

Patrício José Bastos Gonçalves

Relatório de Estágio

Mestrado em Análises Clínicas

**Relatório de estágio de mestrado em Análises Clínicas, na área da bioquímica e da imunologia, orientado pela Dra. Maria da Graça Lopes, apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
setembro de 2013**

Patrício José Bastos Gonçalves
Mestrado em Análises Clínicas
Universidade de Coimbra - Faculdade de Farmácia
Laboratório de Análises Clínicas Silva & Monteiro
Orientador: Dra. Maria da Graça Lopes
janeiro a abril de 2012
490 horas
bioquímica e imunologia

"A coisa mais indispensável ao Homem é reconhecer o uso que deve fazer do seu próprio conhecimento."

Platão

"O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período mais difícil da vida de alguém."

Dalai Lama

AGRADECIMENTOS

Ao chegar ao fim deste trabalho não poderia deixar de agradecer a uma série de pessoas.

Em primeiro lugar, à Dra. Maria Amélia, pela oportunidade de ter realizado um estágio no Laboratório de Análises Clínicas Silva & Monteiro, e à Dra. Graça Lopes, também por esta oportunidade, mas, sobretudo, por me ter acompanhado ao longo desta etapa e por ter partilhado o seu conhecimento comigo.

Gostaria ainda de agradecer:

À Prof. Doutora Leonor Almeida, que, enquanto coordenadora de curso, se mostrou sempre disponível para nos ouvir e ajudar ao longo da nossa formação no mestrado de Análises Clínicas;

À Prof. Doutora Gabriela da Silva, pelo tempo disponibilizado em avaliar e coordenar este relatório.

À Dra. Daniela, à Dra. Nazaré, à Dra. Gabriela e, em especial, à Dra. Cristina e ao Dr. Fábio, pelo tempo e paciência que dispensaram em ajudar-me e a explicar-me os vários processos laboratoriais;

Aos restantes elementos do laboratório, pela simpatia e carinho com que me receberam.

Para finalizar, não poderia deixar de agradecer e demonstrar o meu profundo agradecimento e afeto a quem mais me apoiou ao longo da minha formação.

Aos meus pais e irmão, que, longe ou perto, sempre me apoiaram e aconselharam;

À minha namorada, pelo apoio, pela força e pela vontade em ajudar-me sempre que mais precisei.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	III
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VIII
RESUMO	XII
ABSTRACT	XII
1. INTRODUÇÃO	I
2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO.....	3
2.1. Hematologia.....	4
2.2. Microbiologia.....	5
2.3. Bioquímica.....	6
2.4. Imunologia.....	6
2.5. Controlo de Qualidade.....	7
3. INSTRUMENTAÇÃO E TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	9
3.1. Equipamentos Automáticos	9
3.1.1. Horiba ABX Pentra DX I20.....	9
3.1.2. Arkray Adams A1c Ha-8160.....	9
3.1.3. Roche/Hitachi Modular Analytics.....	10
3.1.4. Biomérieux VIDAS 30	11
3.1.5. Pharmacia Diagnostics Unicap 100 E	11
3.1.6. A.Menarini Aution MAX AX-4280	11
3.1.7. Sebia Hydrasys.....	12
3.2. Técnicas Manuais	12
3.2.1. Ensaio Imunocromatográficos.....	12
3.2.2. Ensaio Imunoenzimáticos	12
3.2.3. Técnicas de Aglutinação.....	13
3.2.3.1. Hemaglutinação.....	13

3.2.3.2. Aglutinação com Látex.....	13
3.2.4. Teste Genoquick	14
4. BIOQUÍMICA.....	15
4.1. Doença Cardiovascular	15
4.2. Doença Renal	18
4.3. Doença Hepática	19
4.4. Desordem Pancreática Exócrina.....	21
4.5. Desordens do Osso.....	21
4.6. Regulação Hormonal	23
4.6.1. Disfunção Da Tireoide	23
4.6.2. Disfunções Reprodutivas	24
4.6.2.1. Disfunções Reprodutivas no Homem.....	24
4.6.2.2. Disfunções Reprodutivas na Mulher	26
4.6.2.3. Gravidez.....	28
4.6.3. Córtex Adrenal.....	29
4.6.4. Hipófise.....	29
4.6.5. Diabetes Mellitus	30
4.7. Drogas De Abuso.....	33
4.8. Neoplasias	34
4.8.1. Câncer da Próstata	35
4.8.2. Câncer do Pâncreas.....	36
4.8.3. Câncer Colorretal.....	36
4.8.4. Câncer da Mama.....	37
4.8.5. Carcinoma do Ovário.....	37
4.8.6. Câncer do Testículo	38
4.8.7. Carcinoma Hepatocelular.....	39
5. IMUNOLOGIA	40

5.1. Serologia Infeciosa.....	40
5.1.1. Serologia de Infecções Víricas	41
5.1.1.1. Vírus da hepatite A.....	41
5.1.1.2. Vírus da hepatite B.....	42
5.1.1.3. Vírus da hepatite C	43
5.1.1.4. Vírus da imunodeficiência humana.....	43
5.1.1.5. Vírus do herpes simplex	44
5.1.1.6. Citomegalovírus	44
5.1.1.7. Vírus de Epstein-Barr.....	45
5.1.1.8. Vírus da rubéola.....	46
5.1.2. Serologia de Infecções Parasitárias.....	46
5.1.2.1. <i>Toxoplasma gondii</i>	46
5.1.3. Serologia de Infecções Bacterianas.....	47
5.1.3.1. <i>Streptococcus pyogenes</i>	47
5.1.3.2. <i>Helicobacter pylori</i>	48
5.1.3.3. <i>Chlamydia trachomatis</i>	48
5.1.3.4. <i>Treponema pallidum</i>	48
5.1.3.5. <i>Salmonella enterica</i>	49
5.1.3.6. <i>Brucella</i>	49
5.1.3.7. <i>Rickettsia</i>	50
5.2. Doenças Autoimunes	51
5.2.1. Doenças Autoimunes Sistémicas	51
5.2.1.1. Artrite Reumatoide.....	51
5.2.1.2. Espondilite Anquilosante.....	52
5.2.1.3. Lúpus Eritematoso Sistémico.....	52
5.2.1.4. Síndrome de Sjögren.....	52
5.2.1.5. Esclerose Sistémica	53

5.2.1.6. Polimiosite e Dermatomiosite.....	53
5.2.1.7. Doença Mista do Tecido Conjuntivo.....	53
5.2.1.8. Vasculite.....	54
5.2.1.9. Granulomatose de Wegener	54
5.2.2. Doenças Autoimunes Específicas de Órgãos	55
5.2.2.1. Anemia Hemolítica Autoimune	55
5.2.2.2. Doença Celíaca	55
5.2.2.3. Doença da Tireoide	56
5.3. Alergias	57
6. A MINHA EXPERIÊNCIA.....	58
7. CONCLUSÃO	60
8. BIBLIOGRAFIA	62
ANEXOS.....	73

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACA - Anticorpos anticentrómero
ACP - Fosfatase ácida
ACTH - Hormona adrenocorticotrópica
AEQ - Avaliação externa da qualidade
AFP - α -fetoproteína
AgHBc - Antígeno HBc
AgHBe - Antígeno HBe
AgHBs - Antígeno HBs
AHAI - Anemia hemolítica autoimune
ALP - Fosfatase alcalina
ALT - Alanina aminotransferase
AMY - α -amilase
ANA - Anticorpos antinucleares
ANCA - Anticorpos anticítosplasma dos neutrófilos
AS - Espondilite anquilosante
AST - Aspartato aminotransferase
AVC - Acidente vascular cerebral
CA 19.9 - Antígeno de hidrato de carbono 19.9
CaM - Câncer da mama
CaO - Carcinoma do ovário
CaP - Câncer da próstata
CaT - Câncer testicular
CCR - Câncer colorretal
CEA - Antígeno do carcinoma embrionário
CK - Creatina cinase
CKMB - Creatina cinase isoforma MB
CMV - Citomegalovírus
Col-T - Colesterol total
CP - Câncer do pâncreas
CQI - Controlo de qualidade interno
CRH - Hormona libertadora de corticotropina
CRP - Proteína C reativa

CT - *Chlamydia trachomatis*
DAT - Teste da antiglobulina humana direto
DC - Doença celíaca
DCV - Doença cardiovascular
ddp - Diferença de potencial
DG - Diabetes gestacional
DHEA - Dihidroepiandrosterona
DHEA-S - Sulfato de dihidroepiandrosterona
DHT - Dihidrotestosterona
DM - Diabetes Mellitus
DMTC - Doença mista do tecido conjuntivo
dsDNA - DNA de cadeia dupla
ssDNA - DNA de cadeia simples
EA - Antígeno precoce
EAM - Enfarte agudo do miocárdio
EBNA - Antígeno nuclear do vírus Epstein-Barr
EBV - Vírus de Epstein-Barr
ECLIA - Imunoensaio de eletroquimioluminescência
IFE - Imunoensaio fluoroenzimático
ES - Esclerose sistémica
FR - Fator reumatoide
FSH - Hormona estimuladora dos folículos
GD - Doença de Graves
GGT - γ -glutamil transpeptidase
GH - Hormona de crescimento
GnRH - Hormona libertadora de gonadotropina
HBP - Hiperplasia benigna da próstata
HCC - Carcinoma hepatocelular
hCG - Hormona coriônica gonadotrófica
HDL - *High density lipoprotein*
HPLC - Cromatografia líquida de alta resolução
HSV - Vírus do herpes simplex
Ig - Imunoglobulina
IGF - Fator de crescimento semelhante à insulina
LAC - Laboratório de Análises Clínicas Silva & Monteiro

LDH - Lactato desidrogenase
LDL - *Low density lipoprotein*
LES - Lupus eritematoso sistémico
LH - Hormona luteinizante
LIP - Lipase
MALT - Tecido linfoide associado a mucosa gástrica
MHC - Complexo major de histocompatibilidade
MPO - Mieloperoxidase
PCC - Péptido citrulinado cíclico
PM - Polimiosite
PR3 - Proteinase 3
PRL - Prolactina
PSA - Antígeno específico da próstata
PT - Tempo de protrombina
PTGO - Prova de tolerância à glucose oral
PTH - Hormona paratiroideia
RA - Artrite reumatoide
RNP - Ribonucleoproteínas
SHBG - Globulinas ligadoras de hormonas sexuais
SIDA - Síndrome de imunodeficiência adquirida
SLO - Estreptolisina O
Sm - Antígeno nuclear Smith
snRNP 70 - proteína de 70kDa da pequena ribonucleoproteína nuclear UI
SS - Síndrome de Sjögren
T₃ - Triiodotironina
T₄ - Tetraiodotironina
TBG - Globulina ligadora de tiroxina
TFG - Taxa de filtração glomerular
TG - Triglicédeos
Trg - Tiroglobulina
TH - Tiroidite de Hashimoto
TP - *Treponema pallidum*
TPHA - *Treponema pallidum hemoagglutination*
TPO - Peroxidase da tiroide
TRH - Hormona estimuladora da tirotropina

tRNA - RNA transportador

TSH - Hormona estimuladora da tiroide

tTG - Transglutaminase tecidual

TXG - *Toxoplasma gondii*

UI-snRNP - Pequena ribonucleoproteína nuclear UI

VCA - Antígeno da cápside viral

VDRL - *Venereal disease research laboratory*

VHA - Vírus da hepatite A

VHB - Vírus da hepatite B

VHC - Vírus da hepatite C

VIH - Vírus da imunodeficiência humana

WG - Granulomatose de Wegener

RESUMO

Os testes laboratoriais têm vindo a ganhar cada vez mais importância no apoio ao diagnóstico clínico. Atualmente, os laboratórios servem-se de equipamentos automatizados para processar um maior número de amostras de uma forma mais rápida, com menos custos e menos erros laboratoriais associados.

O mestrado em Análises Clínicas culmina com a realização de um estágio de carácter profissional com o objetivo de proporcionar um primeiro contacto com a organização do trabalho diário e as suas condicionantes num laboratório de análises clínicas.

A elaboração deste relatório resulta da realização do estágio no Laboratório de Análises Clínicas Silva & Monteiro e tem como intuito demonstrar o fluxo de trabalho nas diferentes valências deste laboratório e a aplicação e importância das análises realizadas nas áreas da bioquímica e da imunologia no diagnóstico e monitorização de diversas patologias.

Palavras chave: Análises clínicas; Bioquímica; Imunologia; Patologia; Diagnóstico; Testes laboratoriais

ABSTRACT

Laboratory tests have been gaining increasing importance in supporting the clinical diagnosis. Currently, laboratories are served with automated equipment to handle a larger number of samples more quickly, with fewer costs and laboratory errors associated.

The master in Clinical Analysis culminates with a traineeship of professional nature, which aims to provide a first contact with the organization of daily work and its constraints in a clinical laboratory.

The elaboration of this report is the result of my internship at Laboratório de Análises Clínicas Silva & Monteiro and has the intention to demonstrate the workflow in the different areas of this laboratory and the application and importance of the tests performed in the areas of Biochemistry and Immunology in the diagnosis and monitoring of several pathologies.

Key Words: Clinical Analysis; Biochemistry; Immunology; Pathology; Diagnosis; Laboratory Tests

I. INTRODUÇÃO

As análises clínicas consistem num conjunto de exames e testes, usando produtos biológicos, com o objetivo final de auxiliar o diagnóstico de patologias.

