacientes através do método HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência por afinidade ao boronato¹³.

Nesta técnica analítica, o boronato, é ligado à superfície do suporte da coluna.

Quando uma solução de proteínas (hemolisado ou plasma diluído) passa pela coluna, o componente glicado liga-se ao boronato, enquanto o componente não glicado

passa pela coluna até ao detetor espectrofotométrico onde é detetado a 413nm. Depois que o componente não glicado elui da coluna, o componente glicado é por fim eluído com ajuda de um reagente que o desloca do boronato¹³.



Figura 10-Aparelho Hb9210 Premier. Foto gentilmente cedida por Unilabs.

^c Retirado e adaptado de http://mmegias.webs.uvigo.es/guiada_a_sanguineo.php

O boronato ajuda a que seja eliminada qualquer interferência por presença das principais variantes de hemoglobina, sendo que no final, os resultados são apresentados no monitor através de duas curvas como mostra a figura 11.

A percentagem final de hemoglobina glicada é dada através do cálculo¹³:

$$\frac{\text{Áreapico2}}{\text{Áreapico1} + \text{Áreapico2}}$$

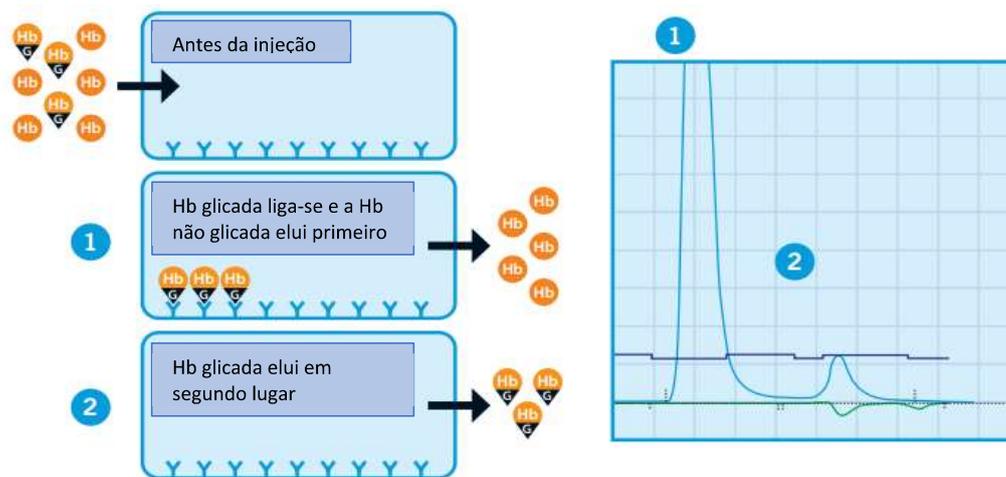


Figura 11-Eluição da hemoglobina glicada e hemoglobina e as respectivas curvas. Retirada e adaptada de <https://www.menarini.diag.pt/pt-pt/home/produtos-para-laborat%C3%B3rio/hemoglobina-glicada/hb9210-premier/caracter%C3%ADsticas>

2.3.1 - Parâmetros avaliados^d

Através do aparelho Hb9210 temos a indicação da percentagem de hemoglobina glicada (HbA1c). A HbA1c é um dos componentes da hemoglobina A e é uma medida da quantidade de glicose ligada à hemoglobina nos glóbulos vermelhos, o que a torna um excelente parâmetro para avaliar os níveis de glicose em pacientes com diabetes *mellitus* durante os últimos 2 a 3 meses pois esta tem uma produção contínua, eliminando-se lentamente do sangue, com a substituição das hemácias antigas por hemácias novas¹⁴.

Para além dos estados diabéticos, o aumento ou diminuição da HbA1c pode estar relacionado com¹⁴:

^d Valores de referência para cada parâmetro presentes no Anexo 1.

- Pessoas com hemoglobina S (variante de hemoglobina) apresentam menores quantidades de hemoglobina A, o que pode levar à diminuição dos resultados.
- Deficiência de ferro pode levar ao aumento dos resultados.
- Transfusões de sangue levam a resultados altos devido às soluções usadas para preservação do sangue apresentarem níveis altos de glicose.

2.4 - VES-MATIC CUBE 200

No Unilabs a avaliação da velocidade de sedimentação é feita recorrendo ao aparelho VES-MATIC CUBE 200, figura 12, que tem por base o método de Westergren, através da homogeneização da amostra e leitura ótica da sedimentação¹⁵. O procedimento é bastante simples e consiste no repouso do sangue numa posição vertical durante um período de tempo, o que vai permitir uma sedimentação visível de



Figura 12-Aparelho VES-MATIC CUBE 200.
Foto gentilmente cedida por Unilabs.

eritrócitos, sendo medido posteriormente, em mm, o espaço em que há uma sedimentação visível. O resultado é definido como a velocidade de sedimentação e é expresso em mm/h.

A velocidade de sedimentação das hemácias é um parâmetro não específico utilizado para detetar inflamação ou infeção no organismo, podendo indicar desde uma simples constipação, infeções por bactérias, até doenças inflamatórias como uma artrite ou uma pancreatite aguda¹⁶. Esta mede a velocidade da separação entre os glóbulos vermelhos e o plasma, pela ação da gravidade.

Quando há um processo inflamatório na corrente sanguínea, a carga negativa dos eritrócitos é parcialmente neutralizada pelas proteínas inflamatórias, que aumentam num processo inflamatório, o que leva a uma aproximação dos eritrócitos e conseqüentemente uma agregação formando-se complexos que sedimentam mais rapidamente¹⁶.

A velocidade de sedimentação pode ser afetada por¹⁶:

- Tamanho ou a massa dos eritrócitos, pois quanto maior forem os eritrócitos maior será a velocidade de sedimentação.

- Alteração da concentração de algumas proteínas plasmáticas, que podem levar à redução da carga negativa em torno dos eritrócitos, permitindo desta forma a agregação de várias células, incluindo os eritrócitos, e a formação de agregados em *rouleaux* (identificadas como aquilo que parecem “pilhas de moedas”¹⁷). Estes agregados conduzem ao aumento da velocidade de sedimentação.
- O aumento da concentração de proteínas no plasma faz aumentar a sua viscosidade, o que leva à diminuição da velocidade de sedimentação.

2.5 - SYSMEX CA-600 SERIES

A realização de provas de coagulação no Unilabs é feita no aparelho CA-600 da Sysmex, figura 13, e são determinantes no diagnóstico de doenças relacionadas com o sistema hemostático, apresentando também extrema importância no acompanhamento de terapêuticas, nomeadamente de terapias anticoagulantes e avaliação de perfis pré-cirúrgicos¹⁸.



Figura 13-Aparelho Sysmex CA-600. Foto gentilmente cedida por Unilabs.

O instrumento usa o método foto-óptico de deteção de coágulos. Através de uma luz vermelha (660 nm) que ilumina a amostra de plasma / mistura de reagente, o instrumento deteta as mudanças na intensidade da luz espalhada devido ao aumento da turbidez conforme o fibrinogénio é polimerizado em fibrina. A curva de coagulação é desenhada com o tempo e a intensidade da luz espalhada nos eixos X e Y, respetivamente¹⁸.

As provas mais realizadas são o tempo de trombina (TT), tempo de protrombina (PT), quantificação do fibrinogénio e tempo de ativação parcial de tromboplastina (aPTT), que permitem avaliar tanto a via extrínseca como a via comum da cascata de coagulação (figura 14)¹⁹.

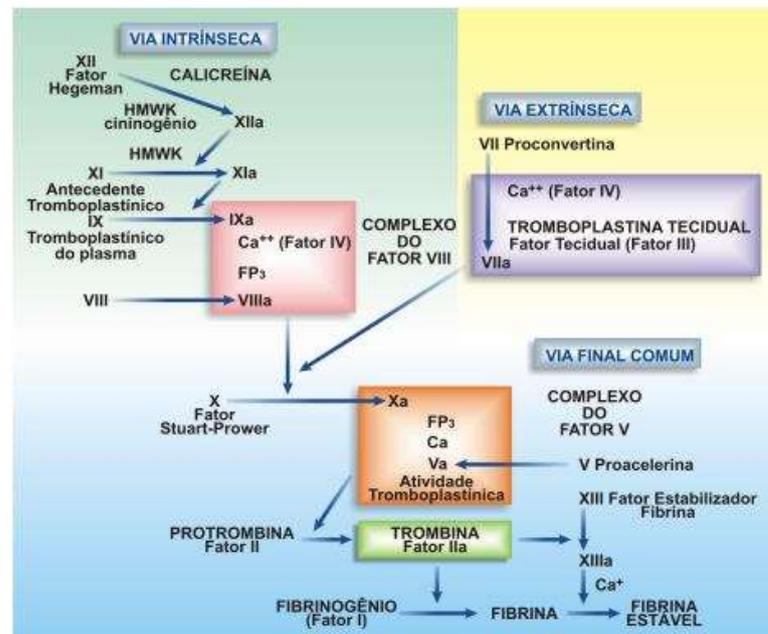


Figura 14-Esquema resumo da cascata de coagulação. Retirada e adaptada de <http://bioquimicaufjfgv2013.blogspot.com/2014/05/modelos-da-coagulacao-sanguinea.html>

2.5.1 – Parâmetros avaliados^e

A coagulação define-se numa sequência complexa de reações químicas que culminam na formação de um coágulo no local de lesão. Relativamente aos fatores de coagulação, estes podem ser avaliados através de 4 exames^{19,20}.

✓ Tempo de ativação parcial de tromboplastina (aPTT)

A resolução deste parâmetro consiste na determinação do tempo de coagulação do plasma após a adição de cálcio, um ativador da fase de contacto da coagulação e de cefalina, que substitui o fosfolípido da membrana plaquetária. Este é útil para a deteção de anomalias nas vias intrínseca e comum da cascata de coagulação.

✓ Tempo de trombina (TT)

Este teste é realizado com a adição de trombina ao plasma puro, e avalia a última etapa da cascata de coagulação, ou seja, a conversão do fibrinogénio em fibrina. Assim, a quantidade de fibrinogénio determina o tempo de coagulação.

^e Valores de referência para cada parâmetro presentes no Anexo 1.

✓ **Tempo de protrombina (PT)**

Esta prova de coagulação é um procedimento útil para detetar anomalias nas vias extrínsecas e comum da cascata de coagulação, nomeadamente nos fatores VII, X. O resultado reflete o tempo que demora até à formação do coágulo de fibrina.

Os valores do tempo de protrombina é expresso em RNI (Razão Normalizada Internacional) que corresponde à relação do tempo de protrombina do doente com o tempo de protrombina normal.

$$\text{RNI} = (\text{Tempo de Protrombina da Amostra} / \text{Tempo do Controlo})^{\text{ISI}}$$

ISI – Índice de Sensibilidade Internacional (fornecido pelo fabricante).

✓ **Doseamento de fibrinogénio**

A determinação deste parâmetro é útil no diagnóstico de disfunções hepáticas e problemas cardiovasculares. Para a sua determinação é adicionado à amostra um excesso de trombina de modo a haver conversão de fibrinogénio em fibrina, permitindo assim a determinação da quantidade de fibrinogénio funcional.

CAPÍTULO III – BIOQUÍMICA

A bioquímica é uma área muito importante num laboratório dada a possibilidade de avaliar diversos parâmetros relacionados com a maioria das doenças, sendo por isso estes exames muito requisitados.

No laboratório do grupo UNILABS as análises bioquímicas são realizadas em dois aparelhos, são eles o ADVIA 1800 Chemistry System da Siemens e o Capillarys II da Sebia para a realização de eletroforeses.

3.1 - ADVIA 1800 CHEMISTRY SYSTEM (SIEMENS)

O ADVIA 1800 Chemistry System (figura 15) pode executar testes em soro, plasma ou urina. Este tem como base uma análise fotométrica e pode realizar 1200 testes fotométricos por hora e cerca de 600 testes eletrolíticos por hora²¹.