O estudo de fluídos corporais remonta a um período antes de 400 a.C., em que se drenava urina para o chão e se esta atraísse insetos o paciente era diagnosticado com furúnculo. Já em 300 a.C., Hipócrates implementa a doutrina da patologia humoral, segundo a qual todas as doenças surgiam devido a um desequilíbrio nos humores/fluídos corporais (sangue, fleuma, bílis amarela e bílis preta), e defende o uso de um protocolo de diagnóstico que consistia em provar a urina do paciente, auscultar os pulmões e observar a cor da pele e outras aparências exteriores. Desde então, muitos se basearam nos seu trabalhos, inventou-se o microscópio e o termómetro, mas só no século XIX é que a análise de produtos biológicos começa a ganhar força ¹.

Ainda assim, o marco histórico dos laboratórios de análises clínicas ocorre em 1791 quando Antoine François Fourcroy propõe a criação de um laboratório químico nos hospitais. A partir daí, e durante o século XIX, os laboratórios são usados como locais de investigação clínica e de ensino, onde as doenças são apresentadas aos estudantes “*in natura*”². Claude Bernard chega mesmo a considerar o laboratório como o verdadeiro santuário (“*sanctuaire réel*”) da medicina experimental, no seu livro em 1865 ³.

Até finais do século XIX, os laboratórios ocupavam pouco mais de um canto de uma sala ou gabinete médico e eram vistos pelos médicos como sendo uma luxúria extremamente cara que só servia para ocupar tempo e espaço preciosos. A descoberta dos agentes causadores de epidemias como a tuberculose, a difteria e a cólera nos anos de 1880 e o subsequente desenvolvimento de testes para a sua deteção por volta de 1890, levaram a que, na entrada de um novo século, as atitudes mudassem e os laboratórios clínicos passassem a ocupar uma posição de maior importância^{4,5}. Face a estes desenvolvimentos, o médico Bernard Naunym afirma que “a criação de um laboratório para a sua clínica logo se tornou num ponto de honra para o clínico” ⁶. Até então, a maioria dos laboratórios eram destinados à bioquímica, verificando-se a partir daí o aparecimento de laboratórios com outras valências para realização de análises de rotina ^{2,5}.

Com a 1ª Guerra Mundial, surge a necessidade de aumentar o número de assistentes de laboratório qualificados^{4,5}, aparecendo em 1928 o primeiro curso de formação de técnicos de laboratório ⁴.

O século XX trouxe ainda um enorme avanço científico e tecnológico, tornando a prática médica mais dependente dos testes laboratoriais. Estes avanços levaram a uma redução de custos e dos erros laboratoriais e a um aumento da produtividade, através da automatização laboratorial^{5,7}. Isto levou a uma mudança na prestação de cuidados de saúde e a preocupação dos laboratórios de análises clínicas centra-se agora na garantia de qualidade, na diminuição de erros, principalmente nas fases pré e pós-analítica, e na contenção de custos.

O estágio de mestrado em análises clínicas vem, então, proporcionar a perceção da verdadeira importância deste tipo de laboratórios para as ciências médicas nos dias de hoje.

A ideia de que todo o organismo se encontra em equilíbrio permite-nos interpretar os fluídos químicos como uma representação fiel de todo o organismo e, assim, reconhecer algum tipo de desequilíbrio que esteja a ocorrer. Para tal, todos os dias, inúmeras amostras de produtos biológicos, desde sangue, urina e fezes até outros produtos menos comuns como líquido céfalo-raquidiano, pús, etc, chegam a laboratórios espalhados por todo o mundo para que se possa analisar os vários parâmetros que os constituem. Todo este processo tem um único objetivo: perceber como está a trabalhar o organismo de onde provém o produto em análise. Assim, os laboratórios de análises clínicas surgem como uma peça fulcral no despiste, no diagnóstico, no prognóstico e na monitorização de doenças.

É neste sentido que o Laboratório de Análises Clínicas Silva & Monteiro (LAC), local onde realizei o meu estágio, trabalha, processando amostras numa interdisciplinaridade que envolve quatro valências principais: hematologia, microbiologia, bioquímica e imunologia. Durante o estágio, pude assimilar rotinas e técnicas e verificar a qualidade do trabalho implementado neste laboratório, tendo decidido aprofundar neste relatório os testes realizados nas áreas da bioquímica e da imunologia.

A bioquímica, pelo seu contexto histórico associado aos laboratórios e pela importância que tem demonstrado no diagnóstico clínico e na monitorização da saúde de um indivíduo, ao olhar o organismo como um conjunto de processos metabólicos em permanente equilíbrio.

Já a escolha da imunologia assenta no facto de ser uma área emergente, que tem vindo a mostrar-se valiosa não só no diagnóstico mas também no despiste e monitorização do estado de saúde de um organismo, com base na sua maior ou menor suscetibilidade para determinadas doenças, como as do foro autoimune, que têm vindo a ter uma importância crescente no seio da comunidade médica.

2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

Criado em 1978, atualmente sob a diretoria técnica de Dra. Maria Graça Lopes e Dra. Maria Amélia Silva, ambas especialistas em Análises Clínicas pela Ordem dos Farmacêuticos, o Laboratório de Análises Clínicas Silva & Monteiro (LAC) está implementado para a realização de análises clínicas nas seguintes valências: bioquímica, microbiologia, hematologia, imunologia, endocrinologia laboratorial, estudo funcional de metabolismo de órgãos e sistemas, monitorização de fármacos e toxicologia clínica.

O LAC emprega cerca de 32 elementos entre pessoal administrativo, pessoal de limpeza e pessoal técnico, repartidos entre um laboratório central e um total de 30 postos de colheitas distribuídos pelos distritos de Coimbra e Aveiro.

A validação biopatológica dos resultados está a cargo das diretoras técnicas. No laboratório central, a Dra. Maria Graça Lopes apoia ainda a colheita e processamento de amostras. Há ainda a colaboração de oito técnicos superiores e de oito técnicos de análises clínicas na colheita e processamento de amostras e validação de resultados, principalmente os de controlo de qualidade; três administrativos responsáveis pelo secretariado, aprovisionamento, receção de amostras e tratamento informático, e uma pessoa responsável pela limpeza do laboratório.

Este laboratório divide-se em três zonas principais: uma receção associada a uma sala de colheitas, uma zona administrativa e uma zona de tratamento de amostras.

Na receção, faz-se o atendimento dos utentes e os seus pedidos de análise são registados no sistema informático *E-Deia Lab*, sendo que cada utente possui um número de processo e as análises pedidas ficam associadas ao seu processo clínico. Às amostras é atribuído um número diário sequencial gerado pelo sistema informático, associado ao registo de cada utente. O código do registo do utente é ainda composto por letras que correspondem ao local da colheita ou da entrega da amostra (ex: A940 – A: amostra proveniente de Arganil). Para que se possa proceder à análise das amostras, é-lhes ainda atribuído um código de barras contendo esse código diário.

Junto da receção há então uma sala de colheitas. É de referir que, quando o utente não se pode dirigir ao LAC para a recolha da amostra, esta pode ser feita ao domicílio após marcação prévia. Sendo este um laboratório central, para além das colheitas feitas nas próprias instalações, recebe diariamente amostras provenientes dos vários postos de colheita, do Hospital da Misericórdia da Mealhada, de clínicas veterinárias e, por vezes, do Laboratório de Análises Clínicas Professor Parreira, que tem um subcontrato com o LAC.

No caso de haver impossibilidade por parte do LAC de realizar algum teste ou análise, as amostras em questão são encaminhadas para o Laboratório Dr. Joaquim Chaves, com o qual o LAC tem um subcontrato.

Na zona Administrativa, ocorre toda a gestão do LAC, nomeadamente a gestão financeira, de recursos humanos e materiais.

No que diz respeito à zona de tratamento de amostras, esta engloba quatro valências principais: hematologia, microbiologia, bioquímica e imunologia. Porém, os equipamentos encontram-se dispostos de forma a facilitar um melhor e mais rápido tratamento das amostras. Por exemplo, como os testes pedidos com maior frequência para as amostras de urina e fezes são da área da microbiologia, outros tipos de testes que poderão ser efetuados a estas amostras (nomeadamente a pesquisa de sangue oculto nas fezes) também são efetuados nesta área, de modo a agilizar o processo, a evitar perdas e contaminações da amostra e para que se possa comunicar mais rapidamente o resultado ao utente.

A este laboratório, recorrem anualmente cerca de 75 000 utentes, realizando um total de 590 000 testes por ano. As amostras que lhe chegam diariamente, provenientes de vários postos de colheita, são principalmente amostras de fezes, urina, sangue, plasma e soro. Aquando da receção das amostras nos postos de colheita, estas são registadas informaticamente, sendo depois transportadas para o laboratório central em arcas refrigeradas com o melhor acondicionamento possível por forma a evitar hemólise ou deterioração da amostra, extravasamentos e/ou contaminação dos funcionários ou do ambiente. Uma vez no laboratório, são separadas e distribuídas pelas diferentes valências. Algumas amostras requerem um tratamento prévio antes de serem distribuídas, nomeadamente algumas amostras destinadas à bioquímica são primeiro centrifugadas. Após o processo analítico, os resultados são dispostos por via informática para posterior validação e as amostras são armazenadas em locais à temperatura ambiente ou em frigoríficos, conforme as amostras em questão, a temperaturas que permitam a sua conservação, para que, caso seja necessário repetir algum ensaio, estas não tenham sofrido uma grande alteração em relação às condições iniciais.

2.1. Hematologia

Nesta área realizam-se testes usando amostras de sangue total: hemograma, pesquisa de hemoglobina S e C e esfregaços sanguíneos; e de plasma: testes de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada e quantificação de fibrinogénio) e velocidade de sedimentação globular.

A realização destes testes é apoiada pelos seguintes equipamentos:

- Horiba ABX Pentra DX I20, para hemogramas;
- A.Menarini Ves-Matic 60, para cálculo da velocidade de sedimentação globular;
- Roche Coasys Plus C, para análise da coagulação;
- ARKRAY Adams A1c HA-8160, para a pesquisa da hemoglobina S e C e rastreio de talassémia.

Os esfregaços sanguíneos são realizados manualmente e a respetiva coloração é realizada segundo o método de May-Grunwald-Giemsa e coloração de novo azul de metileno, no caso de se pretender fazer contagem de reticulócitos. A coloração de esfregaços é realizada numa sala própria de tratamento de material e a observação é feita no microscópio ótico que se encontra na secção da bioquímica. Sempre que necessário, é usada a estufa regulada para 37°C, que se encontra na área da microbiologia.

2.2. Microbiologia

A esta área podem chegar uma grande variedade de produtos biológicos para estudo microbiológico, sendo os mais comuns: urina, fezes, exsudados genitais e nasofaríngeos e expetoração, podendo, mais raramente, chegar sangue total, líquido céfalo-raquidiano e exsudados de feridas ou outros exsudados purulentos. Esta área requer um maior trabalho manual por parte de técnicos especializados. Assim, no estudo bacteriológico são realizados manualmente as sementeiras nos meios de cultura, isolamento de estirpes, preparação de lâminas para exame direto, coloração de Gram e pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes (incluindo a coloração de Kinyoun-Gabett) e preparação de suspensões para identificação definitiva e antibiograma. No caso do estudo parasitológico, o trabalho manual é requerido para executar parasitológico de fezes, sem e após concentração por técnica de Willis modificada, através de exame direto e exame após coloração com lugol. Finalmente, no estudo micológico, os técnicos especializados fazem a sementeira de fâneros e raspados de pele em meio Micoline e posterior identificação quando o resultado é positivo.

Este trabalho manual está depois apoiado por uma série de equipamentos:

- Biomérieux Vitek 2- para identificação de micro-organismos e estudo de suscetibilidade aos antimicrobianos;
- Estufa regulada para 37°C- para incubação das sementeiras de modo a permitir o crescimento de micro-organismos;
- Câmara de fluxo laminar (e também de lamparinas) - para execução do trabalho em condições de assepsia.

Esta área é ainda apoiada por duas centrífugas, um vortexador e um microscópio, que se encontram na área da bioquímica.

2.3. Bioquímica

Como esta área irá ser descrita com maior profundidade, vou só referir alguns tópicos gerais. Na bioquímica são usadas amostras de sangue total, plasma, soro, urina e fezes numa variada gama de testes. Existem algumas análises e tarefas que têm de ser executadas manualmente, mas a maioria dos testes apoia-se na ajuda de equipamentos como:

- Roche/Hitachi Modular Analytics, composto por quatro módulos: ISE 900, P800 e dois módulos E 170, para determinação de uma grande variedade de parâmetros bioquímicos;
- Biomérieux VIDAS 30, mais dedicado à determinação de parâmetros imunológicos mas capaz de determinar alguns parâmetros bioquímicos;
- A.Menarini Aution MAX AX-4280, para urinálise;
- ARKRAY Adams Alc HA-8160, para análise de hemoglobina glicosilada (HbA_{1c});
- Sebia Hydrasys e Hydraplus apoiado pelo *software* de análise Phoresis, para realização de proteinogramas e lipidogramas.

Para além deste equipamento, é também usado um microscópio para análise de sedimento urinário, um vortexador e duas centrífugas.

2.4. Imunologia

A imunologia será a outra área a ser abordada mais detalhadamente e, por isso, abordarei apenas os equipamentos e amostras usados tal como tenho vindo a fazer até agora.

A imunologia é uma área que se interliga com outras áreas e incluem-se nelas os testes que envolvam deteção e/ou quantificação de parâmetros envolvidos nas respostas imunitárias, tais como a deteção e/ou quantificação de anticorpos assim como antigénios.

As amostras usadas podem ser sangue total ou soro.

Ainda que nesta área também haja uma série de testes que são realizados manualmente, a grande maioria das análises é apoiada pelos seguintes equipamentos:

- Roche/Hitachi Modular Analytics, composto por quatro módulos: ISE 900, P800 e dois módulos E 170, sendo este último tipo de módulo aquele que é usado para determinação de uma grande variedade de parâmetros imunológicos;

- Biomérieux VIDAS 30, dedicado à determinação de parâmetros relativos a infeções por micro-organismos;
- Pharmacia Diagnostics UniCAP 100 E, usado no estudo de alergias e doenças autoimunes;
- Termociclador, usado no teste genético para diagnóstico do gene HLA B-27.

Na zona da hematologia há ainda um microscópio destinado a ajudar a analisar os resultados dos testes manuais.

2.5. Controlo de Qualidade

O principal objetivo do LAC não é dar os resultados o mais rápido possível mas sim satisfazer o seu cliente, fornecendo-lhes serviços que satisfaçam as suas necessidades e isso significa garantir a conformidade das características do seu serviço, ou seja, garantir a qualidade. Se possível, os serviços devem ser fornecidos com celeridade, com o menor custo para o laboratório mas, acima de tudo, sempre com qualidade.

O LAC é um laboratório duplamente certificado, cumprindo os requisitos das normas NP: EN: ISO 9001: 2008 e normas para laboratórios clínicos da Ordem dos Farmacêuticos, Edição nº 2, maio de 2003 (APAC/COOP/AB/OF), válido em conjunto com o certificado nº 2003/CEP2175.

Para garantir qualidade, O LAC adota uma série de medidas para controlar a qualidade nas diferentes fases do exame laboratorial. Na fase pré-analítica adota medidas como boa preparação do utente e colheita da amostra baseados num manual de colheitas, registo das temperaturas e condições de transporte das amostras e a definição de critérios de rejeição de amostras.

No controlo da qualidade da fase analítica é necessário fazer um controlo diário para que não se falhe no contrato feito com os clientes e para assegurar a fiabilidade dos resultados analíticos. Assim sendo, existe um controlo de qualidade interno (CQI), realizado uma vez ao dia antes do tratamento de qualquer amostra e usando os controlos das firmas comerciais. Realizados ou pela diretora técnica ou por um técnico superior, esses controlos são tratados como se fossem amostras de um cliente normal e os resultados da análise são comparados com valores de referência. Para tal, os valores de controlo obtidos são registados e são elaboradas cartas de controlo, aplicando-se depois as regras de Westgard para se verificar se o processo analítico está sob controlo. Em caso de existir uma não conformidade, devem ser aplicadas medidas corretivas, como, por exemplo, calibração do equipamento, e depois repetição da análise. Medidas corretivas devem ser aplicadas até que os valores se apresentem dentro dos valores de referência. Podem existir dois ou três níveis

de controlo e normalmente são feitos em dias intercalados, podendo, no entanto, haver exceções, como, por exemplo, na área da imunologia, que depende muito dos testes e dos aparelhos que realizam a análise.

Para além do controlo interno, é necessária uma avaliação que nos permita a deteção precoce de erros sistemáticos, avaliar a exatidão das medições, obter valores uniformes e comparáveis e assim inferir sobre a credibilidade do laboratório. Essa a avaliação trata-se da avaliação externa da qualidade (AEQ). O LAC participa num programa internacional de controlo de qualidade, o *Randox International Quality Assessment Scheme* da *Randox Laboratories*. A avaliação, também a cargo da diretora técnica ou de um técnico superior, é realizada mensalmente e os controlos a testar são também tratados como uma amostra normal e, portanto, analisados uma vez. Esta é aplicada à hematologia, bioquímica e imunologia. Na área da microbiologia, o LAC participa no Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade, do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, recebendo esfregaços sanguíneos e amostras de fezes para pesquisa de parasitas sanguíneos e fecais, respetivamente, com uma periodicidade de três ensaios por ano. Neste caso, a avaliação fica a cargo da diretora técnica Dra. Graça Lopes, uma vez que é a pessoa responsável pelo exame parasitológico. No entanto, por forma a estimular a aptidão dos restantes funcionários no ramo da parasitologia, a Dra. Graça Lopes permite que estes tenham acesso às lâminas e façam os seus próprios diagnósticos, partilhando no final o resultado com eles.

No final da implementação destas avaliações, as entidades externas fazem a análise retrospectiva dos resultados laboratoriais, permitindo corrigir aspetos educacionais, implementar medidas corretivas e preventivas, visando a melhoria dos níveis de desempenho, e mostrando o posicionamento entre os laboratórios que participam no programa.

Na fase pós-analítica, o LAC determina o armazenamento das amostras em locais apropriados e a temperaturas apropriadas, a eliminação segura das amostras e a revisão dos resultados pelas diretoras técnicas.

3. INSTRUMENTAÇÃO E TÉCNICAS ANALÍTICAS

Na realização das análises às diversas amostras que chegam ao laboratório, há uma ajuda que é indispensável e sem a qual não se seria capaz de implementar uma carga de trabalho tão intensa. Essa ajuda consiste nos vários equipamentos que compõem o LAC. Apesar de ainda se recorrer a algumas técnicas manuais para realização de certos ensaios, a grande maioria dos parâmetros é determinada com recurso a esses equipamentos.

Entre a bioquímica e a imunologia há uma grande partilha dos aparelhos para determinação dos seus respetivos parâmetros. A isto se deve a franca evolução que tem ocorrido no campo dos imunoensaios. O seu elevado uso deve-se à elevada sensibilidade, alta especificidade e à simplicidade de execução. Estes ensaios permitem ainda a deteção de uma enorme variedade de componentes ⁸.

Neste capítulo serão, então, abordados os aparelhos e técnicas manuais usados e os respetivos métodos utilizados. Em anexo seguem também tabelas com os diferentes métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros referidos neste relatório nas áreas da bioquímica e da imunologia (anexo I e 2, respetivamente).

3.1. Equipamentos Automáticos

3.1.1. Horiba ABX Pentra DX I20

Apesar de ser mais dedicado à hematologia, este equipamento torna-se útil à imunologia na determinação do leucograma. Para tal, recorre à citometria de fluxo, cujo fundamento é fazer passar células ou outras partículas em suspensão, alinhadas uma a uma, em frente de um feixe luminoso. A interação da luz com as partículas resulta na sua dispersão e na emissão de fluorescência, que é filtrada, processada e digitalizada para ser analisada num computador. Desta medição das propriedades físico-químicas resulta, então, a separação celular com base em características como o tamanho da célula, a membrana celular (contorno liso ou rugoso), o núcleo e o material granular presente no interior da célula que levam a uma diferente dispersão da luz ⁹.

3.1.2. ARKRAY Adams A1c HA-8160

Com o intuito principal de quantificar a hemoglobina glicosilada, o equipamento recorre à Cromatografia Líquida de Alta Resolução (HPLC) por troca iónica. Esta técnica consiste na separação física de dois componentes que se encontram distribuídos entre uma fase estacionária e uma fase móvel, que tem uma direção bem definida.

Neste caso, a fase móvel é líquida e transporta a amostra carregada positivamente através da fase estacionária, composta por partículas de pequeno diâmetro com carga negativa. A separação é feita com base na interação, por troca iónica, entre a amostra e as partículas da fase estacionária. Depois, com alteração da sua carga por alteração do pH da fase móvel, o soluto irá diminuir a sua carga positiva, por desprotonação, e será eluído especificamente para ser seguidamente quantificado ¹⁰.

3.1.3. Roche/Hitachi Modular Analytics

No LAC, o equipamento é composto por quatro módulos: um módulo ISE 900, um módulo P800 e dois módulos E 170.

O módulo ISE 900 procede à quantificação de iões específicos. Para tal, efetua uma medida potenciométrica com recurso a eletrodos seletivos ao ião. Este método baseia-se na medição da diferença de potencial (ddp) numa célula eletroquímica, constituída por um eletrodo de referência (eletrodo de potencial conhecido) e um eletrodo indicador (eletrodo de potencial a medir), na ausência apreciável de corrente e recorrendo a um potenciómetro adequado. O eletrodo de referência encontra-se mergulhado numa solução de referência, com concentração conhecida do ião em estudo, e o eletrodo indicador encontra-se mergulhado na amostra, ocorrendo um contacto eléctrico mediado entre os dois por uma ponte salina. No final, relacionando a atividade da espécie química com a sua concentração e aplicando a equação de Nernst, na qual é possível relacionar a ddp com o logaritmo da concentração, consegue-se calcular a concentração do ião em estudo ¹¹.

O módulo P 800 faz a determinação de uma variedade de parâmetros com base na técnica de espectrofotometria. Esta técnica consiste na medição da quantidade de radiação emitida ou absorvida por espécies moleculares ou atómicas de interesse. Quando na espécie em estudo incide uma radiação de comprimento de onda entre o ultravioleta e o visível, com uma certa intensidade, esta absorve energia e passa a um estado excitado. Quando regressa ao estado fundamental, emite energia sob a forma de radiação num mesmo comprimento de onda com uma dada intensidade que é medida pelo espectrofotómetro. A intensidade da radiação emitida será então menor que a da radiação incidente e será tanto menor quanto maior a concentração do analito. Aplicando a Lei de Lambert-Beer, é então possível relacionar a concentração com a absorvância (capacidade do analito absorver energia). Esta lei diz-nos ainda que, quanto maior for a distância percorrida pela radiação através da solução em estudo, maior será a absorção de energia. É de referir que esta técnica requer ainda o uso de uma solução padrão do analito para o cálculo do coeficiente de extinção molar usado na equação de Lambert-Beer. Aos métodos

espectrofotométricos estão associadas reações colorimétricas, enzimáticas e turbidimétricas que irão facilitar a ocorrência destes fenómenos espectroquímicos e, assim, permitir a melhor quantificação do analito ¹².

O módulo E 170 apoia-se em imunoensaios de eletroquimioluminescência (ECLIA) para quantificação de uma diversidade de parâmetros. No início da técnica, há incubação do antigénio a ser detetado com dois anticorpos, que se ligam a este formando um complexo em *sandwich*. Esses anticorpos têm associados dois compostos diferentes, um que permitirá a ligação à superfície de leitura, e outro que sofrerá reações de oxidação redução. Através da ocorrência dessas reações de oxidação redução, o intermediário é submetido a uma reação exergónica para produzir um estado eletronicamente excitado que depois emite luz. Estas reações de transferência de eletrões são suficientemente exergónicas para permitir que estados excitados de luminóforos sejam criados sem fotoexcitação. A luz emitida é detetada por um fotomultiplicador e a sua intensidade será associada a uma dada concentração do antigénio ¹³.

3.1.4. Biomérieux VIDAS 30

Para a determinação de um grande número de parâmetros, este aparelho recorre a imunoensaios enzimáticos com deteção por fluorescência (ou imunoensaio fluoroenzimático (IFE)). Há a captura do antigénio em estudo por anticorpos específicos e a ligação posterior a este complexo de um outro anticorpo, ao qual está acoplado uma enzima. É adicionado o substrato da enzima, havendo formação de um produto fluorescente. A fluorescência é, então, detetada a um determinado comprimento de onda e associada a uma determinada concentração do antigénio ¹⁴.

3.1.5. Pharmacia Diagnostics UniCAP 100 E

Dedicado ao estudo de autoimunidade e alergias, este dispositivo recorre também a IFE, sendo o seu processo semelhante ao do VIDAS 30.

3.1.6. A.Menarini Aution MAX AX-4280

Este dispositivo, dedicado à urinálise, usa uma série de técnicas fotométricas, semelhantes à espectrofotometria. Na leitura de tiras de teste e da cor da urina, mede a refletância, ou seja, mede, a determinados comprimentos de onda, a intensidade da luz que é refletida após a incidência de uma luz na amostra e que depois é comparada à intensidade da luz que é refletida numa superfície de referência ¹⁵. Na leitura da densidade, aplica uma técnica

de refratometria que consiste na medição do ângulo do desvio que uma luz sofre ao incidir na amostra (ângulo de refração) para cálculo do respetivo índice de refração ¹⁶. Por último, na medição da turvação, usa uma técnica nefelométrica, em que uma luz, ao incidir sobre a amostra, irá sofrer dispersão. Depois, haverá um detetor que não se encontra na mesma direção da luz transmitida, encontrando-se normalmente num ângulo reto em relação à luz incidente, que detetará a luz dispersa ¹⁵.

3.1.7. Sebia Hydrasys

Este é um equipamento usado na determinação do perfil proteico. Utiliza a eletroforese de proteínas, que é uma técnica de separação de proteínas utilizando um campo elétrico para fazer migrar, através de um gel, as partículas carregadas eletricamente (cargas obtidas através da sua ionização) que se encontram suspensas num meio líquido. No final, é aplicado um corante para visualização das bandas correspondentes às proteínas e é traçado o perfil proteico ^{17,18}.

3.2. Técnicas Manuais

3.2.1. Ensaios imunocromatográficos

Um tipo de teste qualitativo de execução fácil e rápida, baseado na reação antigénio-anticorpo, que depende do transporte de um reagente até ao seu parceiro imobilizado na superfície de uma membrana. A transferência é induzida pela ação capilar de um meio aquoso através dos poros da membrana e, por conseguinte, separando também o reagente não ligado do complexo formado na interface líquido-sólido ¹⁹.