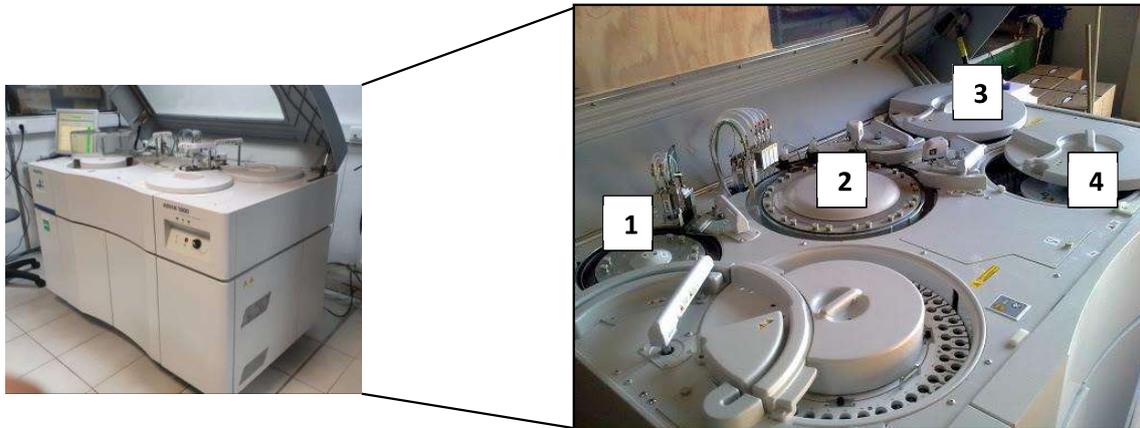


Figura 15- Equipamento ADVIA 1800 Chemistry System - Siemens (1- bandeja de diluição, 2- bandeja de reação, 3- bandeja de reagentes 2 (R2), 4- bandeja de reagentes 1 (R1)). Foto gentilmente cedida por Unilabs.

O funcionamento deste equipamento a nível dos testes fotométricos é considerado simples e de forma resumida passa pelas seguintes etapas²¹:

- 1) O sistema realiza as medições do branco da célula antes dos reagentes serem adicionados.

- 2) Aspiração do reagente da bandeja R1 para a realização do teste e dispensa deste por uma sonda de reagente na cuvette da bandeja de reação.
- 3) As amostras são aspiradas, diluídas pela sonda de diluição e distribuídas pelas cuvetes na bandeja de diluição. As amostras diluídas são misturadas e é transportada a quantidade necessária de amostra, agora diluída, para as cuvetes da bandeja de reação (onde já se encontra o reagente).
- 4) A restante quantidade de amostra diluída é colocada nas cuvetes da bandeja de diluição para eventuais testes adicionais, novas execuções ou diluições.
- 5) A amostra e o reagente do R1 são misturados sendo de seguida aspirado o reagente correspondente da bandeja R2 e misturado juntamente com os anteriores.
- 6) Por fim, depois de decorrido o tempo de reação, o espectrofotómetro obtém os dados das concentrações a cada 6 segundos.

Os testes eletrolíticos são realizados para a determinação dos iões sódio, cloro e potássio em amostras de urina, soro ou plasma através da medição de voltagem por eléctrodos seletivos de iões (ISE). Esta análise é sempre realizada antes da análise fotométrica²¹.

Durante este teste a sonda de diluição da amostra aspira a amostra para a análise de eletrólitos, que usa tampão como reagentes, num processo que envolve dois passos: primeiro a voltagem do tampão é medida e em seguida é medida a voltagem da amostra. Através da diferença entre as tensões, a tensão de referência e as temperaturas dos líquidos é determinada assim a concentração de sódio, cloro e potássio na amostra²¹.

3.1.1 – Parâmetros Bioquímicos avaliado^f

Eletrólitos

Os fluídos biológicos contêm Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , entre outros iões, e alguns aniões orgânicos como por exemplo o lactato, sendo que alguns deles como é o caso do Na^+ , o K^+ e o Cl^- são responsáveis por manter a pressão osmótica e por distribuir água

^f Valores de referência para cada parâmetro presentes no Anexo 2.

pelos diferentes compartimentos do corpo. Estes eletrólitos existem no nosso organismo principalmente na forma de iões livres²².

Sódio (Na⁺)

O sódio representa cerca de 90% dos catiões inorgânicos por litro de plasma e tal como já foi referido anteriormente, apresenta um papel fundamental na manutenção da distribuição da água pelos compartimentos e da pressão osmótica nos fluídos extracelulares²².

A sua filtração ocorre no glomérulo, sendo cerca de 70-80% reabsorvido posteriormente nos túbulos proximais juntamente com o Cl⁻. Esta movimentação do sódio é acompanhada, passivamente, pela água²².

Cloreto (Cl⁻)

O principal anião extracelular presente no organismo é o ião cloreto, sendo a maioria, depois de ingerido, absorvido no tubo digestivo. Este componente apresenta papéis fundamentais em vários mecanismos, como na distribuição de água e na regulação da pressão osmótica²².

Potássio (K⁺)

O potássio é o principal catião intracelular. É através da dieta diária que ocorre a ingestão de K⁺ que é absorvido no trato gastrointestinal e distribuído pelo organismo, sendo o excesso excretado pelos rins²².

Glicose

A glicose sanguínea, cuja concentração é também conhecida como glicémia é a principal fonte de energia do organismo, sendo a sua concentração controlada por duas hormonas: a insulina, que é responsável pela diminuição da glicémia, e o glucagon que é responsável pelo aumento dos seus níveis²³.

Os resultados para os níveis de glicose são determinados através de uma amostra recolhida em jejum²³.

Colesterol

Colesterol Total

O colesterol é uma substância lipídica que pode ser de origem endógena onde o seu principal local de síntese é o fígado, ou de via exógena através dos alimentos consumidos.

Esta substância é encontrada em todas as células do nosso organismo e é fundamental para: a digestão de alimentos gordurosos, formação das membranas celulares, formação da mielina, síntese de hormonas, (como a testosterona, estrogénio, cortisol...) e metabolização de algumas vitaminas com a A, D, E e K²⁴.

HDL e LDL

Como o colesterol se trata de uma substância lipídica e por isso não se dissolve no sangue são necessários transportadores para o transportar na corrente sanguínea e alcançar os tecidos periféricos. As lipoproteínas produzidas no fígado que se designam de lipoproteínas de alta densidade (High-density lipoprotein - HDL) e lipoproteínas de baixa densidade (Low-density lipoprotein - LDL) fazem o transporte do colesterol dos tecidos para o fígado e do colesterol do sangue para os tecidos, respetivamente²⁴.

O LDL é calculado pelo uso da equação de Friedwald²⁴:

$$\text{Colesterol LDL} = \text{Colesterol Total} - [\text{Colesterol HDL}] - [\text{Triglicerídeos}/5]$$

Triglicerídeos

Os triglicerídeos são compostos por três ácidos gordos ligados a um glicerol e representam uma grande reserva energética para o organismo. Para que a sua determinação laboratorial seja feita de maneira correta, a colheita de sangue deve ser feita com o paciente em jejum pois, caso contrário, os seus valores estarão falsamente aumentados devido à ingestão dos alimentos²⁴.

A determinação dos níveis de triglicerídeos no soro baseia-se numa cadeia de reações que se inicia com a hidrólise dos triglicerídeos em glicerol e ácidos gordos.

Creatinina

Durante o metabolismo muscular a reação entre a creatina e a fosfocreatina tem como produto a creatinina, que é um parâmetro bastante útil no diagnóstico e

monitorização de distúrbios renais crónicos e agudos dado que a sua excreção ocorre de forma constante através dos rins²⁵.

Para além da avaliação da creatinina no soro é também comum realizar a análise para determinação da depuração de creatinina na urina afim de avaliar a taxa de filtração glomerular, sendo este parâmetro calculado recorrendo a uma amostra de urina 24 horas²⁵.

Ureia

A ureia é uma substância produzida pelo fígado que resulta do metabolismo das proteínas que provêm da alimentação. Após a sua metabolização, a ureia que circula no sangue é filtrada pelos rins e eliminada através da urina pelo que, tal como a creatinina, também é utilizada para a monitorização da função renal²⁵.

Ácido Úrico

O ácido úrico é o produto principal do metabolismo das purinas e é formado através da xantina pela ação da xantina oxidase. A excreção deste ocorre através dos rins, porém há situações que levam à sua acumulação o que origina uma hiperuricémia, ou seja, um aumento dos valores de ácido úrico no organismo e isto pode ocorrer em situações de gota, obesidade, aterosclerose, diabetes *mellitus*, hipertensão ou ingestão de dietas ricas em proteínas²⁵.

Aspartato aminotransferase

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima que pertence ao grupo das transaminases catalisadoras da conversão dos aminoácidos nos α -cetoácidos e está presente nas mitocôndrias e no citoplasma de todas as células. A sua atividade enzimática é detetável em vários tecidos do corpo, ocorrendo atividades significativas no miocárdio, fígado e músculo-esquelético^{26,27,28}.

A sua libertação para a corrente sanguínea ocorre após uma lesão celular e o seu doseamento tem aplicações no diagnóstico e controlo principalmente de doenças hepáticas, podendo também ser usado no controlo de doenças cardíacas²⁶.

Alanina amino transferase

Tal como a AST, também a alanina aminotransferase é uma enzima pertencente ao grupo das transaminases catalisadoras da conversão dos aminoácidos em α -cetoácidos.

Apesar de ser detetada nos rins, pâncreas, coração, baço, pulmão e músculo esquelético, a atividade desta enzima é detetada maioritariamente no fígado, sendo desta forma considerada um marcador específico de lesão do hepatócito.^{26,27,29}.

Gama glutamil transferase

A gama glutamil transferase (GGT) é uma enzima produzida no fígado, mas também no pâncreas e coração³⁴. A quantificação desta enzima é habitualmente solicitada para a verificação da presença de problemas no fígado ou obstrução biliar.

Para uma correta determinação laboratorial, tal como para todas as enzimas, a amostra deve ser recolhida em jejum.

Creatina cinase

A creatinina cinase (CK) é uma enzima que possui 3 isoenzimas (CK – MM presente no músculo esquelético, CK – MB presente no músculo cardíaco e CK – BB presente no cérebro) e pode ser encontrada no coração, cérebro, músculos esqueléticos entre outros tecidos.

Os níveis desta enzima aumentam quando ocorre uma lesão nos músculos esqueléticos ou no músculo cardíaco, sendo a determinação da atividade da isoenzima CK-MB (músculo cardíaco) também realizada com frequência pois é muito útil em suspeita de enfarte de miocárdio^{31,32}.

Lactato desidrogenase

A lactato desidrogenase (LDH) é a enzima que catalisa a oxidação de *L*-lactato levando à formação de piruvato. Esta apresenta 5 isoenzimas: LDH-1 presente no coração, hemácias e rins; LDH-2 presente no coração e nos leucócitos; LDH-3 presente nos pulmões; LDH-4 presente na placenta e no pâncreas e a LDH-5 presente no fígado e no músculo esquelético.

Este é um parâmetro muito utilizado tanto no diagnóstico de patologias hepáticas como também patologias cardíacas, sendo normalmente acompanhada da análise de outros parâmetros como a CK, troponina, AST, ALT e GGT³⁰.

Proteína C reativa

A proteína C reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda sintetizada no fígado, que apresenta como principal função a estimulação da fagocitose de bactérias, pelo que a incapacidade da sua produção concede maior suscetibilidade a processos inflamatórios/infecciosos³³.

A PCR é geralmente usada para deteção de processos inflamatórios/infecciosos começando a apresentar valores elevados cerca de 2 horas após o início de uma inflamação/infeção. Estes valores podem demorar alguns dias a estabilizar, o que a torna também um excelente parâmetro para a verificação da eficácia do tratamento.

Para além da deteção de inflamações/infeções, este é também um parâmetro usado para deteção de enfarte do miocárdio, pancreatite necrótica, inflamação sistêmica por artrite reumatóide, politrauma ou neoplasias³³.

Cálcio

O cálcio é um ião muito importante no organismo podendo-se encontrar na corrente sanguínea sob duas formas: forma ionizada ou ligado a proteínas.

Este desempenha papéis em vários mecanismos fisiológicos, são eles: contração muscular, transmissão nervosa, processos de ativação enzimática e coagulação. Para além destes processos o cálcio apresenta também uma grande importância na estrutura óssea e dentária do corpo humano³⁵.

Este é um parâmetro que pode ser estimado com fração total ou em fração ionizada e biologicamente ativa, dependendo do analisador usado.

Magnésio

O magnésio é o quarto catião mais abundante no organismo humano, sendo essencial em vários processos físico-químicos, nomeadamente na preservação da estrutura do ADN, ARN e ribossomas e na ativação de enzimas como fosfatases, pirofosfatases, cinases e carboxilases^{36,37}.

Fósforo

O fósforo é um componente essencial do organismo que se encontra associado a moléculas e estruturas orgânicas essenciais como os ácidos nucleicos, os fosfolípidos e

cofatores enzimáticos. Em comparação com o cálcio e o magnésio, este apresenta uma maior absorção por parte do trato gastro intestinal e é excretado na urina e fezes³⁹.

Embora a dosagem de fósforo na maioria dos casos seja feita em amostras de sangue também é possível realizar o teste na urina para monitorizar sua excreção através dos rins³⁸.

Monitorização do ferro

Ferro

O ferro é um elemento essencial transportado no organismo pela transferrina que é uma proteína produzida no fígado. O ferro é necessário para a produção de eritrócitos normais, constituindo uma parte importante da hemoglobina, pois cada molécula de hemoglobina é constituída por quatro átomos de ferro. Em condições fisiológicas 70% do ferro absorvido da alimentação é utilizado na síntese da hemoglobina e a maioria da restante percentagem armazenada nos tecidos³⁹.

A quantificação do ferro, avalia assim a quantidade de ferro disponível em trânsito no organismo.

Transferrina

Como foi mencionado anteriormente a transferrina é a principal proteína responsável pelo transporte do ferro na circulação sanguínea.

Através do exame laboratorial deste parâmetro numa amostra de sangue pode ser obtida a saturação da transferrina com ferro, calculada usando os resultados do ferro e da capacidade total de transporte. Adicionalmente à saturação da transferrina pode também ser avaliada a capacidade não saturada de transporte de ferro, ou seja, a quantidade de transferrina não saturada com ferro³⁹.

Ferritina

Ferritina é uma proteína que contém ferro e é a principal forma de ferro armazenado nas células e como tal a sua análise numa amostra de sangue indica-nos também a quantidade de ferro armazenada no corpo. Para além disto a ferritina é uma proteína positiva de fase aguda que se pode encontrar aumentada numa situação de inflamação⁴⁰.

O pedido do exame da ferritina acontece normalmente quando através de um hemograma de rotina se verifica que a hemoglobina e o hematócrito se encontram com valores abaixo do normal e as hemácias se encontram com menos hemoglobina do que o normal o que sugere anemia por deficiência de ferro³⁹.

Fator Reumatóide

O fator reumatóide é um anticorpo que é produzido pelo sistema imunológico do organismo.

Este é um parâmetro quantificado por espectrofotometria e é usado na identificação da artrite reumatóide, no entanto também pode ser identificado noutras patologias, como é o caso de doenças autoimunes, infeções bacterianas, virais e parasitárias, doenças pulmonares, hepáticas e renais⁴⁰.

Fosfatase Alcalina

A fosfatase alcalina é uma enzima que está presente em diversos tecidos do organismo humano mas que se encontra em maior quantidade no fígado e nos ossos. Assim, o aumento da sua atividade no soro é relevante na investigação de patologias hepatobiliares, situações de colestase e patologias ósseas⁴¹.

Em geral para a colheita é necessário o paciente apresentar-se em jejum pois a alimentação pode levar a um ligeiro aumento dos níveis de fosfatase alcalina⁴¹.

Amilase

A amilase é uma enzima que apresenta duas formas: a pancreática, exclusiva do pâncreas, e a salivar com origem nas glândulas salivares, e que é usada para o diagnóstico de doenças no pâncreas⁴².

Lipase

A lipase é uma enzima presente no pâncreas que participa na digestão das gorduras, proteínas e carboidratos provenientes da alimentação. Esta enzima é usada para avaliar alterações a nível do pâncreas⁴².

Proteínas totais

As proteínas plasmáticas podem ser divididas em albuminas e globulinas e são componentes essenciais de todas as células que além de exercer funções estruturais, constituem enzimas e hormonas⁴³.

A determinação das proteínas totais avalia a quantidade total de proteínas presentes no plasma.

De forma resumida encontra-se na tabela 4 os métodos utilizados, a utilidade dos parâmetros e que tipo de amostra pode ser utilizada para cada avaliação.

Tabela 4-Parâmetros analisados no setor da Bioquímica e respetivos métodos e utilidades.				
Parâmetro	Método	Utilidade	Amostras	
<u>Sódio</u>	Eléctrodo seletivo de iões	Função hidroelectrolítica Função renal	Soro, plasma ou urina	
<u>Cloreto</u>			Soro, plasma ou urina	
<u>Potássio</u>			Soro, plasma ou urina	
<u>Glicose</u>	Análise fotométrica	Diabetes Defeitos congénitos enzimáticos	Soro, plasma ou urina	
<u>Colesterol Total</u>		Avaliação cardiovascular Perfil lipídico	Soro ou plasma	
<u>HDL</u>			Soro ou plasma	
<u>LDL</u>			Soro ou plasma	
<u>Triglicéridos</u>			Soro ou plasma	
<u>Creatinina</u>		Função renal	Função renal	Soro, plasma ou urina
<u>Ureia</u>				Soro, plasma ou urina
<u>Ácido úrico</u>				Soro, plasma ou urina
<u>Albumina</u>				Urina
<u>AST</u>				Função hepática e cardíaca

<u>ALT</u>		Função hepática	Soro ou plasma
<u>LDH</u>		Enzima inespecífica (hepática, músculo cardíaco) Doenças hemato-oncológicas	Soro ou plasma
<u>Creatinina cinase</u>		Função renal	Soro ou plasma
<u>PCR</u>		Processos inflamatórios/infecciosos	Soro ou plasma
<u>GGT</u>		Função hepática	Soro ou plasma
<u>Cálcio</u>		Metabolismo ósseo Doença renal	Soro, plasma ou urina
<u>Magnésio</u>			Soro, plasma ou urina
<u>Fósforo</u>			Soro, plasma ou urina
<u>Ferro</u>		Avaliação anemia	Soro, plasma ou urina
<u>Transferrina</u>			Soro ou plasma
<u>Ferritina</u>			Soro ou plasma
<u>Fosfatase Alcalina</u>		Função hepática Metabolismo ósseo	Soro ou plasma
<u>Amilase</u>		Patologias pancreáticas	Soro ou plasma
<u>Lipase</u>			Soro ou plasma
<u>Fator Reumatóide</u>		Doenças pulmonares, hepáticas e renais. Doenças auto-imunes	Soro ou plasma
<u>Proteínas totais</u>	Eletroforese e análise fotométrica	Função hepática e renal Perturbações metabólicas e nutricionais	Soro, plasma ou urina

3.2 - CAPILLARYS 2 - SEBIA

O Capillarys 2 é um aparelho de eletroforese capilar através do qual é feita a eletroforese de proteínas – albumina e globulinas - onde as moléculas eletricamente carregadas são separadas pela sua mobilidade eletroforética através do fluxo num tubo capilar⁴⁴.

Para a análise são colocados os tubos de soro no aparelho, sendo cada amostra diluída num tampão de diluição e os capilares preenchidos com o tampão de separação. De seguida, as amostras são injetadas por aspiração na extremidade do ânodo do capilar e é feita a separação de proteínas.

A deteção óptica e a quantificação das diferentes frações das proteínas são realizadas perto da extremidade catódica num comprimento de onda específico – 200nm⁴⁴. No final é obtido o gráfico das diferentes frações de proteínas (Albumina, globulinas Alfa ($\alpha 1$, $\alpha 2$), globulinas Beta (β) e globulinas Gama(γ)) que se encontra na figura 17.



Figura 16-Equipamento Capillarys II da Sebia. Foto gentilmente cedida por Unilabs.

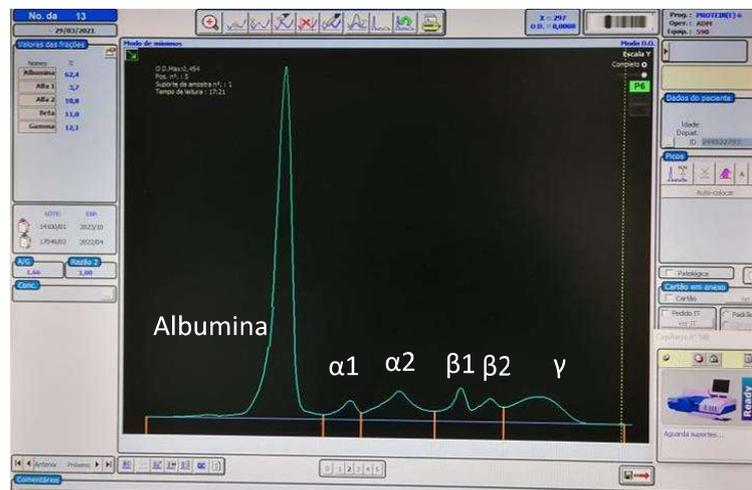


Figura 17-Resultados, apresentados no monitor, da eletroforese de proteínas. Foto gentilmente cedida por Unilabs.

3.2.1 – Parâmetros avaliados⁸

Albumina

A albumina é uma proteína produzida no fígado, sendo a mais abundante no plasma. Esta proteína tem como funções o impedimento da saída da água dos vasos sanguíneos e o transporte de hormonas, vitaminas, entre outras substâncias⁴⁵.

A determinação desta está normalmente associada a problemas hepáticos ou renais e é normalmente solicitada com outros exames como por exemplo o doseamento das proteínas totais, creatinina e de ureia⁴⁵.

Globulinas

As globulinas são todas as proteínas não albuminas, e podem dividir-se em três tipos: alfa, beta e gama.

Estas proteínas têm como função o transporte de metais, lípidos e bilirrubina e apresentam maior importância a nível de indicadores de processos inflamatórios⁴³.

Em forma de resumo, encontra-se na tabela 5 as proteínas de cada grupo (Albumina, alfa-1, alfa-2, beta e gama globulinas) e as suas respetivas funções.

Grupo	Proteína	Função
<u>Albumina</u>	Albumina	Principal proteína plasmática que participa no transporte de substâncias e reduz a acumulação de água nos tecidos.
<u>Alfa-1 Globulina</u>	Alfa-1 Antitripsina	Inativa a tripsina e outras enzimas proteolíticas e reduz o dano da inflamação.
	Alfa-1 Glicoproteína	Reagente de fase aguda sintetizado no fígado em resposta à inflamação e dano tecidual.
	Globulina ligadora de tiroxina (TBG)	Responsável pelo transporte das hormonas da tiróide.
	Proteína de ligação ao retinol (RBP)	Transporte do retinol (vitamina A) do fígado para os tecidos-alvo
<u>Alfa-2 Globulina</u>	Alfa-2 Macroglobulina	Neutraliza as enzimas proteolíticas.
	Haptoglobina	Proteína de fase aguda que se liga à hemoglobina.

⁸ Valores de referência para cada parâmetro presentes no Anexo 2.

	Ceruloplasmina	Apresenta um papel importante na regulação do estado iónico do ferro
	Eritropoietina	Controla a eritropoiese.
<u>Beta Globulina</u>	Hemopexina	Transporte da hemoglobina para o fígado.
	Transferrina	Transporte do ferro.
	Complexo do complemento C3	Ajuda na regulação a resposta inflamatória
<u>Gama Globulina</u>	IgA	Imunoglobulina envolvida nas secreções.
	IgG	Anticorpo principal das respostas imunes secundárias.
	IgM	Imunoglobulina de resposta inicial.
	Proteína C-reativa	Marcador de resposta inflamatória/infecciosa.
	Fibrinogénio	Proteína necessária para a formação do coágulo. Apresenta funções anti-inflamatórias.

CAPÍTULO IV – IMUNOLOGIA

4.1- ADVIA CENTAUR XP -SIEMENS

O sistema ADVIA Centaur XP é um analisador de imunoensaio automatizado que oferece grande produtividade e eficiência. Neste equipamento pode ser avaliada: a função tiroideia, função adrenal, função metabólica, marcadores oncológicos, fertilidade, doenças infecciosas, entre outros, tudo isto através da tecnologia de quimioluminescência direta⁴⁸.



Figura 18-Equipamento ADVIA Centaur XP – Siemens. Foto gentilmente cedida por Unilabs.

A quimioluminescência é uma reação química onde há emissão de energia sob a forma de luz, sendo que nas reações de quimioluminescência direta é medida diretamente a energia sem o uso de etapas adicionais ou moléculas de amplificação. O marcador quimioluminescente usado neste aparelho é o éster de acridínio que não requer adição de catalisador ou substrato e oferece muitos benefícios, tais como um maior tempo de vida do reagente, permite uma reação mais rápida e uma melhor sensibilidade no ensaio^{48,49}.

Mecanismo de funcionamento

A sequência de testes começa com a sonda de amostra a aspirar a amostra do tubo para uma cuvete no canal de incubação (pista circular isolada que avança a cuvete numa incubação a 37°C)⁴⁸.

O anel de incubação move a cuvete da sonda de amostra para a sonda auxiliar e para as sondas de reagente. A sonda auxiliar aspira os reagentes auxiliares e distribui pela cuvete, sendo que a cada aspiração de reagente auxiliar a sonda é lavada com água pela estação de enxaguamento, e de seguida a cuvete é movida para as sondas de reagente onde são aspirados os reagentes primários e colocados na cuvete⁴⁸.