Este princípio é aplicado na pesquisa de sangue oculto nas fezes e no teste rápido de gravidez para pesquisa de hCG (hormona coriónica gonadotrófica) na urina.

3.2.2. Ensaios imunoenzimáticos

Este tipo de ensaios são semiquantitativos e têm por base uma reação antigénio-anticorpo. É um ensaio em que as propriedades de reconhecimento molecular dos anticorpos são usadas. Para uma alta sensibilidade, estes imunoenaios usam um anticorpo associado a uma enzima. O anticorpo ligado à enzima liga-se ao local complementar no antigénio. A quantidade que é ligada depende da concentração do antigénio no sistema e, se um varia, vai haver alteração da quantidade de anticorpo marcado com enzima ligado ao

antigénio. Para determinar a quantidade de antigénio presente no meio, é adicionado um substrato para que ocorra uma reação enzimática (normalmente com produção de cor) ²⁰.

Os testes realizados segundo este método são os testes rápidos de determinação de anticorpos IgA e de IgG contra *Chlamydia trachomatis* (CT) e dos anticorpos IgM e IgG contra Vírus do herpes simplex (HSV) I e 2.

3.2.3. Técnicas de aglutinação

3.2.3.1. Hemaglutinação

Consiste na deteção de anticorpos aglutinantes numa amostra de soro.

Existem anticorpos completos (ou naturais) que são imunoglobulinas (Ig) da classe IgM. Eles ligam-se aos determinantes antigénicos dos eritrócitos como pentâmeros e induzem a aglutinação dos antigénios. São ditos anticorpos naturais porque induzem aglutinação pela sua estrutura pentamérica ²¹. Este método é aplicado no teste para determinação dos grupos sanguíneos.

Existem depois anticorpos incompletos, da classe IgG, que se ligam aos determinantes antigénicos dos eritrócitos mas não induzem aglutinação. A hemaglutinação ocorre quando a distância entre os eritrócitos é reduzida e, neste caso, só acontece quando é adicionado um suplemento (albumina) ou solução de baixa carga iónica, permitindo aos anticorpos IgG preencherem os espaços entre as células ²¹.

Esta técnica é usada na prova da antiglobulina humana, na pesquisa de anticorpos contra *Treponema pallidum* no soro humano por hemaglutinação indireta (reação TPHA – *Treponema pallidum hemoagglutination*) e na pesquisa do fator reumatoide (FR) pela técnica de Waaler Rose.

3.2.3.2. Aglutinação com látex

Neste método, uma partícula de látex sensibilizada com um dado antigénio é posta a reagir com o anticorpo desconhecido, havendo aglutinação das partículas no caso do anticorpo estar presente no soro do individuo em estudo ²¹.

Este modelo de teste é usado na semiquantificação do FR, e na pesquisa de anticorpo heterófilo associado à mononucleose infecciosa (reação de Paul Bunnell). Está ainda na base do despiste do tifo por pesquisa de antigénios de *Salmonella* (reação de Widal), no despiste de infeção por *Brucella* (reação de Wright e teste de rosa bengala), despiste de infeção por *Rickettsia* (reação de Weil-Felix) e no teste VDRL (*venereal disease research laboratory*) usado para deteção de anticorpos contra cardiolipina.

3.2.4. Teste GenoQuick

Este teste é usado na deteção do alelo HLA-B27 e é baseado na técnica de amplificação PCR (Polymerase Chain Reaction) e numa técnica imunocromatográfica para averiguar a presença do gene na amostra.

Para realizar a técnica de PCR procede-se à extração de DNA a partir de uma amostra de sangue colhida em EDTA através do GENO•CARD. A técnica de PCR é um método de amplificação de DNA *in vitro* por via enzimática, a uma taxa exponencial, que envolve a repetição de processos cíclicos compostos pelas seguintes etapas:

1. Desnaturação de DNA de cadeia dupla (dsDNA) extraída a partir do material em estudo, havendo produção de duas moléculas de DNA de cadeia simples (ssDNA);
2. A segunda etapa do ciclo consiste no emparelhamento por complementaridade de um *primer* sintético ao ssDNA que serve de modelo para a ligação.
3. A última fase corresponde a uma reação de extensão a através de uma enzima DNA-polimerase termoestável capaz de sintetizar uma cópia complementar ao ssDNA inicial por extensão da ponta 3' (e não 5') do *primer* emparelhado.

Este ciclo é então repetido várias vezes de modo a obter um grande número de cópias do dsDNA inicial²². No final deste teste, o dsDNA é desnaturado, formando ssDNA. Esta técnica é realizada com recurso a um termociclador para o desenvolvimento das várias etapas de cada ciclo. No final da reação, a amostra amplificada é transferida para um tubo próprio com tampão de corrida no qual se insere uma tira de deteção. Os “primers” usados têm um local de ligação a partículas de ouro que se encontram numa matriz da tira. A deteção é então feita através de ensaio imunocromatográfico.

4. BIOQUÍMICA

O interesse da bioquímica, na área clínica, é assegurar informação oportuna, relevante, exata e precisa sobre o estado clínico do corpo humano²³. Há uma preocupação em perceber as estruturas e processos químicos envolvidos na saúde e na doença e as transformações subjacentes a esses dois estados²⁴.

Com recurso a metodologias e interpretação de uma variedade de testes, usando fluídos biológicos, procura suportar o diagnóstico, o tratamento e a monitorização e/ou prevenção de doenças. Neste sentido, esta é uma área que vai buscar elementos a outras áreas como a imunologia e a hematologia, proporcionando uma forte interdisciplinaridade no acompanhamento de uma série de patologias.

A interpretação não deverá decorrer da observação de apenas um único parâmetro, mas sim de um conjunto de parâmetros e com uma suspeita clínica. O organismo está em equilíbrio constante e a alteração de um parâmetro poderá representar um estado patológico ou simplesmente um estado de adaptação a um desequilíbrio momentâneo resultante de um dado processo metabólico e poderá advir de uma grande diversidade de situações. Ainda assim, sempre que se verifica a alteração de algum parâmetro, mais exames deverão ser feitos para despiste de uma eventual patologia subjacente mas sempre com a noção de que algo não tem que estar necessariamente mal.

Neste sentido, abordarei os parâmetros que o LAC determina associado às diferentes desordens dos diferentes órgãos que compõem o organismo, mostrando como os diferentes parâmetros variam em função da patologia associada. No anexo I apresento um quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em bioquímica.

4.1. Doença Cardiovascular

Segundo o Ministério da Saúde, as doenças cardiovasculares (DCV) representam a principal causa de morte em Portugal sendo responsáveis por 40% dos óbitos. Sendo também uma importante causa de incapacidade, o risco de desenvolver uma doença desta ordem aumenta consideravelmente com hábitos de vida como o sedentarismo, o tabagismo, a obesidade, o *stress* excessivo e hipertensão, somados à história familiar e à idade²⁵.

Neste grupo de doenças inserem-se doenças do coração (enfarte do miocárdio e angina de peito), doença vascular cerebral, insuficiência cardíaca congestiva, hipertensão, doença arterial coronária e outras doenças vasculares²⁶.

Face à grande incidência das DCV, a prática clínica concentra-se na prevenção primária e recomenda que sejam avaliados fatores de risco ²⁷. Para além de fatores genéticos que ganham cada vez maior importância ²⁸, existe uma série de biomarcadores cuja determinação é recomendável para ajudar no diagnóstico precoce deste tipo de doenças ²⁹.

A insuficiência cardíaca congestiva e a doença isquémica aguda, cujo principal exemplo é o enfarte agudo do miocárdio (EAM), são as DCV mais comuns e, por isso, estão mais dependentes da ajuda do diagnóstico bioquímico ³⁰.

A isquémia do miocárdio resulta numa diminuição do fluxo da artéria coronária até uma extensão tal que o suprimento de oxigénio ao miocárdio não corresponde às suas necessidades. Se a isquémia for prolongada e irreversível, ocorre a morte dos miócitos, ou seja, ocorre EAM. O seu diagnóstico é baseado nos sintomas clínicos, em mudanças no eletrocardiograma e na mudança do padrão característico de algumas enzimas no soro ³¹. Como marcadores bioquímicos da lesão do miocárdio o LAC faz a determinação sérica de:

- Lactato Desidrogenase (LDH) – começa a aumentar 6-12 horas após o EAM, atinge valores máximos às 48 horas e mantém-se elevada durante 4-14 dias. Apesar de ser um bom marcador por permanecer elevada durante um tempo prolongado, a LDH não é específica, já que também aumenta com outras doenças que envolvam destruição celular ³¹;

- Creatina Cinase (CK) e a sua isoenzima MB (CKMB) - A atividade da CK sérica aumenta após EAM em 6 horas e atinge o pico em média às 24 horas, voltando ao normal passados 2-3 dias. A sua quantificação pode ainda dar-nos a ideia da extensão do enfarte. Ainda assim, acaba por não ser um bom marcador visto que também pode ser encontrada no músculo esquelético e os seus níveis podem estar aumentados noutras doenças. Esta enzima apresenta ainda três isoenzimas nomeadas de acordo com o principal tecido de ocorrência: B (cérebro) e M (músculo esquelético). A CKMB encontra-se maioritariamente no miocárdio e dá-nos informação útil sobre a extensão e tempo de lesão miocárdica. Aumenta 3-5 horas após a ocorrência de EAM e atinge níveis máximos às 16-20 horas. Tem sido usada mais na confirmação de ocorrência de EAM às 24 horas, no diagnóstico de enfarte de repetição e tem valor de prognóstico em indivíduos com angina instável. Mostra-se também um bom marcador na deteção de recanalização da artéria coronária após terapia trombolítica e na deteção de necrose do miocárdio após intervenção percutânea na artéria coronária ³¹.

Aterosclerose é uma doença progressiva caracterizada pela acumulação de lípidos e elementos fibrosos nas artérias de grande calibre. Há então formação de lesões fibrosas que se tornam cada vez mais complexas, expandindo. A principal complicação clínica é a oclusão aguda por formação de um trombo ou um coágulo de sangue, associada à rutura ou erosão

da lesão. Esta oclusão leva a isquémia e é então a principal causa de EAM e acidente vascular cerebral (AVC) ³². Neste sentido, o LAC procede à determinação sérica dos seguintes marcadores bioquímicos plasmáticos de risco cardiovascular:

- **Colesterol Total (Col-T)** - O colesterol é uma substância crucial que desempenha uma série de funções vitais no corpo. É necessário para a síntese de ácidos biliares, necessários para a absorção de gorduras, e de muitas hormonas. É um componente essencial das membranas celulares, fornecendo-lhe um suporte estrutural, servindo até como um antioxidante protetor, e é essencial na condução de impulsos nervosos ³³. A medição do Col-T permite-nos saber a quantidade de colesterol em circulação e se os seus níveis estiverem acima de determinados valores então há um risco subjacente de aterosclerose;

- **Colesterol-LDL (*Low Density Lipoprotein*)** - A principal função das LDL é transportar o colesterol do fígado para os tecidos e incorporá-lo nas membranas celulares ³³. Acontece que durante o seu transporte pelos vasos sanguíneos e, dependendo de certos fenómenos fisiológicos, estas partículas de baixa densidade e de tamanho mais reduzido podem infiltrar-se no espaço subendotelial e sofrer oxidação, havendo formação de uma série de espécies altamente oxidantes que desencadeiam um processo de lesão celular, resultando no desenvolvimento do processo de aterosclerose ³⁴. É por este motivo que o colesterol-LDL é visto como um indicador de mau prognóstico de risco aterosclerótico quando os níveis se encontram acima dos valores de referência;

- **Colesterol-HDL (*High Density Lipoprotein*)** - As HDL fazem transporte reverso do colesterol, ou seja, recolhem o colesterol que foi descartado pelas células e transportam-no de volta para o fígado para que este possa ser reciclado ou então excretado ³³. Para além disso, outras atividades biológicas benéficas foram descritas, como, por exemplo, atividade antioxidante e anti-inflamatória ³⁵. Desta forma, valores abaixo dos de referência são um mau prognóstico de DCV;

- **Triglicerídeos (TG)** - A determinação dos TG permite-nos ter uma ideia da quantidade de lípidos em circulação e associado aos outros parâmetros aqui discutidos, permite averiguar o risco de DCV. A medição deste parâmetro é também importante para o cálculo da concentração de colesterol-LDL através da fórmula de Friedwald;

- **Proteína C Reativa (CRP)** - A CRP tem vindo a ser sugerida como sendo um melhor marcador do risco de DCV do que o colesterol-LDL ³³. A inflamação crónica tem um papel preponderante no desenvolvimento do processo de aterosclerose ^{32,36}. A CRP é uma proteína de fase aguda que aumenta em processos inflamatórios. Não sendo específica, esta proteína reflete um risco de saúde e as evidências têm mostrado que esta permite prever eventos cardiovasculares futuros, dado o seu envolvimento com uma série de

parâmetros^{37,38}. Os seus níveis aumentam 6 horas após um estímulo, atingindo valores máximos às 48 horas e voltando à normalidade passados 2-3 dias³⁸.