Seguidamente a cuvete segue para a estação de lavagem a fim das partículas paramagnéticas (cristais de óxido de ferro), revestidas com antígenos ou anticorpos, serem puxadas para as paredes da cuvete por ímanes posicionados ao longo do anel de incubação para que assim as sondas de aspiração lavem a amostra e o reagente não ligado aos cristais de óxido de ferro revestidos⁴⁸.

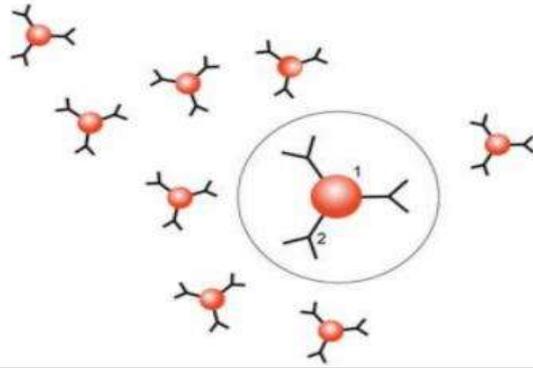


Figura 19-Partículas paramagnéticas revestidas (1-partícula paramagnética ; 2 – Anticorpos). Retirada de: <https://vdocuments.site/advia-centaur-xp-referencemanual.html?fbclid=IwAR0Ia1-XPvKuR6cL2RIZ7k-evKfWw6V1zFJUHWrvxF0eXQx1OTzsTVR69k4>

De seguida, o anel de incubação move a cuvete para a sonda de ácido, que vai dispensar o reagente ácido na cuvete que vai ser movida para o luminómetro que apresenta 3 partes: tubo fotomultiplicador com contagem de fótons, uma sonda de base e uma sonda de resíduos⁴⁸.

Quando o reagente básico é dispensado na cuvete, ocorre uma reação quimioluminescente e o luminómetro mede a luz emitida como unidades de luz relativa (RLU's). A unidade de processamento central processa os dados do fotomultiplicador e converte os RLU's em resultados⁴⁸.

Tipos de Reação

✓ Formato Sandwich

Neste formato são usados anticorpos marcados com éster de acridínio no reagente, que são adicionados à amostra, onde o anticorpo marcado com éster de acridínio, se liga ao antígeno específico do analito da amostra. De seguida é adicionada a fase sólida que contém as partículas paramagnéticas revestidas com anticorpos específicos para o antígeno da amostra e estas ligam-se aos antígenos que estão ligados aos anticorpos marcados com éster de acridínio. No fim o sistema quantifica a luz produzida pela oxidação do éster de acridínio e daí é calculada a concentração de antígeno⁴⁸.

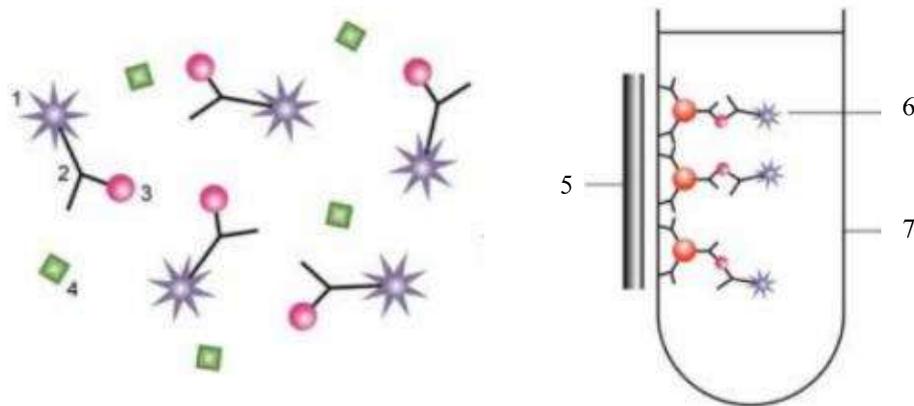


Figura 20-Complexos formados no método sandwich (1- éster de acridínio, 2- anticorpo, 3- antígeno específico na amostra, 4- outros antígenos, 5- magnetos, 6- Partículas paramagnéticas-Anticorpo-Antígeno-éster de acridínio, 7- cuvete). Retirada de: <https://vdocuments.site/advia-centaur-xp-referencemanual.html?fbclid=IwAR0Ia1-XPvKuR6cL2RlZ7k->

✓ Formato Competitivo

O formato competitivo inclui⁴⁸:

○ Antígeno marcado com éster de acridínio

O antígeno marcado com éster de acridínio compete com o antígeno específico da amostra pelos locais de ligação limitados do anticorpo que se encontra ligado a partículas paramagnéticas.

A concentração de antígeno na amostra e a emissão de luz apresentam uma relação inversa, ou seja, se a amostra tiver uma baixa concentração de antígeno específico, a maioria dos locais de ligação do anticorpo serão ligados ao antígeno marcado com éster de acridínio, o que vai causar uma leitura elevada da oxidação de éster de acridínio. Pelo contrário se a amostra tiver uma elevada quantidade de antígeno específico, a maioria dos locais de ligação do anticorpo serão ligados ao antígeno da amostra e poucos ao antígeno marcado com éster de acridínio, o que vai causar uma baixa leitura da oxidação de éster de acridínio.

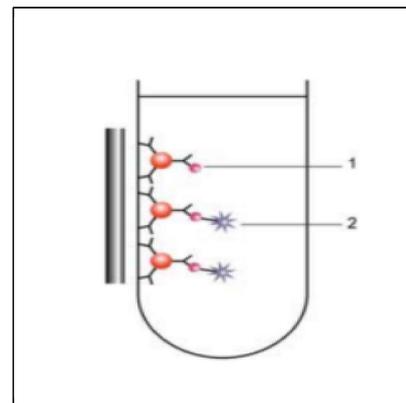


Figura 21-Modelo competitivo: Antígeno marcado com éster de acridínio (1-complexo partículas paramagnéticas-Anticorpo-Antígeno; 2 – complexo partículas paramagnéticas-Anticorpo-éster de acridínio).Retirada de: <https://vdocuments.site/advia-centaur-xp-referencemanual.html?fbclid=IwAR0Ia1-XPvKuR6cL2RlZ7k->

○ Anticorpo marcado com éster de acridínio

O antígeno ligado às partículas paramagnéticas compete com o antígeno específico da amostra pelos locais de ligação limitados do anticorpo marcado com éster de acridínio.

A concentração de analito na amostra e a emissão de luz apresentam uma relação inversa, pelo que se a amostra apresentar baixa concentração de antígeno específico o antígeno marcado com partículas paramagnéticas irá ligar-se à maioria dos locais de ligação do anticorpo, o que vai levar a uma leitura elevada. Pelo contrário

se a amostra tiver uma concentração elevada de antígeno específico, o antígeno da amostra irá ligar-se à maioria dos locais de ligação do anticorpo, o que leva a uma leitura mais baixa.

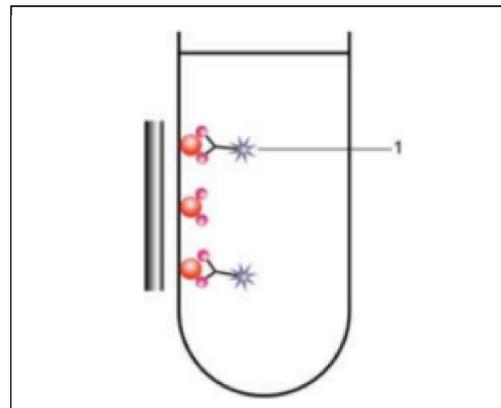


Figura 22-Modelo competitivo: Anticorpo marcado com éster de acridínio (1-Complexo partículas paramagnéticas-Antígeno-Anticorpo- éster de acridínio). Retirada de: <https://vdocuments.site/advia-centaur-xpreferencemanual.html?fbclid=IwAR0Ia1-XPvKuR6cL2R1Z7k->

✓ Formato de captura de anticorpo

Quando a substância a ser analisada é um anticorpo, o sistema usa o formato de captura do anticorpo, em que é usado um reagente que contém um anticorpo adicional que será especificamente direcionado contra o anticorpo da amostra. Os ensaios deste formato detetam anticorpos IgG específicos ou anticorpos IgM em amostras dos pacientes.

Para o ensaio ocorrer será necessário na cuvete estar presente o antígeno marcado com

éster de acridínio ligado ao anticorpo IgM ou IgG da amostra, que se encontrará ligado ao anticorpo IgM/IgG anti-humano ligado a partículas paramagnéticas. No final a concentração de anticorpo na amostra e a emissão de luz têm uma relação direta⁴⁸.

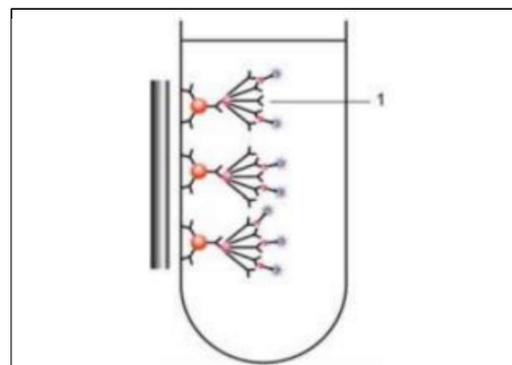


Figura 23-Formato de captura de anticorpo (1-Complexo antígeno marcado com éster de acridínio - IgM - anti IgM/IgG - partículas paramagnéticas. Retirada de: <https://vdocuments.site/advia-centaur-xpreferencemanual.html?fbclid=IwAR0Ia1-XPvKuR6cL2R1Z7k->

4.1.1– Parâmetros avaliados^h

Anticorpos para o Antígeno HBs

Este exame é pedido para verificar se o paciente apresenta anticorpos contra a proteína presente na superfície do vírus da hepatite B, a HBsAg. Normalmente os anticorpos surgem no soro 1 a 3 meses após a vacinação ou na fase de resolução da infeção aguda^{50,51}.

A apresentação de resultados é feita mediante 3 concentrações diferentes, que indicam se a presença dos anticorpos é suficiente para obter imunidade ou não⁵¹.

Anticorpos para HCV

Este é um exame pedido para verificar a presença de anticorpos para o vírus da Hepatite C no paciente, sendo que estes surgem entre 15 dias e 6 meses após a infeção^{52,53}.

O resultado da análise pode apresentar-se como positivo ou negativo, no entanto, se for positivo deve proceder-se à pesquisa de ARN viral de modo a quantificar a carga viral⁵³.

Anticorpos anti-TPO

A tireoperoxidase (TPO) é uma enzima que se encontra presente nas células epiteliais da tiróide, e que participa na síntese de hormonas tiroidianas. Estes anticorpos estão presentes em algumas doenças, por exemplo: tiroidite de Hashimoto, Doença de Graves ou doenças autoimunes⁵⁴.

Habitualmente pessoas com maior quantidade de anticorpos anti-TPO apresentam maior vulnerabilidade para o desenvolvimento de doenças autoimunes tiroidianas⁵⁴.

Anticorpos anti-TG

A tireoglobulina (TG) é uma substância precursora das hormonas da tiróide. Tal como os anticorpos anti-TPO, também estes estão presentes por exemplo na tiroidite de Hashimoto, na doença de Graves e doenças autoimunes da tiróide. No entanto, apesar dos anticorpos anti-TG estarem relacionados com as doenças autoimunes da tiróide, a presença destes não significa que o paciente tenha ou venha a ter algum problema da tiróide⁵⁴.

^h Valores de referência para cada parâmetro presentes no Anexo 2.

T4 total e T4 livre

A hormona tiroxina (T4), quase totalmente conjugada com proteínas, apresenta responsabilidade no auxílio do metabolismo fornecendo a energia necessária para o correto funcionamento do organismo. O exame desta tem como objetivo avaliar o funcionamento da tiróide através da hormona T4 total e T4 livre, no entanto é necessário ter em conta que a T4 total se considera menos específica pois pode haver interferência com as proteínas a que esta se encontra ligada, ao contrário da T4 livre^{55,56}.

T3 total e T3 livre

A hormona Triiodotironina (T3) é uma hormona que na sua maioria deriva da hormona T4, no entanto a tiróide também produz esta apesar de em pequenas quantidades^{55,56}.

O exame à hormona T3 é normalmente acompanhado do exame à hormona T4 ou TSH ou pedido após as análises a estas últimas apresentarem valores alterados⁵⁶.

Hormona estimuladora da tiróide (TSH)

A TSH é uma hormona responsável pelo aumento ou diminuição da produção de hormonas tiroideias (T3 e T4). A quantificação desta permite a deteção de hipotiroidismo (caracterizado pela queda dos níveis de T3 e T4) ou hipertiroidismo (caracterizado pelo excesso dos níveis de T3 e T4)⁵⁵.

Gonadotrofina coriónica humana (Beta hCG)

A beta hCG é uma hormona amplamente usada como confirmação de gravidez que pode ser quantificada tanto a partir do sangue como da urina, no entanto o exame ao sangue é mais fiável.

Esta apresenta duas subunidades: subunidade alfa semelhante a outras hormonas como a LH e a FSH, e a subunidade beta considerada única por não existir em mais nenhuma hormona⁵⁷.

Os seus níveis são detetáveis a partir da terceira semana de gestação⁵⁷.

CA 125

O CA 125 é um marcador tumoral muito utilizado para verificar o risco do paciente desenvolver algumas doenças como cancro nos ovários, endometriose ou quistos nos ovários por exemplo⁵⁸.

Para além de ajudar na descoberta do risco de desenvolvimento de tumores, este marcador é muito importante como indicador da resposta do tumor aos tratamentos de quimioterapia⁵⁸.

CA 19.9

O CA 19.9 é uma proteína libertada pelas células em alguns tipos de cancro como por exemplo cancro do pâncreas, cancro colorretal, cancro do fígado e cancro da vesícula biliar, o que faz deste um marcador tumoral. Para além de ajudar na identificação de cancro este é também usado em análises para verificar a eficácia do tratamento⁵⁹.

PSA total e PSA livre

O antígeno prostático específico (PSA) é uma enzima produzida pelas células da próstata, cujo seu aumento pode indicar alterações na próstata. Este é normalmente um exame pedido pelo médico pelo menos uma vez por ano a homens acima dos 45 anos, pois é a idade a partir da qual os homens apresentam maior prevalência do cancro da próstata, no entanto se os seus valores se encontrarem aumentados são necessários outros exames para a avaliação⁶⁰.

Quando um paciente apresenta PSA total com valores aumentados recorre-se ao PSA livre para que a investigação do cancro seja refinada e verificar a partir da relação dos dois se a alteração na próstata é benigna ou maligna, sendo que se a relação entre o PSA livre e o PSA total for abaixo de 15% indica uma grande probabilidade de cancro da próstata, verificada posteriormente com uma biópsia⁶⁰.

***Rubella* IgM e IgG**

O *Rubella* IgM e IgG são dois tipos de anticorpos presentes em pacientes infetados com rubéola e que atingem o pico 7 a 10 dias após a infeção no caso do primeiro tipo de anticorpos e mais uns dias no caso do segundo tipo de anticorpos⁶¹.

A tabela 6 abaixo descreve os possíveis resultados num paciente com suspeita de rubéola.

Tabela 6-Possíveis resultados após análise de anticorpos Rubella IgM e IgG. ⁶¹			
Idade	IgM	IgG	Interpretação
<u>Criança/Adulto</u>	Positivo	Positivo/Negativo	Infeção recente
<u>Criança/Adulto</u>	Negativo	Positivo	Infeção prévia ou vacinação - imune
<u>Recém-nascido</u>	Positivo	Negativo	Infeção pós-natal ou congénita recente
<u>Recém-nascido</u>	Negativo	Positivo	Imunidade passiva da mãe para o bebé (pode durar cerca de 6-12 meses)

Toxo IgM e IgG

O Toxo IgM e IgG são marcadores que permitem a deteção de anticorpos contra o *Toxoplasma gondii*, e identificar se se trata de uma infeção recente ou não.

Os anticorpos IgG são detetados caso se trate de uma infeção recente (identificados 5 a 7 dias após a contaminação), sendo que podem persistir pelo período máximo de 18 meses, já pelo contrário os anticorpos IgG identificam uma infeção mais antiga e é identificado cerca de 4 semanas após a infeção⁶².

Este é um exame muito pedido pelos médicos para as grávidas de modo a saber se a doença pode ser prejudicial para o feto ou não⁶².

Estradiol

O estradiol é um tipo de estrogénio mais ativo no ciclo menstrual. Para além de estar envolvido no ciclo menstrual este também está relacionado com a infertilidade das mulheres pois valores diminuídos deste podem levar ao aumento da dificuldade de engravidar⁶³.

Hormona folículo-estimulante (FSH)

A FSH é uma hormona produzida pela adeno-hipófise. Na mulher esta estimula o crescimento e a maturação dos folículos, já nos homens estimula os testículos a produzir espermatozoides⁶⁴.

O exame a esta hormona é normalmente pedido para avaliar a fertilidade dos homens e das mulheres, no entanto este é pedido juntamente com o exame a outras hormonas, por exemplo a testosterona, o estradiol, a LH e a progesterona⁶⁴.

Hormona Luteinizante (LH)

A LH é uma hormona produzida pela glândula hipófise. O exame desta hormona é normalmente pedido para avaliar a fertilidade de homens e mulheres, no entanto é também pedido para investigação de irregularidades menstruais e na ajuda ao diagnóstico de distúrbios da hipófise ou doenças que envolvem ovários ou testículos.

Em geral, exames a esta hormona não são feitos de forma isolada, mas sim com auxílio dos exames a outras hormonas⁶⁵.

Prolactina

A prolactina é uma hormona cujos níveis são regulados pela dopamina, sendo a sua principal função promover a lactação encontrando-se por isso em pequenas quantidades em homens e mulheres não grávidas. Para além de estar aumentada em mulheres grávidas, pode encontrar-se elevada também em casos de prolactinomas⁶⁶.

Folato e Vitamina B12

O folato e a vitamina B12 são duas vitaminas pertencentes com complexo B e que são necessárias para o normal funcionamento dos eritrócitos, para a reparação dos tecidos e para a síntese de ADN⁶⁷.

Ao longo do tempo a deficiência destas vitaminas pode levar a uma anemia macrocítica (produção de eritrócitos de maior tamanho mas em menor quantidade), perda de sensibilidade nas mãos e nos pés e também danos neurológicos⁶⁷.

Vitamina D

A vitamina D é uma vitamina cujas funções se centram principalmente no controlo dos níveis de cálcio no sangue e na regulação dos níveis de fósforo. Esta vitamina pode apresentar duas formas: vitamina D3 (colecalciferol) obtida a partir do colesterol e a vitamina D2 (ergocalciferol) obtida a partir da dieta⁶⁸.

A carência desta vitamina pode levar à descalcificação dos ossos, resultando numa doença chamada osteomalácia, em adultos, ou raquitismo, em crianças⁶⁸.

CHIV

O combo HIV é um teste realizado para a deteção simultânea do antigénio p24 presente no vírus da imunodeficiência Humana (HIV) e de anticorpos para o HIV, seja

tipo 1 ou tipo 2. Os anticorpos podem ser detetados cerca de 2-8 semanas após a exposição ao vírus, já o antígeno p24 é detetado nas primeiras 2 semanas após infeção^{69,70}.

Sífilis

O teste à sífilis é realizado de modo a verificar a presença de anticorpos contra a sífilis na amostra. Neste teste o reagente contém antígenos de *Treponema pallidum* marcados com éster de acridínio que se ligarão aos anticorpos presentes na amostra, caso estes estejam presentes⁷¹.

Em suma, na tabela 7 estão presentes todos os parâmetros, princípio do ensaio, a sua utilidade e o tipo de amostra utilizado.

Parâmetro	Princípio do ensaio	Utilidade	Amostra
<u>CA 19.9</u>	Sandwich	Marcador Tumoral	Soro
<u>CA 125</u>	Sandwich		Soro
<u>PSA</u>	Sandwich		Soro
<u>PSA livre</u>	Sandwich		Soro
<u>Anti TG</u>	Captura de anticorpo	Função Tiroideia	Soro e Plasma
<u>Anti TPO</u>	Captura de anticorpo		Soro e Plasma
<u>T3</u>	Competitivo		Soro
<u>T3 livre</u>	Competitivo		Soro
<u>T4</u>	Competitivo		Soro e Plasma
<u>T4 livre</u>	Competitivo		Soro
<u>TSH</u>	Sandwich		Soro
<u>Estradiol</u>	Competitivo		Fertilidade
<u>FSH</u>	Sandwich	Soro	
<u>LH</u>	Sandwich	Soro	
<u>Prolactina</u>	Sandwich	Soro	
<u>Beta HCG</u>	Sandwich	Soro	

<u>Ferritina</u>	Sandwich	Avaliação de anemias	Soro e Plasma
<u>Folato</u>	Competitivo		Soro
<u>Vitamina B12</u>	Competitivo		Soro
<u>Rubéola IgM</u>	Sandwich	Marcadores de doenças infecciosas	Soro e Plasma
<u>Rubéola IgG</u>	Sandwich		Soro e Plasma
<u>Toxoplasma IgG</u>	Sandwich		Soro e Plasma
<u>Toxoplasma IgM</u>	Sandwich		Soro e Plasma
<u>Sífilis</u>	Sandwich		Soro e Plasma
<u>aHBS</u>	Captura de anticorpo		Soro e Plasma
<u>aHCV</u>	Captura de anticorpo		Soro e Plasma
<u>HIV</u>	Sandwich		Soro e Plasma

4.2– TÉCNICAS MANUAIS

4.2.1- TPHA

O kit TPHA é um teste treponémico de pesquisa de anticorpos para *T. pallidum* (estirpe de Nichols) que utiliza eritrócitos conservados e revestidos com antígenos de *Treponema pallidum*, que se vão ligar ao anticorpo específico presente no soro ou no plasma do paciente⁷². Este é realizado confirmação e para semi-quantificação após a positividade do teste realizado no equipamento.

As células encontram-se suspensas num meio que contém componentes para eliminar reações não específicas.

As reações positivas são apresentadas através da aglutinação das células e as reações negativas através da sedimentação das células num anel pequeno⁷². Os reagentes usados estão apresentados na tabela 8.

<u>Células de Teste</u>	Suspensão de eritrócitos aviários revestidos com antígenos de <i>T. pallidum</i> , com albumina de soro bovino (BSA).
<u>Células de Controlo</u>	Suspensão de eritrócitos aviários conservados em Buffer.
<u>Diluyente</u>	Buffer que contém tintura azul e conservante.
<u>Controlo positivo</u>	Controlos usados como referência.
<u>Controlo negativo</u>	

O procedimento pode ser resumido nos seguintes passos⁷²:

- 1) Adicionar 190 µl do diluidor numa cavidade da placa e adicionar 10 µl da amostra. Repetir o mesmo passo noutra poço, mas em substituição da amostra colocar o controlo positivo ou negativo.
- 2) Transferir 25 µl do controlo diluído e amostra diluída do passo de diluição para os dois poços imediatamente ao lado (poços de teste).
- 3) Adicionar 75 µl de Células de teste a um poço de teste da amostra/controlo e 75 µl de Células de controlo a outra poço de teste também da amostra/controlo, ficando assim cada uma com um tipo de células para se dar a reação.
- 4) Aguardar cerca de uma hora com a placa tapada e ler os resultados (figura 24).

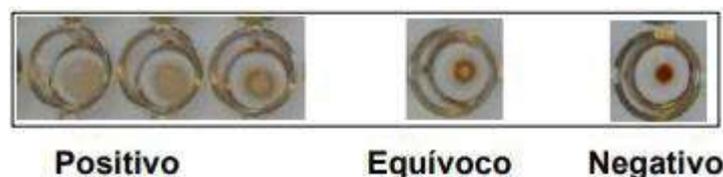


Figura 24-Interpretação dos resultados do método TPHA. Retirado de TPHA [Bula], Axis-Shield, 2014

Caso o teste se apresente positivo, é necessário proceder a diluições para assim obtermos o título⁷². As diluições encontram-se resumidas na figura 25.