4.2. Doença Renal

O rim é o principal regulador de todos os fluídos corporais e é o responsável por manter a homeostasia. Apresenta essencialmente seis funções: formação de urina (para remoção de produtos residuais tóxicos), regulação do equilíbrio hídrico e eletrolítico, regulação do equilíbrio ácido-base, excreção de produtos residuais do metabolismo das proteínas, função hormonal e conservação de proteínas³⁹. Várias patologias estão associadas a desordens da função renal⁴⁰ mas a insuficiência renal crónica é aquela que tem surgido em maior foco devido à sua associação a um maior risco de ocorrência de DCV⁴¹. No sentido de avaliar a função renal, o LAC procede a um conjunto análises em amostras de soro e urina.

A determinação de compostos azotados não proteicos no plasma (creatinina, ureia e azoto ureico e ácido úrico) permite ter uma ideia global da função renal. A creatinina é um produto quase exclusivamente resultante do metabolismo da creatina e da fosfocreatina no músculo esquelético e os seus valores séricos variam pouco em indivíduos com função renal estável pois é livremente filtrada pelo glomérulo e não é reabsorvida. No entanto, pode também ser excretada ativamente a nível tubular⁴¹. A ureia é um produto resultante do catabolismo de proteínas e aminoácidos que já foi usado como principal indicador da função renal. No entanto, dado o facto da sua concentração circulante ser influenciada por uma série de fatores extrarrenais, tem sido usada como um marcador que ajuda no diagnóstico diferencial de doença renal. O ácido úrico, proveniente do metabolismo das purinas, é totalmente filtrado a nível glomerular. No túbulo proximal, é inicialmente fortemente reabsorvido e, no final, é secretado para depois ser novamente reabsorvido no túbulo distal. Apenas 6 a 12% da quantidade filtrada é excretada pela urina. Está também envolvido na formação de cálculos renais, para além de outras patologias como a gota⁴².

A taxa de filtração glomerular (TFG) é um parâmetro de avaliação da filtração glomerular. Para a sua determinação, faz-se o teste da *clearance* da creatinina, que consiste em colher urina num dado intervalo de tempo (normalmente de 24 horas), colher uma amostra de sangue venoso, calcular as concentrações de creatinina no soro e na urina e finalmente calcular a TFG através da fórmula $TFG(mL/min)=(U/P).V$, em que U é a concentração de creatinina urinária em mg/dL, P é a concentração de creatinina no soro em mg/dL e V o volume de urina em mL/min⁴³.

A quantificação das proteínas urinárias e da microalbuminúria em urina de 24 horas são parâmetros do estudo da permeabilidade glomerular. O glomérulo é permeável apenas a proteínas de baixo peso molecular, que sofrem reabsorção tubular. Havendo um aumento da permeabilidade glomerular, a quantidade de proteína na urina irá aumentar significativamente. Um aumento não tão significativo pode estar associado a uma falha na reabsorção tubular. Aumentos fisiológicos podem ainda acontecer na manutenção de uma postura vertical, exercício intenso e na gravidez. Na microalbuminúria há perda de pequenas quantidades de albumina para urina e é o primeiro sinal de doença glomerular renal. Este teste tem sido usado para despiste em indivíduos com predisposição para doença renal, por exemplo, na diabetes e hipertensão ³⁹.

No sentido de uma avaliação global da função renal, podem ainda ser quantificados eletrólitos no soro e na urina (Na^+ , K^+ e Cl^-). A sua quantificação permite perceber de que forma estão a ocorrer os processos de reabsorção e secreção tubular e concentração da urina ³⁹.

Usando uma amostra da primeira urina da manhã, a urinálise abrange uma série de exames que fornecem pistas sobre a função renal. Esta compreende um exame físico que consiste na análise da cor, turvação, densidade e odor. É também efetuado um exame químico com recurso a tiras de reagente que nos dá informações sobre o pH e a presença de proteínas, glucose (pode indicar a presença de leveduras), corpos cetónicos (com a glucose é mais útil no diagnóstico de diabetes mellitus (DM)), sangue (representativo de eritrócitos ou hemoglobina), bilirrubina, urobilinogénio (estes dois parâmetros mais importantes nas doenças hepáticas e hemólise), nitritos e leucócitos (dois testes indicativos de infeção do trato urinário) na urina. A urinálise consiste ainda num exame microscópico feito ao sedimento urinário com o intuito de corroborar os resultados de outros exames, nomeadamente sobre a presença na urina de eritrócitos, leucócitos, bactérias e leveduras e do pH, cor e turvação da urina. Achados como células epiteliais, cilindros e cristais podem ainda fornecer pistas subjacentes à patologia renal presente ⁴³.

4.3. Doença Hepática

O fígado é um órgão crucial responsável por vários papéis bioquímicos como metabolismo, síntese, armazenamento e destoxificação de compostos ⁴⁴. Várias desordens estão associados às suas três funções principais: excretora, sintética e metabólica ⁴⁵. No diagnóstico dessas disfunções, existe uma série de testes que, em conjunto, nos permite fazer um diagnóstico diferencial ^{46,47}. Os testes da função hepática podem ser divididos três tipos ⁴⁸:

1. Testes da capacidade de transporte de aniões orgânicos e metabolização de xenobióticos: Neste grupo, o LAC faz a quantificação sérica de bilirrubina total, bilirrubina conjugada (ou direta) e cálculo da bilirrubina não conjugada (ou indireta), através da subtração da conjugada à total. Faz ainda a pesquisa semiquantitativa através de tiras de reagentes da bilirrubina e urobilinogénio urinários. A bilirrubina, que resulta do catabolismo do grupo heme, é transportada pela albumina até ao fígado, onde vai ser captada, conjugada com ácido glucorónico e excretada na bÍlis e na urina. Ao chegar ao intestino, é hidrolisada e reduzida por bactÉrias a urobilinogénio, que pode voltar a entrar na circulação enterohepática ⁴⁹. Enquanto que o aparecimento de bilirrubina não conjugada aumentada nos remete para um processo hemolítico ou uma falha na sua captação hepática, o aumento da bilirrubina conjugada e presença de bilirrubina e urobilinogénio na urina é mais indicativo dum processo intrahepático por doença hepatocelular ou colestase. No caso do urobilinogénio não aparecer na urina, pode-se suspeitar de uma obstrução extrahepática ⁴⁸.

2. Testes que detetam lesão dos hepatócitos (testes de enzimas séricas): Em amostras de soro, o LAC quantifica a alanina aminotransferase (ALT), localizada principalmente no fígado e a aspartato aminotransferase (AST), localizada em vários tecidos, que, conforme as suas elevações sejam mais severas ou mais moderadas, nos ajudam no diagnóstico diferencial de necrose hepatocelular ⁴⁸. Também se faz a quantificação sérica da fosfatase alcalina (ALP), da γ -glutamil transpeptidase (GGT) e da lactato desidrogenase (LDH). A ALP está presente em vários tecidos, mas está mais associada a patologias ósseas e hepáticas. No caso das patologias hepáticas, é mais indicativa de colestase. Este diagnóstico é apoiado quando se observa valores aumentados de GGT, que é uma glicoproteína que se encontra ligada à membrana celular de células renais, pancreáticas, hepáticas, intestinais e prostáticas. Quando associada a valores altos de transaminases, a GGT pode ser indicativa de lesão hepatocelular, nomeadamente hepatite viral e hepatite alcoólica aguda. A LDH, como já referi anteriormente, é apenas específica da existência de destruição celular e, portanto, apenas ajuda a confirmar a existência de destruição de hepatócitos, quando associado a outros valores que assim o indiquem ⁴⁸.

3. Testes da capacidade biossintética: O fígado é o principal órgão sintetizador de proteínas séricas e apresenta uma grande capacidade funcional ⁴⁵. O LAC faz a determinação de vários parâmetros para avaliar a capacidade biossintética. Por um lado, quantifica a proteína total no soro, cuja quantidade só se altera em casos de insuficiência hepática graves ou doença crónica. Por outro, quantifica também a albumina, principal proteína sérica, que tende a baixar em casos de doença crónica. Faz-se também a quantificação sérica da α_1 -antitripsina, uma glicoproteína inibidora das serinas proteases,

principalmente da elastase, que aumenta em processos inflamatórios e está associada a cirrose, devido a uma deficiência hereditária; e da α -fetoproteína (AFP), a principal proteína no plasma fetal durante o início da gestação, que é um marcador de carcinoma hepatocelular. O tempo de protrombina (PT), um parâmetro hematológico que reflete a tendência de coagulação sanguínea, é outro parâmetro que nos mostra doença hepática grave ou crônica, estando este prolongado nesses casos, devido à menor síntese de fatores de coagulação⁴⁸. A ureia também é outro parâmetro quantificado, que nos indica a presença de uma doença hepática em fase terminal quando os seus níveis séricos estão muito baixos⁴⁵. Na ajuda da interpretação clínica para diagnóstico de doenças hepáticas, é ainda feita uma eletroforese de proteínas séricas que nos permite fazer uma triagem de anormalidades proteicas¹⁷.

4.4. Desordem Pancreática Exócrina

O pâncreas, para além da produção de hormonas endócrinas como o glucagon e a insulina, produz também o suco pancreático que será libertado no duodeno. Este suco apresenta na sua composição enzimas digestivas, necessárias à absorção de vários nutrientes, e bicarbonato, para apropriar o pH intestinal à ação dessas enzimas⁵⁰. Considerado um dos órgãos mais sensíveis, ao pâncreas estão associadas várias patologias agudas e crônicas⁵¹.

Na avaliação da função pancreática exócrina, podem ser feitos testes diretos, testes indiretos, testes às fezes e quantificação de enzimas séricas⁵². Nesta orientação, o LAC procede à quantificação sérica de duas enzimas: a α -amilase (AMY) e a Lipase (LIP). A AMY é uma enzima envolvida na hidrólise de amido e glicogénio⁵³, existindo duas isoenzimas: tipo S que está presente na saliva e outros locais, como por exemplo leite e suor, e tipo P que é aquela que é produzida pelo pâncreas⁵⁴. Já a lipase (LIP) é uma glicoproteína pancreática que catalisa a hidrólise de ésteres de glicerol dos ácidos gordos de cadeias longas na presença de sais biliares e de colipase (o seu cofator)^{53,54}. Valores elevados de AMY associados a valores elevados de LIP são fortemente indicativos de pancreatite aguda. A LIP é um marcador mais específico e aumenta a sua atividade sérica em 4-8 horas após um ataque pancreático agudo, atingindo valores máximos às 24 horas e diminuindo após 8-14 dias⁵⁴.

4.5. Desordens do Osso

O osso apresenta três funções principais: mecânica, protetora e metabólica. Este está em constante crescimento e remodelação, o que lhe permite reparar danos e ajustar a força⁵⁵. Existe uma série de circunstâncias biológicas que fazem variar o metabolismo ósseo^{56,57}.

O seu crescimento e remodelação são influenciados pelo metabolismo do cálcio, fosfato, magnésio e de várias hormonas, em especial da hormona da paratiroide (PTH) e da 1,25-dihidroxitamina D, e várias citocinas⁵⁸. Assim, o estudo destes parâmetros permite-nos perceber de que modo está a ser influenciado o metabolismo ósseo e, com esse intuito, o LAC procede à quantificação sérica dos quatro principais intervenientes: PTH, Cálcio, fosfato e magnésio.

A PTH é a hormona principal na regulação dos níveis de cálcio. No osso, o cálcio encontra-se em associação com o fosfato, sob a forma de cristais de hidroxiapatite e, na corrente sanguínea, circula na forma ionizada, ligado a proteínas e complexado com pequenos aniões. Quando a forma ionizada diminui, é induzida a libertação da PTH, que atuará no osso e no rim. No osso, estimula a reabsorção óssea, havendo libertação de cálcio e de fosfato para a corrente sanguínea. No rim, estimula a reabsorção de cálcio, diminui a reabsorção de fosfato, aumenta a sua eliminação e induz a 1α -hidroxilase a converter 25-dihidroxitamina D a 1,25-dihidroxitamina D. Esta última irá estimular diretamente a absorção intestinal de cálcio e fosfato e, indiretamente, a absorção de magnésio. A 1,25-dihidroxitamina D acaba ainda por inibir a secreção de PTH e estimular a mineralização óssea, por aumento dos níveis séricos de cálcio e de fosfato^{58,59}.

O magnésio é também importante na secreção de PTH pois, se os seus níveis estiverem diminuídos, esta não é secretada. É de referir que é um ião predominantemente intracelular, cofator de muitos sistemas enzimáticos e que, portanto, participa nas reações de formação e uso de ATP, na síntese de ácidos nucleicos e proteínas e nas reações mitocondriais. A sua excreção urinária normalmente deve-se a uma hipercalcémia ou depleção de fosfato. Este último, para além de ser necessário à mineralização óssea, é essencial em componentes celulares estruturais, no armazenamento de energia sob a forma de ATP e no balanço ácido base. Já o cálcio ionizado, a forma biologicamente ativa, é necessário a uma série de processos fisiológicos intracelulares e extracelulares, como contração muscular, função secretora, divisão celular, coagulação sanguínea e formação de impulsos nervosos^{58,59}.