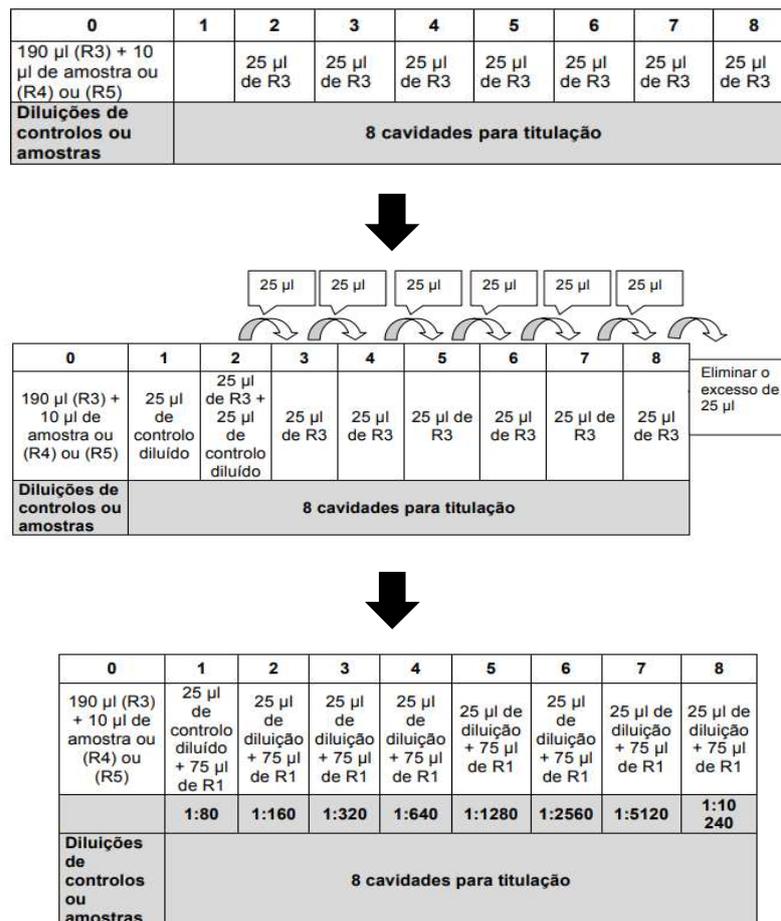


Figura 25-Etapas das diluições do teste semi-quantitativo TPHA. Retirado e adaptado de TPHA [Bula], BioRad, 2014

4.2.2 – RPR – Carbono

O teste RPR-Carbono tal como o TPHA é um teste não treponémico para deteção de anticorpos *T. pallidum* presentes no soro ou plasma. Para este teste é necessária uma placa, reagente RPR-Carbono que contém partículas de carbono sensibilizadas com uma mistura de lípidos a pH 7, um controlo positivo e um controlo negativo⁷³.

Os passos a seguir são⁷³:

- 1) Colocar uma gota de amostra em 2 círculos distintos da placa e em cada círculo colocar respetivamente uma gota de controlo positivo e controlo negativo.
- 2) Colocar uma gota de reagente RPR carbono num outro círculo da placa

que contém também uma gota de amostra a testar e mexer com a ajuda de uma vareta.

- 3) Colocar a agitar a placa cerca de 8 minutos e verificar a presença ou não de aglutinação.

4.2.3 - Teste de Gruber-Widal

O diagnóstico serológico Widal é uma técnica para deteção de anticorpos de *Salmonella* no soro do paciente. Para a realização deste teste serão necessários antigénios (*S.paratyphi* AH, *S.paratyphi* BH, *S.typhi* H, *S.paratyphi* AO, *S.paratyphi* BO e *S.typhi* O), uma placa com poços e uma pequena vareta para misturar⁷⁴.

Assim, esta técnica começa com a colocação de uma gota do soro do paciente nos poços e em cada poço colocar um antigénio diferente. Após a adição dos antigénios ao soro cada poço deve ser misturado com a ajuda da vareta e assim colocar a placa num agitador cerca de 2 minutos para observar a presença de aglutinação⁷⁴.

Se algum antigénio for positivo é necessário avançar para o método semi-quantitativo seguindo os seguintes passos⁷⁴:

- 1) Adicionar 80 µl, 40 µl, 20 µl, 10 µl, 5 µl de amostra nos poços ficando assim com as diluições 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 respetivamente.
- 2) Colocar em cada poço 50 µl do antigénio que mostrou resultado positivo e misturar o conteúdo colocando num agitador cerca de 1 minuto.
- 3) O título do anticorpo é a maior diluição do soro até à qual existe uma aglutinação nítida.

4.2.4 - Brucella Wright

Esta é uma prova serológica bastante simples e rápida dando uma avaliação qualitativa na deteção da *Brucella Abortus*. Para a sua realização deve ser usado um antigénio – Brucella Wright (suspensão de Brucella inativadas pelo calor e por formol a 4%) - e soro do paciente, numa placa branca afim de verificar aglutinação que é o indicativo de um teste positivo para a brucelose⁷⁵.

No caso do resultado ser positivo, deve efetuar-se as diluições de modo a determinar o título. Para isso devem ser seguidos os seguintes passos⁷⁵:

- 1) Dispor num tabuleiro de suporte uma série de 8 tubos de hemólise.
- 2) Introduzir no 1º tubo: 1,9 ml de suspensão antigénica + 0,1 ml do soro a testar. Homogeneizar.
- 3) Introduzir 1 ml de suspensão antigénica em cada um dos tubos numerados de 2 a 8.
- 4) No 1º tubo, recolher 1 ml da mistura (que representa a diluição a 1/20 do soro estudado) e introduzi-la no tubo nº 2. Seguidamente recolher 1 ml no 2º tubo e transferi-lo para o tubo nº 3, procedendo da mesma maneira até ao tubo nº8, rejeitando a quantidade de 1 ml recolhida neste último tubo.
- 5) Aguardar e verificar qual a maior diluição com resultado positivo.

CAPÍTULO V – ANÁLISE DE URINA

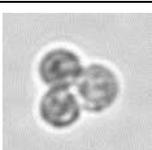
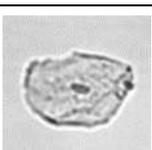
5.1 - iQ200 SERIES

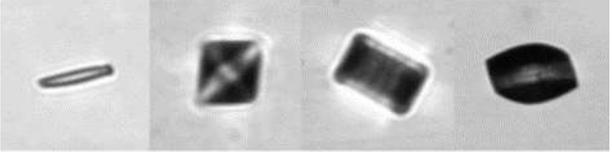
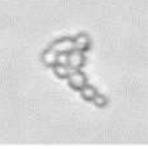
O iQ200 series identifica e processa amostras homogeneizando, aspirando e analisando-as de forma automática. Este sistema apresenta a amostra como uma lâmina posicionada exatamente dentro da profundidade do foco das lentes objetivos microscópio interno ligado a uma câmara de vídeo. As fotos resultantes são digitalizadas e enviadas para o computador do processador de análise⁷⁶.



Figura 26-Equipamento IQ200 Series. Foto gentilmente cedida por Unilabs.

Através de recursos como o tamanho, a forma, contraste e textura, cada imagem encontra-se numa das doze categorias ilustradas na tabela 9.

Hemácias	
Leucócitos	
Aglomerados de glóbulos brancos	
Células epiteliais escamosas	

Células epiteliais não escamosas	
Bactérias	
Cristais	
Cilindros hialinos	
Cilindros não classificados	
Leveduras	
Muco	
Esperma	

Para que a análise à urina seja bem feita, esta deve encontrar-se à temperatura ambiente e deve ter-se em conta alguns parâmetros como por exemplo⁷⁶:

- Hematúria, se esta for verificada deve diluir-se a amostra;
- Viscosidade, se a amostra se verificar com alguma viscosidade deve ser diluída;
- Volume da amostra, deve ser pelo menos 4 mL.

5.2 – iChemVELOCITY

Para a realização das medições dos constituintes físicos e químicos da urina é utilizado o iChem Velocity que utiliza tiras reativas (figura 28) lidas através de um comprimento de onda e gravidade específicos utilizando o índice de refração⁷⁷.

Os parâmetros analisados por estas tiras são a densidade, pH, leucócitos, nitritos, sangue, proteínas, glicose, ácido ascórbico, cetonas, Urubilinogénio e bilirrubinas.



Figura 27-Equipamento iChem Velocity. Foto gentilmente cedida por Unilabs.

Para que toda a análise seja feita a amostra é aspirada através de uma sonda e colocada uma alíquota desta em cada bloco de reagente presente na tira dispensada pelo módulo fornecedor de tiras. Após a colocação de amostra nos blocos, os componentes da urina e os reagentes dos blocos reagem causando uma alteração de cor da tira de teste⁷⁷.

Nas posições de leitura são capturadas imagens de todos os blocos da tira iluminada com uma luz vermelha, verde e azul numa sequência de 3 comprimentos de onda de LED diferentes: 472nm, 525 nm e 630 nm⁷⁷.

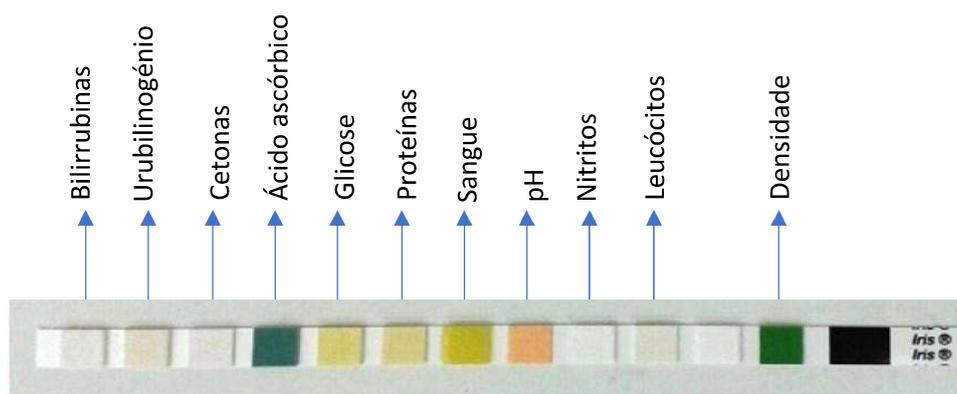


Figura 28-Tira reativa de urina presentes no iChemVELOCITY. Foto gentilmente cedida por Unilabs.

CAPÍTULO VI – MICROBIOLOGIA

Os agentes etiológicos mais frequentes nas crianças e adultos (sem outras doenças concomitantes) associados aos processos infecciosos urinários são da família das Enterobacteriaceae com grande destaque para a *Escherichia coli*.

No grupo Unilabs todas as provas de microbiologia são realizadas recorrendo ao isolamento de agentes e posterior observação para a confirmação de suspeitas de infeções do trato urinário.

5.1 – MEIOS DE CULTURA

O meio de cultura é essencial para o desenvolvimento dos microrganismos pois contem nutrientes necessárias ao crescimento microbiano. Estes podem ser categorizados como: não-seletivo, permitindo o crescimento da maioria das bactérias; seletivo, permitindo o crescimento de algumas bactérias e diferencial que permite o reconhecimento de diferentes bactérias com base na cor da sua colónia.

No caso do laboratório Unilabs, os meios de cultura utilizados são o agar Columbia com sangue de ovelha a 5% (COS) e agar CLED (Agar de cistina lactose deficiente em eletrólitos).

O agar CLED é um meio mais seletivo quando comparado com o COS, que inibe a proliferação de *Proteus spp.* devido à deficiência de eletrólitos mas que devido à presença de lactose permite diferenciar as colónias fermentadoras (lactose +) das não-fermentadoras (lactose -). Por sua vez, o agar de Columbia é um meio altamente nutritivo de uso geral utilizado para o isolamento e cultura de microrganismos não exigentes e exigentes provenientes de amostras clínicas^{78,79}.

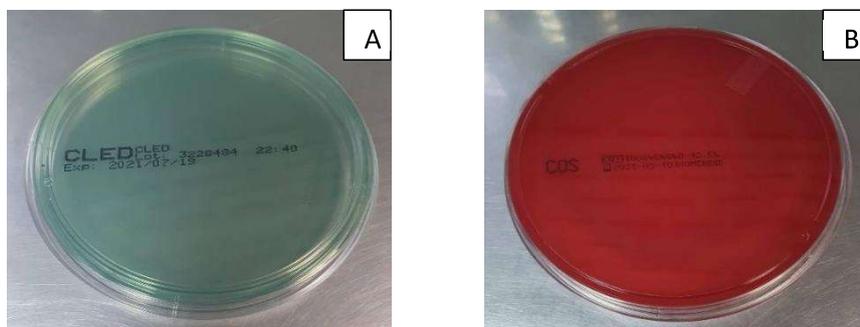


Figura 29-Placa com agar CLED (A) e agar Columbia (B). Foto gentilmente cedida por Unilabs.

Para a análise é necessário proceder à cultura da urina em ambos os meios de cultura sendo estes incubado a 35°C durante 24 horas e observados macroscopicamente.

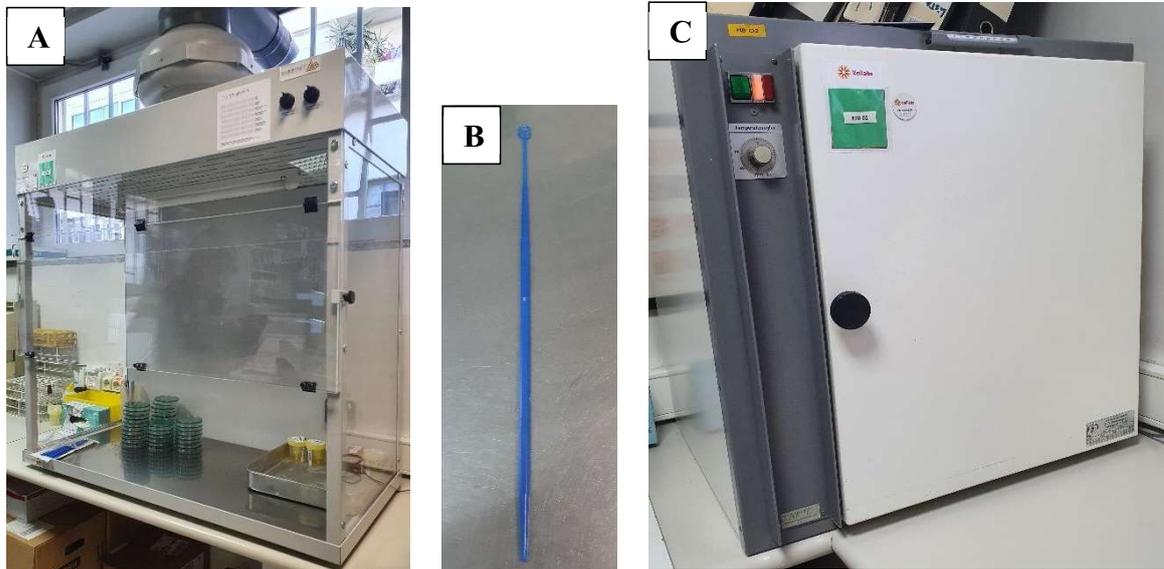


Figura 30-Materiais usados na cultura de urina (A- hotte, B- ansa de inoculação e C-estufa). Foto gentilmente cedida por Unilabs.

Durante a observação, de acordo com as evidências presentes, como o aspeto, cheiro e distribuição das colónias, identifica-se se a amostra se encontra estéril, se é uma flora de contaminação, se é uma flora normal da região ou se existe a predominância de uma bactéria ou fungo.

Caso se verifique a predominância de uma bactéria ou fungo esta é transportada para o laboratório central no Porto de modo a proceder à identificação desta/e.

CONCLUSÕES

Com este relatório posso concluir que os objetivos propostos inicialmente foram alcançados, dado que o estágio ajudou a compreender todo o funcionamento das diferentes áreas, nomeadamente Microbiologia, Hematologia, Imunologia, Bioquímica e Análise de urina do Laboratório de análises clínicas – Unilabs.

Ao longo de todo o estágio foi-me permitido tanto a observação como a execução de todo o trabalho desde a recolha da amostra à entrega do resultado da mesma, o que possibilitou desenvolver um maior conhecimento sobre o diagnóstico laboratorial e desenvolver também um sentido crítico em relação aos resultados.

Afim de concluir, o estágio permitiu-me adquirir, para além de mais conhecimentos, a prática para poder começar a trabalhar na área de análises clínicas com mais confiança e com a consciência que esta é toda uma área que precisa de estar em constante desenvolvimento pois só assim será permitido obter resultados cada vez mais fidedignos e mais rápidos, o que irá permitir também um melhoramento muito grande nos diagnósticos por parte dos médicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Ordem dos Farmacêuticos Associação Portuguesa de Analistas Clínicos (2016), Normas para o Laboratório Clínico, Sistema de Gestão da Qualidade para os Laboratórios Clínicos, 3ª Edição.
- 2) GUDER, W. - History of the preanalytical phase: a personal view, *Biochemia Medica* 2014;24(1):25-30.
- 3) Brown, Barbara A. (1993). *Hematology: Principles and Procedures*, Lea & Febiger, Malvern, Pennsylvania. Pp 1.
- 4) Bigildeev AE, Petinati NA, Drize NJ. How Methods of Molecular Biology Shape Our Understanding of the Hematopoietic System. *Mol Biol (Mosk)*. 2019 Sep-Oct;53(5):711-724.
- 5) <https://www.sysmex.com/la/PT/Products/Hematology/XNSeries/Pages/XN-1000-Hematology-Analyzer.aspx> [Acedido a 15/01/2021]
- 6) Bain B. (2006). Blood cell morphology in health and disease. Pp: 70-71. *In* Lewis S., Bain B., Bates I., Dacie And Lewis Practical Haematology, Churchill Livingston Elsevier, Philadelphia, 10th Ed.
- 7) Riley RS, Ben-Ezra JM, Goel R, Tidwell A. Reticulocytes and reticulocyte enumeration. *J Clin Lab Anal*. 2001;15(5):267-94.
- 8) <https://www.sysmex.es/es-pt/academia/knowledge-centre/leucocitos.html> [Acedido a 17/01/2021]
- 9) Bain B. (2006). Blood cell morphology in health and disease. Pp: 95-96. *In* Lewis S., Bain B., Bates I., Dacie And Lewis Practical Haematology, Churchill Livingston Elsevier, Philadelphia, 10th Ed.
- 10) Bain B. (2006). Blood cell morphology in health and disease. Pp: 89-90. *In* Lewis S., Bain B., Bates I., Dacie And Lewis Practical Haematology, Churchill Livingston Elsevier, Philadelphia, 10th Ed.
- 11) Bain B. (2006). Blood cell morphology in health and disease. Pp: 94. *In* Lewis S., Bain B., Bates I., Dacie And Lewis Practical Haematology, Churchill Livingston Elsevier, Philadelphia, 10th Ed.

- 12) Bain B. (2006) Blood cell morphology in health and disease. Pp: 110-112. *In* Lewis S., Bain B., Bates I., Dacie And Lewis Practical Haematology, Churchill Livingston Elsevier, Philadelphia, 10th Ed.
- 13) <https://www.menarinidiag.pt/pt-pt/home/produtos-para-laborat%C3%B3rio/hemoglobina-glicada/hb9210-premier/caracter%C3%ADsticas> [Acedido a 18/01/2021]
- 14) Hemoglobina glicada e glicemia média estimada, Labtestsonline.org, (2019). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/hemoglobina-glicada-e-glicemia-media-estimada>. [Acedido a 18/01/2021]
- 15) https://www.sysmex.com/us/en/Brochures/Brochure_VesMaticCube%20Data%20Sheet_MKT-10-1087.pdf [Acedido a 22/01/2021]
- 16) Brown, Barbara A. *Hematology: Principles and Procedures*, Lea & Febiger, Malvern, Pennsylvania (1993), pp 107-109
- 17) Harvey, J. W. (2001). Erythrocytes. Pp: 21-33, 36-39. *In* Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. Saunders. Philadelphia, Pennsylvania.
- 18) Instructions for use Automated Blood Coagulation Analyzer CA-600 series, sysmex corporation, 2014. [online] Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/447365271/Instructions-for-use-Sysmex-CA-600-pdf> [Acedido a 9/02/2021]
- 19) Shannon M. Bates and Jeffrey I. Weitz (2005). Coagulation Assays. *Circulation: Journal of the American Heart Association*. Edição 53-60.
- 20) Hoffbrand, V.A, Moss,H.A.P. (2018). Plaquetas, coagulação do sangue e hemostasia. Pp: 264-277. *In* Fundamentos de Hematologia de Hoffbrand. Estúdio Castellani (7º Ed.). Simone de Fraga.
- 21) Operator's Guide ADVIA ® 1800 Chemistry System, Ver.A, 2015-12 [Online], Disponível em: https://www.academia.edu/37119732/Operators_Guide_ADVIA_1800_Chemistry_System_ADVIA_1800_C_h_e_m_i_s_t_r_y_S_y_s_t_e_m [Acedido a 12/02/2021]
- 22) Scott M., Le Grys V., Klutts J. (2008). Electrolytes and Bood Gases. Pp: 431-440 *In* Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. (Eds.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 6th Ed.

- 23) Sacks D. (2008). Carbohydrates. Pp: 373-401. *In* Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. (Eds.). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 6th Ed.
- 24) Rifai N., Warnick G., Remaley A. (2008). Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiovascular Risk Factors. Pp: 402-430. *In* Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. (Eds.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 6th Ed.
- 25) Lamb E., Price C. (2008). Creatinine, Urea, and Uric Acid. Pp: 363-372. *In* Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. (Eds.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 6th Ed.
- 26) Panteghini M., Bais R. (2008) Enzymes. Pp: 317-336. *In* Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. (Eds.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 6th Ed.
- 27) Exames laboratoriais para fígado e da vesícula biliar, MDSmanuals.com, (2017). [Online] Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/distúrbios-hepáticos-e-biliares/exames-para-distúrbios-hepáticos-e-biliares/exames-laboratoriais-para-fígado-e-da-vesícula-biliar> [Acedido a 14/03/2021]
- 28) ALT, Labtestsonline.org, (2017). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/alt> [Acedido a 14/03/2021]
- 29) AST, Labtestsonline.org, (2017). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/ast> [Acedido a 14/03/2021]
- 30) LDH, Labtestsonline.org, (2017). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/ldh> [Acedido a 15/03/2021]
- 31) Creatina quinase, Labtestsonline.org, (2019). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/creatina-quinase> [Acedido a 15/03/2021]
- 32) CK-MB, Labtestsonline.org, (2017). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/ck-mb> [Acedido a 15/03/2021]
- 33) Bray C, Bell LN, Liang H, Haykal R, Kaiksow F, Mazza JJ, Yale SH. Erythrocyte Sedimentation Rate and C-reactive Protein Measurements and Their Relevance in Clinical Medicine. *WMJ*. 2016 Dec;115(6):317-21.

- 34) Exame Gama GT (GGT): para que serve e quando pode estar alto, Tuasaúde.com (2020). [Online] Disponível em: <https://www.tuasaude.com/exame-ggt-gama-glutamyl-transferase/> [Acedido a 20/02/2021]
- 35) Endres D., Rude R. (2008). Disorders of Bone. Pp: 711-721. *In* Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. (Eds.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 6th Ed.
- 36) Hipomagnesemia (níveis baixos de magnésio no sangue). MSDmanuals.com (2020). [Online] Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt-pt/casa/dist%C3%BArbios-hormonais-e-metab%C3%B3licos/equil%C3%ADbrio-eletrol%C3%ADtico/hipomagnesemia-n%C3%ADveis-baixos-de-magn%C3%A9sio-no-sangue> [Acedido a 15/03/2021]
- 37) Hipermagnesemia (níveis altos de magnésio no sangue). MSDmanuals.com, (2020). [Online] Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt-pt/casa/dist%C3%BArbios-hormonais-e-metab%C3%B3licos/equil%C3%ADbrio-eletrol%C3%ADtico/hipermagnesemia-n%C3%ADveis-altos-de-magn%C3%A9sio-no-sangue> [Acedido a 15/03/2021]
- 38) Fósforo, Labtestsonline.org, (2020). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/fosforo> [Acedido a 16/03/2021]
- 39) Exames do ferro, Labtestsonline.org, (2018). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/exames-do-ferro> [Acedido a 16/03/2021]
- 40) Fator Reumatóide, Labtestsonline.org, (2018). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/fator-reumatoide> [Acedido a 16/03/2021]
- 41) Fosfatase Alcalina, Labtestsonline.org, (2018). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/fosfatase-alkalina> [Acedido a 16/03/2021]
- 42) Panteghini M., Bais R. (2008) Enzymes. Pp: 317-336. *In* Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. (Eds.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 6th Ed.
- 43) Proteínas totais, Labtestsonline.org, (2018). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/proteinas-totais-e-relacao-albuminaglobulinas> [Acedido a 16/03/2021]

- 44) <https://www.sebia.com/en-EN/groupeproduits/capillary-electrophoresis>
[Acedido a 17/03/2021]
- 45) Albumina, Labtestsonline.org, (2017). [Online] Disponível em:
<https://labtestsonline.org.br/tests/albumina>
- 46) Lee AY, Cassar PM, Johnston AM, Adelstein S. Clinical use and interpretation of serum protein electrophoresis and adjunct assays. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2017 Feb 2;78(2):C18-C20.
- 47) Eletroforese de proteínas e Imunofixação, Labtestsonline.org, (2020). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/eletroforese-de-proteinas-e-imunofixacao>
- 48) Operator's Guide ADVIA Centaur®XP Immunoassay System, Rev.A, 2007-10 [Online], Disponível em: <https://vdocuments.site/advia-centaur-xp-referencemanual.html?fbclid=IwAR0Ia1-XPvKuR6cL2RlZ7k-evKfWw6V1zFJUHWrvxF0eXQx1OTzsTVR69k4>
- 49) Kricka LJ. Chemiluminescence immunoassay. *The immunoassay handbook*, 1st ed. New York: Stockton Press, 1994; 341–343
- 50) Rastreio e diagnóstico da hepatite B, sns24.gov.pt (2019). [Online] Disponível em: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/vhb/rastreio-e-diagnostico-da-hepatite-b/> [Acedido a 20/03/2021]
- 51) Pondé RAA. Expression and detection of anti-HBs antibodies after hepatitis B virus infection or vaccination in the context of protective immunity. *Arch Virol*. 2019 Nov;164(11):2645-2658.
- 52) Virus da Hepatite C (VHC), sns24.gov.pt (2019). [Online] Disponível em: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/vhc/> [Acedido a 20/03/2021]
- 53) Kirişçi Ö, Caliskan A. Threshold value of the anti-HCV test in the diagnosis of HCV infection. *J Infect Dev Ctries*. 2019 Oct 31;13(10):914-919.
- 54) Anticorpos e tireoide [anti-TPO, TRAB e anti-TGB], MDsaude.com [Online] Disponível em: https://www.mdsaude.com/exames-complementares/anti-tpo-anti-tireoglobulina-trab/#Anticorpo_anti-TPO_anticorpos_anti-tireoperoxidase [Acedido a 20/03/2021]
- 55) Stockigt J. Assessment of thyroid function: towards an integrated laboratory--clinical approach. *Clin Biochem Rev*. 2003;24(4):109-122.