Outro parâmetro quantificado, em amostra de soro, pelo LAC é a ALP. Esta enzima é produzida pelos osteoblastos durante a síntese de colagénio da matriz e, portanto, aumenta com a formação óssea. Como já referi anteriormente, a ALP não é específica visto que também aumenta, por exemplo, em desordens hepáticas^{58,60,61}. Durante a reabsorção óssea, os osteoclastos produzem fosfatase ácida (ACP) resistente ao tartarato, isoenzima tipo 5^{58,61,62}. O LAC quantifica a ACP total e de ACP não prostática no soro que aumentarão no caso de uma reabsorção óssea aumentada mas que também podem

aumentar em patologias das plaquetas, do baço e dos eritrócitos, locais onde se verifica a presença de ACP^{58,60}.

4.6. Regulação Hormonal

4.6.1. Disfunção da Tireoide

A função da tireoide é a produção e secreção das suas hormonas, tetraiodotironina (T_4) e triiodotironina (T_3). As hormonas da tireoide atuam na maioria das células do corpo, desencadeando várias ações metabólicas, nomeadamente controlando a taxa metabólica basal e a termogénese⁶³. Alguns exemplos de ações de relevo são: a estimulação do desenvolvimento neurológico, o crescimento normal, a maturação sexual, a estimulação da síntese proteica e do metabolismo de hidratos de carbono, aumento da síntese e degradação de colesterol e triglicéridos e aumento do metabolismo do cálcio e do fosfato. Caso haja uma alteração na produção destas hormonas, todos estes efeitos podem aumentar ou diminuir⁶⁴.

O mecanismo fisiológico da libertação de hormonas pela tireoide começa pela libertação da hormona estimuladora da tireotropina (TRH) pelo hipotálamo, que irá estimular a hipófise a produzir a hormona estimuladora da tireoide (TSH), também designada de tireotropina, que vai então atuar na tireoide para esta libertar as suas hormonas, T_4 e T_3 ⁶⁵.

Os níveis de TSH variam dinamicamente em resposta a alterações dos níveis de T_3 e T_4 , sendo que a TSH é regulada por estas num mecanismo de *feedback* negativo. Pequenas mudanças nas quantidades séricas de T_3 e T_4 causam uma amplificação logarítmica da secreção de TSH. Assim, a quantificação de TSH normalmente permite, em primeiro lugar, avaliar rapidamente se o paciente tem ou não uma doença da tireoide. No entanto, em caso de doença relacionada com o eixo hipotalâmico-hipofisiário, a determinação das hormonas da tireoide terá de ser feita para uma avaliação mais acertada da patologia. A determinação dos níveis de TSH é realizada em indivíduos com suspeita de bócio, no despiste de hipotireoidismo congénito e em pacientes com fibrilhação atrial, dislipidémia, osteoporose ou infertilidade. Também deve ser realizado em todos os indivíduos com manifestações não específicas, assintomáticos, e nos quais o diagnóstico não é claro⁶⁶.

Antigamente, a determinação sérica da T_3 total e da T_4 total era de grande relevo. Atualmente, sabe-se que as hormonas T_3 e T_4 circulam no sangue maioritariamente ligadas a proteínas: globulina ligadora de tiroxina (TBG), albumina e transtirretina. Neste sentido, as T_3 e T_4 totais são mais adequadas para averiguar se há uma alteração na ligação às proteínas, nomeadamente causada por fármacos⁶⁷.

As frações livres, ou seja, as frações não ligadas das hormonas da tiroide, representam a porção das hormonas que é difusível, capaz de atravessar as membranas celulares e exercer as suas funções nas células do corpo. Posto isto, são estas as frações que tem maior interesse quantificar, de modo a poder avaliar a função tiroideia ⁶⁸.

A hormona T_3 é biologicamente mais ativa que a T_4 , podendo esta última ser considerada a sua pro-hormona visto que nos tecidos periféricos sofre desionização para formar T_3 ⁶³. Numa variedade de doenças não tiroideias, os níveis de T_3 estão baixos, devendo-se isso a uma diminuição da conversão de T_4 a T_3 nos tecidos periféricos.

Uma das principais causas de um défice na função tiroideia está inerente a um défice de iodeto na alimentação, que leva a uma diminuição da produção das hormonas da tiroide ⁶⁹.

A tiroglobulina (Trg) é uma glicoproteína produzida nas células foliculares da tiroide e que está envolvida na produção das hormonas T_4 e T_3 ^{64,70}. Os seus níveis séricos poderão aparecer aumentados em casos de bócio e hiperfunção da tiroide, dano físico ou inflamatório da tiroide e, principalmente, em carcinomas diferenciados da tiroide derivados das células foliculares. Níveis séricos abaixo dos valores de referência poderão advir de tirotoxicose por ingestão de hormonas da tiroide exógenas ⁶⁵.

No LAC, procede-se à quantificação sérica da TSH, da Trg, das frações livres de T_3 e T_4 e das suas quantidades totais. A combinação dos valores desses analitos permite chegar ao diagnóstico de diferentes patologias subjacentes a desordens da tiroide e também monitorizar o seu tratamento ⁷¹.

4.6.2. Disfunções Reprodutivas

4.6.2.1. Disfunções Reprodutivas no Homem

Os testículos são responsáveis pela síntese de espermatozoides e de androgénios, principalmente testosterona. Esta produção é controlada pelo eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal. A hormona libertadora de gonadotropina (GnRH), libertada pelo hipotálamo, estimula a hipófise a libertar a hormona estimuladora dos folículos (FSH) e a hormona luteinizante (LH). Estas três hormonas apresentam secreções pulsáteis no homem, sendo as concentrações maiores de manhã e mais baixas à noite ⁷²⁻⁷⁴.

A FSH atua sobre as células de Sertoli nos túbulos seminíferos, estimulando-as a produzirem fatores de crescimento parácrinos e outros produtos que suportem a espermatogénese. Estas células são ainda estimuladas a produzir inibina, que inibe a secreção de FSH, em resposta à espermatogénese ativa e à produção de globulinas ligadoras de hormonas sexuais (SHBG) ⁷²⁻⁷⁴.

Sob a influência da LH, as células de Leydig, à volta dos túbulos seminíferos, são responsáveis pela produção de androgénios testiculares necessários para a maturação dos espermatozoides nas células de Sertoli. A testosterona, o principal androgénio testicular, exerce um mecanismo de retrocontrolo negativo na secreção de LH ⁷²⁻⁷⁴.

Nos tecidos, a testosterona pode ser convertida a um androgénio mais potente, a dihidrotestosterona (DHT), por ação da enzima 5 α -reductase, e a estradiol, também produzido nos testículos mas principalmente no tecido adiposo, onde a enzima aromatase existe em maior quantidade ^{73,75}.

A glândula adrenal é também responsável pela produção de androgénios, sendo eles: dihidroepiandrosterona (DHEA) e sulfato de dihidroandrosterona (DHEA-S), androstenediona e androstenediol. Estes androgénios são depois metabolizados, nos tecidos alvo, a testosterona e DHT ^{73,75}. Sendo responsáveis pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias, os androgénios também contribuem para a formação de massa muscular e de massa óssea, para libido e performance sexual do homem. A sua metabolização origina os 17-cetoesteroides, que são maioritariamente excretados pela urina. A testosterona e a DHT podem circular livres ou ligadas a proteínas (albumina e SHBG) ⁷⁵.

O desenvolvimento reprodutivo masculino envolve as seguintes etapas: fetal, pós-natal e puberdade ⁷⁵.

No desenvolvimento fetal, os androgénios são responsáveis pela diferenciação e desenvolvimento normal das estruturas internas e externas da genitália masculina ⁷⁵.

Durante os três primeiros meses de vida há um aumento dos níveis de testosterona, mas que depois voltam ao normal. Nesta etapa, a concentração de androgénios está baixa e ligeiramente mais elevada nos rapazes do que nas raparigas ⁷⁵.

Com o estabelecimento da puberdade, o sistema hipotalâmico-hipofisário fica menos sensível a inibição por *feedback* pelos androgénios em circulação, resultando numa maior concentração destes. As concentrações de androstenediona, DHEA, e DHEA-S começam a aumentar a partir dos seis a sete anos. A secreção de androgénios na puberdade parece ser necessária para manter uma densidade óssea normal ⁷⁵.

Após os 50 anos, há uma diminuição fisiológica dos androgénios, incluindo da testosterona. Ao contrário do que acontece na menopausa nas mulheres, nos homens a andropausa não resulta na perda absoluta da função gonadal, sendo que o processo é mais gradual, ocorrendo durante várias décadas. As concentrações total e da fração livre de testosterona diminuem com a idade, sendo que a medição da fração livre em amostras da manhã, são o indicador mais exato da androgenicidade ^{75,76}.

As causas de infertilidade masculina podem-se dividir em pré-testicular, quando as desordens são a nível do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, testicular, quando há dano do potencial espermatogénico por efeito direto nos testículos, e pós-testicular, em casos de obstrução do ducto ejaculatório e dos canais deferentes e disfunções na ejaculação^{73,74,77}.

Na avaliação de casos de infertilidade e de alteração das hormonas reprodutoras, o LAC faz a avaliação endócrina, por determinação sérica de FSH, LH, testosterona total e DHEA-S, e faz a avaliação de sémen para obtenção de informações sobre o volume produzido, o pH e a concentração, morfologia e motilidade dos espermatozoides.

4.6.2.2. Disfunções Reprodutivas na Mulher

A puberdade anuncia o início do ciclo menstrual feminino, quando uma célula germinativa atinge a plena maturidade em intervalos de aproximadamente 28 dias^{73,75,78-80}.

No início de cada ciclo, a libertação pulsátil de GnRH pelo hipotálamo, estimula a libertação de FSH e LH na hipófise. As células da teca, sob influência da LH, produzem androgénios e, sob a regulação da FSH, as células da granulosa irão converter os androgénios em estradiol, por ação da aromatase. As células da granulosa produzem inibina que, em conjunto com o estradiol, suprime a produção hipofisária de FSH por um mecanismo de retrocontrolo negativo, promovendo a seleção de um folículo dominante. O início do ciclo menstrual é regular e previsível, tornando-o na melhor altura para fazer uma avaliação clínica dos níveis séricos de FSH, LH e estradiol, numa fase que tem duração variável^{73,75,78-80}.

A meio do ciclo, com o amadurecimento do folículo dominante, a concentração de estradiol vai aumentando e, aproximadamente ao dia 12, ultrapassa um limiar a partir do qual o estradiol passa a exercer um mecanismo de retrocontrolo positivo sobre a hipófise, na produção das gonadotropinas. Há, então, uma elevação da LH e, em menor extensão, da FSH. A LH irá estimular fatores que irão ajudar na rutura do folículo e na maturação final do oócito. Ocorre, então, a ovulação ao dia 14, aproximadamente^{73,75,78-80}.

Após a ovulação, o mecanismo de retrocontrolo negativo sobre as gonadotropinas hipofisárias é reestabelecido. Os níveis mais baixos de LH irão estimular a formação do corpo lúteo e a produção de progesterona por este. A medição clínica de progesterona ao dia 21 implica que a ovulação terá ocorrido. O corpo lúteo também produz estradiol, que agora irá inibir a produção de FSH e LH. Ao dia 25, os valores séricos de LH serão tão baixos que não serão capazes de manter uma esteroideogénese adequada. A diminuição da concentração da progesterona leva à degeneração do endométrio e ocorre a menstruação. Chega, assim, ao fim a fase luteal, que tem uma duração relativamente fixa de 14 dias^{73,75,78-80}.

O mecanismo de retrocontrolo negativo sobre a hipófise é removido com a queda dos níveis de estradiol e progesterona, levando a que esta retome a secreção de FSH e LH por ação de estímulos contínuos dos pulsos de GnRH. Assim, inicia-se um novo ciclo^{73,75,78-80}. O ciclo menstrual e as alterações ováricas, endometriais e hormonais subjacentes estão representados no anexo 3.

O desenvolvimento reprodutivo feminino pode ser dividido nas seguintes etapas: fetal, pós-natal e puberdade^{75,79,80}.

Na fase fetal, a falta de testosterona e de substância inibitória mülleriana dita a manutenção do ductos müllerianos e regressão dos ductos wolffianos. A oogénese começa ainda no ovário fetal quando, no final do primeiro trimestre, as células germinativas começam a entrar na primeira fase da meiose e param em prófase I^{75,79,80}.

Depois da separação da placenta, as concentrações de esteroides sexuais no recém-nascido caem abruptamente. O mecanismo de *feedback* negativo exercido pelo estradiol sobre a FSH e a LH é removido, e as suas concentrações aumentam durante os primeiros 2-5 meses e depois baixam para concentrações basais^{75,79,80}.

A função ovárica permanece em repouso durante a infância. A entrada na puberdade dá-se pela diminuição da sensibilidade do sistema hipotalâmico-hipofisiário à inibição por *feedback* pelos esteroides sexuais em circulação e por estímulos de libertação pulsátil de GnRH. Em consequência, há um aumento na concentração de gonadotropinas. Nesta altura, há uma transição de um estado de repouso e imaturo para um estado completamente desenvolvido e fértil. Há desenvolvimento das características sexuais femininas e dos órgãos sexuais genitais femininos por ação dos estrogénios. Há também aparecimento dos pelos púbicos, influenciado pelos androgénios produzidos na glândula adrenal e no ovário e que começa com a adrenarca. Ocorre o início do primeiro ciclo menstrual e consequente menarca^{75,79,80}.

A fertilidade tende a diminuir progressivamente após a mulher completar 30 anos, sendo que a menopausa ocorre quando há depleção de todas as células germinativas no ovário. Os níveis de estrogénio sérico e de inibina baixam e há um grande aumento das concentrações de LH e FSH^{75,79,80}.

Na avaliação da existência de disfunções no desenvolvimento reprodutivo da mulher, o LAC realiza análises aos níveis de FSH, LH, estradiol, progesterona e DHEA-S. A interpretação conjunta destes parâmetros ajuda no diagnóstico diferencial de uma série de patologias que pode estar subjacente a alterações dos seus valores^{73,75,79,80}.

4.6.2.3. Gravidez

A gravidez humana dura aproximadamente nove meses e pode ser dividida em três trimestres. Após a ovulação, o período janela para a fertilização é de cerca de 72 horas, baseado em: muco cervical favorável para a penetração de espermatozoides, tempo de vida dos espermatozoides no trato genital feminino e na presença do óvulo nas trompas de Falópio, cujas condições ambientais alimentam a fase inicial da embriogénese. Se tudo correr bem, o ovo fertilizado sofre sucessivas divisões mitóticas, desenvolvendo-se em mórula e depois em blastocisto. Ao dia 20, este implementa-se no endométrio uterino, num processo denominado nidação⁷⁹⁻⁸¹.

Após a implementação bem sucedida, o trofoblasto desenvolve-se e começa a secretar hCG para a corrente sanguínea materna. A hCG é semelhante à LH e liga-se aos seus recetores de modo a manter o corpo lúteo e a gravidez numa fase inicial e a adiar o começo do ciclo ovulatório seguinte. O corpo lúteo tem um papel preponderante na manutenção da gravidez, por produção de progesterona e estrogénios que irão sustentar o endométrio. As altas concentrações de hCG no primeiro trimestre também estimulam a tiroide, uma vez que a hCG tem uma cadeia semelhante à TSH, o que resulta numa diminuição dos níveis séricos de TSH⁷⁹⁻⁸¹. A hCG é excretada na urina materna e o LAC usa um método imunocromatográfico para diagnóstico precoce de gravidez após um atraso na menstruação. Também pode ser realizado um teste mais sensível para a sua quantificação sérica e urinária, usado no diagnóstico e na monitorização e acompanhamento da gravidez. Este pode ainda ser usado no rastreio de doença trofoblástica e de câncros ginecológicos⁸².

No final do primeiro trimestre, a esteroidogénese ocorre a nível de vários órgãos numa espécie de “unidade feto-placentar”. A placenta assume a produção de progesterona e o corpo lúteo degenera. A hormona do crescimento (GH) e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) são importantes para o crescimento fetal. Similarmente, a secreção insulina fetal atua mais no sentido do crescimento fetal do que na regulação dos níveis de glucose, que são regulados pela mãe. No caso da mãe apresentar diabetes, há um aumento da transferência de glucose para o feto e uma estimulação excessiva da produção de insulina, havendo um excesso de crescimento, dificuldade no parto e risco de hipoglicémia neonatal⁷⁹⁻⁸¹. Esta doença será abordada mais à frente.

Muitas vezes problemas de infertilidade estão associados a níveis elevados de prolactina (PRL), uma hormona que induz as enzimas necessárias à produção do leite durante a amamentação. Enquanto os níveis de PRL estiverem altos, a libertação de gonadotropinas pela hipófise estará inibida, levando a disfunção sexual⁷⁹⁻⁸¹. O LAC faz o doseamento sérico desta hormona para despiste das diferentes causas de infertilidade.

Na avaliação da evolução da gravidez e do desenvolvimento fetal, o LAC faz ainda a quantificação de AFP. Esta glicoproteína é inicialmente produzida pelo saco vitelino fetal em pequenas quantidades e, à medida que este degenera, passa a ser produzida em grandes quantidades pelo fígado do feto. A sua determinação no soro materno permite identificar um alto risco de anomalias fetais sérias, como, por exemplo, defeitos no tubo neural ⁸¹.

4.6.3. Córtex Adrenal

A glândula adrenal é dividida em duas regiões distintas: medula e córtex. Na medula são produzidas catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, as principais hormonas de stress. No córtex, por alteração de colesterol e por ação de diferentes enzimas, são produzidas hormonas esteroides como cortisol, o principal glucocorticoide; aldosterona, o principal mineralocorticoide, e esteroides sexuais, como a DHEA. A síntese de hormonas no córtex é regulada pelo eixo hipotalâmico-hipofisiário, num mecanismo de retrocontrolo negativo. Várias patologias podem estar associadas à produção destas hormonas no córtex adrenal, podendo ser causadas por alteração da produção de hormonas como a hormona libertadora de corticotropina (CRH) ou da hormona adrenocorticotrópica (ACTH), resistência a hormonas ou disfunções enzimáticas ^{79,83,84}.

O LAC faz o estudo da produção de cortisol e DHEA-S. O cortisol, quantificado pelo LAC em soro, para além de aumentar a glucose em circulação e a glicogénese, estimula o aumento de ácidos gordos em circulação, inibe a proliferação de queratinócitos e a síntese de colagénio na pele, reduz a síntese proteica no músculo e aumenta a atividade osteoclástica no osso. Por outro lado, também é necessário para o início da lactação, tem efeitos anti-inflamatórios e pode atuar no rim, aumentando a taxa de filtração glomerular, a reabsorção de sódio e eliminação de potássio ^{79,83}. A DHEA-S, quantificada em soro, tem atividade androgénica fraca, sendo usada como precursor de esteroides sexuais mais potentes, como a testosterona e o estradiol. Na infância, estimula o crescimento linear, acompanhado do crescimento de pelos púbicos e axilares ^{79,83}.

4.6.4. Hipófise

A hipófise está anatomicamente dividida em hipófise anterior (adenohipófise) e hipófise posterior (neurohipófise). A adenohipófise secreta principalmente GH, PRL, TSH, ACTH, FSH e LH enquanto que a neurohipófise funciona como reservatório da vasopressina e da oxitocina produzidas no hipotálamo. A libertação de hormonas pela adenohipófise é inibida ou estimulada por fatores hipotalâmicos ⁸⁵.

A hipófise regula o sistema endócrino, integrando sinais químicos do cérebro com a regulação por retrocontrolo estabelecida pela concentração das hormonas em circulação, para estimular a libertação intermitente de hormonas pelas glândulas endócrinas secretoras⁸⁵.

Das hormonas da adenohipófise, a GH e a PRL atuam principalmente em tecidos alvo difusos, e a TSH, a ACTH e as gonadotropinas atuam principalmente em glândulas endócrinas específicas como a tiroide, o córtex adrenal e as gónadas, respetivamente⁸⁵.

Muitas vezes, disfunções das glândulas endócrinas secretoras são devidas a disfunção hipofisária causada, por exemplo, por: isquémia ou hemorragia, adenomas não funcionais compressores ou adenomas funcionais secretores^{79,86}.

O LAC quantifica as concentrações séricas de PRL, TSH, FSH e LH para avaliar a função hipofisária. A TSH e as gonodotropinas, em conjunto com a medição das hormonas produzidas pelas glândulas endócrinas secretoras, permitem diferenciar a existência de uma causa secundária de disfunção tiroideia ou gonadal, respetivamente. A principal função da PRL é estimular a mama a produzir leite após o parto. Esta inibe também a libertação de FSH e LH, levando a amenorreia secundária. Concentrações séricas elevadas de PRL associadas a amenorreia e galactorreia em mulheres não grávidas e ginecomastia e oligospermia nos homens, podem revelar a presença de micro ou macroadenoma na hipófise⁷⁹.

4.6.5. Diabetes Mellitus

A glucose é a principal fonte de energia para o corpo humano. Esta pode advir da hidrólise de hidratos de carbono da dieta ou de reservas corporais (o glicogénio neste caso) ou da síntese endógena a partir de proteínas e de glicerol proveniente dos triglicerídeos⁸⁷.

Após a absorção, o metabolismo das hexoses decorre de acordo com os requerimentos do corpo, sendo o fígado o principal órgão metabolizador⁸⁷. As vias de utilização de glucose variam conforme o tipo de célula, havendo tecidos que dependem exclusivamente de glucose como fonte para a sua energia metabólica. Para o cérebro e o sistema nervoso, assim como para os eritrócitos, testículos, medula renal e tecidos embrionários, a glucose sanguínea é a única ou a maior fonte de energia. Quando há uma necessidade de glucose, a gluconeogénese no fígado é ativada para elevar os níveis de glucose no sangue⁸⁸. Estes mecanismos de formação de glucose a partir da metabolização de macromoléculas armazenadas, está sob a ação de agentes hiperglicemiantes, como o glucagon, a adrenalina, o cortisol, a tiroxina, a GH e certas hormonas intestinais⁸⁹.

Com a ingestão de hidratos de carbono, os níveis de glucose sanguínea sobem e é estimulada a secreção de insulina. Tal como o glucagon, esta hormona é produzida no

pâncreas. No entanto, a insulina é produzida nas células β e tem uma função anabólica enquanto que o glucagon é produzida nas células α e apresenta uma função catabólica, agindo como uma hormona contrarregulatória da insulina. No fígado, a insulina irá inibir a gluconeogénese e a glicogenólise e estimular a síntese de glicogénio, a glicólise, a síntese de ácidos gordos e formação de triglicéridos e a síntese de colesterol. Esta também estimula a translocação dos transportadores da glucose GLUT4 para a membrana celular, que se encontram no tecido adiposo e nos músculos. Desta forma, estimula a captação de glucose por esses tecidos. No tecido adiposo promove ainda a lipogénese e formação e armazenamento de triglicéridos. Além do mais, a insulina também estimula a captação de aminoácidos e a síntese proteica numa série de tecidos ⁷⁹.

A diabetes mellitus (DM) não é uma única doença mas uma série de doenças que exibem um sintoma comum- incapacidade do individuo regular os níveis de glucose (intolerância à glucose). Os sintomas da DM são a alta concentração de glucose no sangue e na urina, poliúria, sede, polifagia, perda súbita de peso e, durante episódios agudos de DM, grande quantidade de corpos cetónicos no sangue e na urina. Todos estes sintomas são a consequência da incapacidade de regular o metabolismo da glucose e são a consequência de altos níveis de glucose ^{89,90}.

A classificação da DM é baseada na contribuição de vários fatores.

A diabetes tipo I é caracterizada pela destruição autoimune das células- β pancreáticas, resultando numa deficiência severa em insulina. Os indivíduos com este tipo de diabetes estão dependentes de injeções de insulina. A falta de insulina conduz a hiperglicémia, deixando os indivíduos mais suscetíveis a complicações como cataratas, neuropatia, nefropatia e angiopatia. A instalação de um quadro diabético grave pode levar a acidose, por acumulação de corpos cetónicos, e a coma. A nível muscular, dá-se proteólise para obter substratos para a gluconeogénese. A perda de massa adiposa e de massa muscular leva ao emagrecimento. Há instalação da tríade de sintomas clássica: poliúria, polidipsia e sede ^{79,90-93}.

A diabetes tipo II é uma desordem heterogénea que resulta da interação entre predisposição genética e fatores ambientais, criando uma combinação de deficiência em insulina e resistência à insulina. A somar a fatores genéticos, estão fatores ambientais, como a dieta, a obesidade e a inatividade física, a idade, o ambiente intrauterino e o peso à nascença ^{79,90,92,93}. O tecido adiposo, em particular da região abdominal, é a fonte primária de fatores de resistência à insulina. O efeito tóxico do excesso de ácidos gordos, que diminui a sensibilidade do músculo esquelético, e a secreção desregulada de adipocinas parecem ser os mecanismos responsáveis pela resistência à insulina. Um processo inflamatório local também

poderá estar subjacente. A resistência à insulina parece ser a lesão primária na diabetes tipo II, levando a um aumento compensatório de insulina pelo pâncreas, que, com o tempo, acaba por não conseguir manter as exigências de insulina. Com a diminuição da insulina, os níveis de glucagon aumentam e é estabelecido um estado semelhante ao de jejum. O tecido adiposo é muito sensível à insulina e os baixos níveis presentes são suficientes para inibir a lipólise e estimular o armazenamento de gorduras. O mesmo não se passa no fígado, onde o glucagon promove a gluconeogénese. O músculo e outros tecidos sensíveis à insulina também necessitam de níveis de insulina mais elevados para promover a captação da glucose que está a ser produzida pelo fígado. Clinicamente, isto resulta num estado de hiperglicémia pós-prandial, apresentando um resultado anormal na prova de tolerância à glucose oral (PTGO). À medida que o pâncreas vai perdendo a sua capacidade de secreção de insulina, os valores desta baixam, não conseguindo contrabalançar os efeitos do glucagon. A glicémia em jejum deixa de ser controlada e passa a haver também um quadro de hiperglicémia em jejum. A partir deste momento, o tecido adiposo procede à lipólise para fornecer substratos para a cetogénese, estimulada pelo glucagon. Nestas condições, o quadro de diabetes tipo II começa a assemelhar-se ao quadro de diabetes tipo I ⁹⁴⁻⁹⁸.