- 56) Doenças da tireoide, Labtestsonline.org, (2017). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/conditions/doencas-da-tireoide> [Acedido em: 19/03/2021].
- 57) Exame Beta HCG [Teste diagnóstico de gravidez], MDsaude.com . [Online] Disponível em: https://www.mdsaude.com/gravidez/exame-beta-hcg/#O_que_e_o_Beta_hCG [Acedido a 21/03/2021]
- 58) Verheijen RH, von Mensdorff-Pouilly S, van Kamp GJ, Kenemans P. CA 125: fundamental and clinical aspects. *Semin Cancer Biol.* 1999 Apr;9(2):117-24.
- 59) Scarà S, Bottoni P, Scatena R. CA 19-9: Biochemical and Clinical Aspects. *Adv Exp Med Biol.* 2015; 867:247-60.
- 60) Exame PSA: o que é, para que serve e como entender o resultado, tuasaude.com, (2020). [Online] Disponível em: <https://www.tuasaude.com/psa/> [Acedido a 20/03/2021]
- 61) Rubella Test, Labtestsonline.org, (2015). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org/tests/rubella-test> [Acedido a 20/03/2021]
- 62) Richard D. Pearson (2019), Toxoplasmose, MSD Manual Professional Edition. [Online] Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/doen%C3%A7as-infecciosas/protozo%C3%A1rios-extraintestinais/toxoplasmose?query=toxoplasma%20anticorpos> [Acedido a 21/03/2021]
- 63) Luine VN. Estradiol and cognitive function: past, present and future. *Horm Behav.* 2014 Sep;66(4):602-18.
- 64) FSH, Labtestsonline.org, (2006). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/fsh> [Acedido a 28/03/2021]
- 65) LH, Labtestsonline.org, (2006). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/lh> [Acedido a 28/03/2021]
- 66) Prolactina, Labtestsonline.org, (2006). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/prolactina> [Acedido a 28/03/2021]
- 67) Deficiência de Vitamina B12 e Folato, Labtestsonline.org, (2017). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/conditions/deficiencia-de-vitamina-b12-e-folato> [Acedido em: 28/03/2021].
- 68) Vitamina D, Labtestsonline.org, (2017). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org.br/tests/vitamina-d> [Acedido em: 28/03/2021]

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 69) Testes de HIV, Labtestsonline.org, (2020). [Online] Disponível em: <https://labtestsonline.org/tests/hiv-tests> [Acedido em: 28/03/2021]
- 70) HIV Ag/Ab Combo (CHIV) Assay, ADVIA Centaur® XP Immunoassay Systems (2016) Disponível em: <https://www.fda.gov/media/92283/download> [Acedido em 28/03/2021]
- 71) Sharon Saw, Huiqin Zhao, Phyllis Tan, Betty Saw, Sunil Sethi, Evaluation of the automated ADVIA centaur® XP syphilis assay for serological testing, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, Volume 88, Issue 1, 2017. Pp: 7-11
- 72) TPHA [Bula], BioRad, 2014
- 73) RPR-Carbono [Bula], ChronoLab, 2017
- 74) Antígenos Bacterianos [Bula], ChronoLab, 2017
- 75) Quantitative determination of antibodies anti-Brucella [Bula], ChronoLab, 2017
- 76) iQ series Operator's manual, Rev.B, 2002-2006 [Online] Disponível em: <https://vdocument.in/user-manual-iris.html> [Acedido a 3/04/2021]
- 77) Operator's Manual iChem Velocity® Ver.E 2012 [Online] Disponível em: <https://www.manualslib.com/manual/1561440/Iris-Ichemvelocity.html#manual> [Acedido a 3/04/2021]
- 78) BD CLED Agar [Bula], Becton Dickinson GmbH, Outubro 2012.
- 79) BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood [Bula], Becton Dickinson GmbH, Abril 2013.

ANEXOS

ANEXO 1 – Valores laboratoriais de referência hematologia

	Intervalos de referência (convencional)	Intervalos de referência (SI)
HEMATOLOGIA:		
Contagem de eritrócitos	Homem: $4,3-5,9 \times 10^9/\text{mm}^3$	$4,3-5,9 \times 10^{12}/\text{L}$
	Mulher: $3,5-5,5 \times 10^9/\text{mm}^3$	$3,5-5,5 \times 10^{12}/\text{L}$
Hemoglobina, sangue	Homem: 13,5-17,5 g/dL	8,38-10,86 mmol/L
	Mulher: 12,0-16,0 g/dL	7,45-9,93 mmol/L
Hematócrito	Homem: 41-53 %	0,41-0,53
	Mulher: 36-46 %	0,36-0,46
Hemoglobina corpuscular média (HCM)	25-35 pg	1,55-2,17 fmol
Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM)	31-36 g/dL	19,25-22,36 mmol/L
Volume globular médio (VGM)	80-100 μm^3	80-100 fl.
Contagem de leucócitos	$4\ 500-11\ 000/\text{mm}^3$	$4,5-11,0 \times 10^9/\text{L}$
Contagem diferencial de leucócitos:		
Neutrófilos, segmentados	54-62 %	0,54-0,62
Neutrófilos, faixas, grupos, bandas	3-5 %	0,03-0,05
Eosinófilos	1-3 %	0,01-0,03
Basófilos	0-0,75 %	0-0,0075
Linfócitos	25-33 %	0,25-0,33
Monócitos	3-7 %	0,03-0,07
Plaquetas	$150\ 000-400\ 000/\text{mm}^3$	$150-400 \times 10^9/\text{L}$
Reticulócitos	0,5-1,5 %	0,005-0,015
Velocidade de sedimentação eritrocitária (Westgreen)	Homem: 0-15 mm/1. ^a hora Mulher: 0-20 mm/1. ^a hora	
Tempo de protrombina	< 12 segundos	< 12 segundos
Tempo de tromboplastina parcial ativada	< 28 segundos	< 28 segundos
Tempo de hemorragia	2-7 minutos	2-7 minutos
Contagem total de linfócitos CD4 +	> $500/\text{mm}^3$	
Volume:		
Plasma	Homem: 25-43 mL/kg	0,025-0,043 L/kg
	Mulher: 28-45 mL/kg	0,028-0,045 L/kg
Eritrócitos	Homem: 20-36 mL/kg	0,020-0,036 L/kg
	Mulher: 19-31 mL/kg	0,019-0,031 L/kg

ANEXO 2 - Valores laboratoriais de referência bioquímica e imunologia

	Intervalos de referência (convencional)	Intervalos de referência (SI)
SANGUE, PLASMA, SORO:		
Alanina-aminotransferase (ALT) sérica	10-40 U/L	0,17-0,68 µKat/L
Amilase sérica	25-125 U/L	0,42-2,1 µKat/L
Aspartato-aminotransferase (AST) sérica	15-40 U/L	0,26-0,68 µKat/L
Ácido úrico sérico	3,0-8,2 mg/dL	178-487 µmol/L
Azoto ureico sérico	7-18 mg/dL	2,5-6,4 mmol/L
Bilirrubina sérica:		
Total	0,1-1,0 mg/dL	2-17 µmol/L
Direta	0,0-0,3 mg/dL	0-5 µmol/L
Cálcio total sérico	8,4-10,2 mg/dL	2,1-2,55 mmol/L
Coolesterol sérico:		
Total	< 200 mg/dL	< 5,2 mmol/L
HDL	30-70 mg/dL	0,8-1,8 mmol/L
LDL	< 160 mg/dL	< 4,2 mmol/L
Cortisol sérico	8 horas: 5-23 µg/dL 16 horas: 3-15 µg/dL 20 horas: ≤ 50 % das 8 horas	138-635 nmol/L 83-414 nmol/L ≤ 50 % das 8 horas
Creatinoquinase sérica	Homem: 25-90 U/L Mulher: 10-70 U/L	0,42-1,5 µKat/L 0,17-1,17 µKat/L
Creatinina sérica	0,6-1,2 mg/dL	53-106 µmol/L
Desidrogenase láctica (LDH), sérica	45-90 U/L	0,75-1,5 µKat/L
Eletrólitos séricos:		
Sódio	135-146 mEq/L	135-146 mmol/L
Potássio	3,5-5,0 mEq/L	3,5-5,0 mmol/L
Cloreto	95-105 mEq/L	95-105 mmol/L
Bicarbonato	22-28 mEq/L	22-28 mmol/L
Magnésio	1,5-2,0 mEq/L	0,75-1,0 mmol/L
Ferro	50-170 µg/dL	9-30 µmol/L
Ferritina sérica	Homem: 15-200 ng/mL Mulher: 12-150 ng/mL	15-200 µg/L 12-150 µg/L
Fosfatase alcalina sérica	Homem: 30-100 U/L Mulher: 45-115 U/L	0,51-1,7 µKat/L 0,76-1,9 µKat/L
Fósforo (inorgânico) sérico	3,0-4,5 mg/dL	1,0-1,5 mmol/L
γ-glutamil transferase (GGT)	8-78 U/L	0,14-1,3 µKat/L
Gases e sangue arterial (ar ambiente):		
PO ₂	75-105 mm Hg	10,0-14,0 kPa
PCO ₂	33-45 mm Hg	4,4-5,9 kPa
pH	7,35-7,45	[H ⁺] 36-44 nmol/L
Lactato	4,5-14,4 mg/dL	0,5-1,6 mmol/L
Glucose sérica	Em jejum: 70-110 mg/dL Duas horas pós-pandrial: < 120 mg/dL	3,8-6,1 mmol/L < 6,7 mmol/L
Hemoglobina A _{1c}	≤ 6 %	≤ 42 mmol/mol (IFCC)
Hormona foliculo-estimulante (FSH), sérica/plasmática		
	Homem: 4-25 mU/mL Mulher: Pré-menopausa 4-30 mU/mL No pico do meio do ciclo: 10-90 mU/mL Pós-menopausa: 40-250 mU/mL	4-25 U/L 4-30 U/L 10-90 U/L 40-250 U/L
Hormona luteinizante, sérica/plasmática		
	Homem: 6-23 mU/mL Mulher: Fase folicular: 5-30 mU/mL Meio do ciclo: 75-150 mU/mL Pós-menopausa: 30-200 mU/mL	6-23 U/L 5-30 U/L 75-150 U/L 30-200 U/L
Imunoglobulinas séricas:		
IgA	76-390 mg/dL	0,76-3,90 g/L
IgE	0-380 U/mL	0-912 µg/L
IgG	650-1 500 mg/dL	6,5-15 g/L
IgM	40-325 mg/dL	0,4-3,25 g/L
Osmolalidade sérica	275-295 mOsmol/kg H ₂ O	275-295 mmol/kg H ₂ O
Proteínas séricas:		
Total	6,0-7,8 g/dL	60-78 g/L
Albumina	3,5-5,5 g/dL	35-55 g/L
Globulinas	2,3-3,5 g/dL	23-35 g/L
Proteína C reativa	< 10 mg/dL	
Hormona estimulante da tireoide (TSH)	0,5-5,0 µU/mL	0,5-5,0 mU/L
Tiroxina (T4)	5-12 µg/dL	64-155 nmol/L
Triiodotironina (T3)	115-190 ng/dL	1,8-2,9 nmol/L
Triglicerídeos	35-160 mg/dL	0,4-1,81 mmol/L
Troponina I	0-2 ng/mL	

ANEXO 3 - Valores laboratoriais de referência urina

URINA:	Intervalos de referência (convencional)	Intervalos de referência (SI)
Cálcio	100-300 mg/24 horas	2,5-7,5 mmol/24 horas
Clearance de creatinina	Homem: 97-137 mL/min Mulher: 88-128 mL/min	
Osmolalidade	50-1 400 mOsmol/kg H ₂ O	
Oxalatos	8-40 µg/ml	90-445 µmol/L
Proteínas	< 150 mg/24 horas	< 0,15 g/24 horas