Um outro tipo de DM é a diabetes gestacional (DG), que é caracterizada por surgir ou ser diagnosticada durante a gravidez, podendo ser o resultado de uma diabetes tipo I ou diabetes tipo II pré-existentes. Este tipo de diabetes deriva do facto da mulher não conseguir secretar insulina suficiente para compensar o aumento das exigências nutricionais durante a gravidez, do maior número de células adiposas na gravidez e do aumento da secreção de hormonas hiperglicemiantes associadas à gravidez, produzidas pela placenta, como a somatomamotropina coriónica humana, o cortisol, os estrogénios e a progesterona ^{89,90,92,93,99}. Estes doentes terão maior risco de ganho de peso excessivo, preeclampsia e a parto por cesariana. Os recém-nascidos de mães diabéticas, terão maior risco de macrossomia, trauma de nascimento e distocia do ombro. Após o nascimento, terão maior risco de desenvolver hipoglicémia, hipocalcémia, hiperbilirrubimnemia, síndrome da dificuldade respiratório, policétima e subsequente obesidade e diabetes tipo II. Uma mãe com DG terá maior propensão a desenvolver diabetes tipo II ou DG recorrente no futuro ^{99,100}.

Na patogénese das complicações diabéticas existem dois mecanismos principais. Por um lado, a glicosilação não enzimática de proteínas, que ocorre em vários tecidos, mais comumente nos eritrócitos, no glomérulo renal e nas células nervosas, é diretamente proporcional à concentração de glucose extracelular. Esta reação leva a alteração das propriedades físicas e bioquímicas das proteínas e, conseqüentemente, a complicações fisiológicas, como, por exemplo, cataratas e perda da função renal. Outra complicação é a

acumulação de sorbitol, fruto das grandes concentrações extracelulares de glucose. Com a acumulação de sorbitol, há um efeito osmótico que leva à turgescência das células e a dano nas estruturas celulares ⁸⁹.

A DM pode estar associada a um quadro de síndrome metabólico ¹⁰¹.

No diagnóstico de DM, o LAC determina a glicémia plasmática em jejum e pós-pandrial (2 horas após uma refeição) e executa a PTGO. A execução desta prova consiste na medição, usando amostra de plasma, da glicémia em jejum e na administração oral de 75g de glucose, com posterior medição da glicémia após duas horas. Na DG, a PTGO só difere no facto de a medição da glicémia ser feita em jejum e após uma e duas horas. No controlo da doença, o LAC executa a determinação da glicémia em plasma e da hemoglobina glicosilada A1c (HbA1c) no sangue. Na avaliação de complicações, procede-se à determinação sérica de triglicerídeos e colesterol, no risco de aterogénese, e determina-se a microalbuminúria e a proteinúria e os níveis séricos e urinários de creatinina e ureia, para diagnóstico precoce de nefropatias. A análise da urina através de tiras de reagentes permite ainda averiguar a presença de corpos cetónicos e glucose, normalmente presentes em urina de diabéticos, e inferir sobre o estado da função renal.

O diagnóstico de DM é feito com observação de um dos seguintes critérios:

- Glicémia em jejum ≥ 126 mg/dl (ou $\geq 7,0$ mmol/l);
- Sintomas clássicos de descompensação e Glicémia ocasional ≥ 200 mg/dl (ou $\geq 11,1$ mmol/l);
- Glicémia ≥ 200 mg/dl (ou $\geq 11,1$ mmol/l) às 2 horas, na PTGO; ou HbA1c $\geq 6,5$ % ^{102,103}.

Verifica-se DG quando:

- Glicémia plasmática em jejum ≥ 92 mg/dl (5,1 mmol/l) e < 126 mg/dl (7,0 mmol/l) na primeira consulta da grávida ou pelo menos um valor ≥ 92 mg/dl (5,1 mmol/l), 180 mg/dl (10 mmol/l) ou 153 mg/dl (8,5 mmol/l) em jejum, 1 hora ou 2 horas, respetivamente, na PTGO realizada entre as 24 e as 28 semanas de gestação ^{102,103}.

4.7. Drogas de abuso

Nesta área, o LAC faz a pesquisa de drogas de abuso na urina através de imuno-ensaios rápidos e qualitativos. É de referir que estes testes proporcionam apenas um resultado preliminar, havendo a necessidade de realizar testes mais específicos, como espectrometria de massa, para confirmação de resultados ¹⁰⁴.

Os testes para pesquisa de drogas de abuso são normalmente requeridos por agências governamentais, industriais, educacionais ou na área do desporto a empregados existentes ou futuros, a estudantes e participantes em desportos profissionais ou amadores.

Também pode resultar de uma exigência médica para candidatos a transplantação de órgãos, clínica de tratamento da dor, programas psiquiátricos e programas de tratamento do uso de drogas de abuso. Estes testes envolvem testar apenas uma amostra de urina para uma dada droga e os seus metabolitos. É de notar que o teste de uma única urina apenas deteta casos recentes de uso e não diferencia o uso casual do abuso crónico¹⁰⁴.

O LAC faz a deteção de canabinóides, cocaína e opiáceos.

Os canabinóides são encontrados nas plantas da espécie *Cannabis sativa*. O principal canabinóide psicoativo é Δ^9 -tetrahydrocannabinol e é consumido quando se fuma marijuana. Os principais efeitos psicoativos são a euforia e a sensação de relaxamento e bem estar. O seu consumo está associado a perda de memória a curto prazo e diminuição da *performance* intelectual, havendo também diminuição da destreza psicomotora¹⁰⁴.

A cocaína é um alcaloide presente na folhas da planta coca, que tem uma grande popularidade como droga recreativa. É um potente estimulador do sistema nervoso central, provocando um aumento do estado de alerta e euforia. A cocaína tem propriedades clínicas, já que é efetiva como anestésico local e vasoconstritor de membranas mucosas, sendo, por isso, usada na cirurgia nasal, rinoplastia e na intubação nasotraqueal urgente¹⁰⁴.

Opiáceos é um termo aplicado a todas as substâncias com propriedades semelhantes à morfina. Estas substâncias são alcaloides analgésicos derivados do ópio, que é obtido das sementes de papoila. São usados clinicamente pelas suas propriedades analgésicas, além de causarem sedação, euforia, hipotensão ortostática, diminuição da motilidade intestinal, miose, náusea e vômitos. O consumo excessivo pode levar a coma, e depressão respiratória, podendo ocorrer morte por paragem cardiorrespiratória¹⁰⁴.

4.8. Neoplasias

Quando o crescimento celular deixa de responder aos mecanismos normais de crescimento, formando colónias de células e aumentando o seu tamanho, ocorre a formação de um tumor. Um tumor diz-se benigno se não tem a capacidade de crescer indefinidamente e se não invadir os tecidos saudáveis envolventes. Se um tumor continuar a crescer e se se tornar invasivo, então designa-se de maligno. O termo câncer refere-se a um tumor maligno, uma doença que é já considerada a segunda maior causa de morte¹⁰⁵. O seu aparecimento deve-se a um acumular de alterações genéticas, epigenéticas e de regulação da expressão proteica, que afetam diversos processos celulares. Durante o processo oncogénico, as células vão adquirindo novas capacidades, como a autossuficiência em sinais de crescimento, a insensibilidade a inibidores de crescimento, mecanismos de evasão à apoptose, um potencial replicativo ilimitado e capacidades angiogénica, invasiva e de metastização¹⁰⁶.

Na tentativa de identificar malignidade, têm sido usados compostos bioquímicos que podem estar presentes nas células tumorais, serem libertados pelo tumor ou serem produzidos pelo organismo em resposta à presença do tumor. Esses compostos designam-se de marcadores tumorais ¹⁰⁷. No seu uso, deve ter-se presente que, até ao momento, não há nenhum marcador absolutamente específico de um tumor e, por isso, não são uma evidência absoluta da presença ou ausência de doença maligna, sendo que a determinação de mais de um marcador aumenta a certeza do diagnóstico. Dadas estas condições, estes marcadores têm sido de grande utilidade em alertar para a possível existência de cancro, no acompanhamento da evolução da doença, permitindo a deteção precoce de recidivas e de metástases e na monitorização e orientação do tratamento. Outro aspeto a reter é de que a libertação destes compostos não é proporcional ao tamanho da massa tumoral nem ao estado clínico ¹⁰⁸.

Nas secções seguintes vou referir os marcadores tumorais que o LAC determina no sentido de ajudar ao diagnóstico de alguns tipos de cancro.

4.8.1. Câncer da Próstata

O cancro da próstata (CaP) é a segunda causa de morte por cancro nos indivíduos do sexo masculino e afeta mais frequentemente homens idosos. Os fatores de risco ainda não são bem conhecidos, à exceção da idade avançada, origem étnica e hereditariedade.

No apoio ao diagnóstico de CaP, o LAC faz a determinação sérica do antígeno específico da próstata (PSA) total e livre. O PSA é uma serina protease produzida quase exclusivamente pelas células epiteliais da próstata. Apesar de ser específico do órgão não é específico do cancro. Os níveis séricos podem aumentar na hipertrofia benigna da próstata (HBP), prostatite ou outras condições não malignas. O risco de se desenvolver cancro prostático é tanto maior quanto maior forem os valores séricos de PSA. O rastreio é recomendado para homens assintomáticos com idade superior a 40 anos ¹⁰⁹. O PSA pode circular complexado com α_1 -antiquimiotripsina e α_2 -macroglobulina ou livre ¹⁰⁷. Por vezes, pode ser pedida a determinação da fração livre de modo a calcular a razão PSA_{total}/PSA_{livre} . Esta razão tem-se mostrado útil quando os valores de PSA_{total} não são superiores a 10 ng/ml, na distinção entre HBP e CaP. Valores abaixo de 0.10 indiciam CaP enquanto que, se superiores a 0.25, há apenas 8% de probabilidade de ser CaP ¹⁰⁹.

O LAC quantifica ainda a ACP total e ACP não prostática a partir das quais calcula a ACP prostática em amostras de soro. Como já referi anteriormente a ACP total e não prostática podem aumentar em outras patologias, como doença óssea. Quanto à ACP prostática, esta deixou de ser um marcador de diagnóstico de CaP com o aparecimento da

quantificação do PSA, um marcador mais específico^{107,110,111}. Para além de ser usada no apoio ao diagnóstico de CaP, a ACP prostática em conjunto com a PSA total permite também diferenciar entre patologia prostática e, por exemplo, patologia óssea.

4.8.2. Câncer do Pâncreas

Sendo a quinta principal causa de morte por câncer, o câncer do pâncreas (CP) é um dos mais fatais. Mais de 95% dos indivíduos afetados morrem da doença, na maioria dos casos devido a diagnóstico tardio, formação rápida de metástases e fraca resposta à quimio e radioterapia. O principal tipo histológico de CP, contando para 80% dos casos, é o adenocarcinoma pancreático ductal, sendo os outros tipos o carcinoma das células acinares e tumores neuroendócrinos. Ser fumador, a obesidade e fatores da dieta, como a elevada ingestão de carnes processadas, aumentam o risco de desenvolver CP. Várias condições genéticas estão associadas ao aumento do risco, sendo uma delas a hereditariedade do câncer da mama e do ovário. Mutações no oncogene K-ras é o principal mecanismo de CP¹¹².

O LAC faz a quantificação sérica do principal marcador tumoral do CP, o antigénio de hidrato de carbono 19.9 (CA 19.9). É de valor de diagnóstico limitado, uma vez que não é específico de CP, e pessoas que não apresentem o antigénio Lewis-a não sintetizam este marcador¹¹². O CA 19.9 aparece elevado em doenças malignas gastrointestinais não pancreáticas e em doenças benignas, como obstrução biliar, colecistite, colangite, cirrose hepática e pancreatite aguda e crónica. Ainda assim, os níveis séricos de CA 19.9 devem ser tomados em conta para estratificação do risco de CP e na monitorização da terapia, dado que, em caso de doença progressiva, os seus valores não diminuem¹¹³.

4.8.3. Câncer Colorretal

O câncer colorretal (CCR) é a segunda causa de doença maligna mais comum nos países desenvolvidos, sendo que a incidência é maior nos homens e o risco aumenta com a idade. A doença parece desenvolver-se, na maioria dos casos, a partir de lesões precursoras não malignas designadas adenomas. Estima-se que 40-50% da população desenvolve pelo menos um adenoma ao longo da vida, sendo que, no entanto, apenas 5-6% da população desenvolve CCR. Estima-se ainda que a evolução de adenoma a CCR demore pelo menos dez anos, permitindo a deteção precoce da doença.

Para homens e mulheres em idade de risco, entre os 50-74 anos, é aconselhado o rastreio de CCR, sendo a pesquisa de sangue oculto nas fezes o teste recomendado¹¹⁴. O método do teste usado pelo LAC é baseado numa imunocromatografia com deteção de hemoglobina, não necessitando de uma restrição dietética por parte do doente¹¹⁵.

Outro marcador tumoral que o LAC quantifica em soro é o antigénio do carcinoma embrionário (CEA). O CEA não é usado para rastreio da doença mas é de grande utilidade para determinação do prognóstico, vigilância pós-operatória e monitorização da terapia em doença de estado avançado¹¹⁶.

O marcador tumoral CA 19.9 também aparece elevado no CCR¹⁰⁷. O CA 19.9 tem a mesma utilidade que o CEA só que é menos específico¹¹⁶.

4.8.4. Câncer da Mama

Apresentando-se como a principal causa de morte por câncer em mulheres, o câncer da mama (CaM) tem aumentado a sua incidência devido ao rastreio por mamografia, envelhecimento da população, tipo de dieta ocidental, obesidade e ao consumo de álcool e tabaco. A sua incidência apresenta uma razão muito acentuada com a idade, sendo que menos de 5% das mulheres com idade inferior a 35 anos desenvolvem CaM e 25% se considerarmos a população com idade inferior a 50 anos. O CaM está muito associado à hereditariedade do gene BRCA e é uma das situações em que é aconselhado realizar imagiologia de ressonância magnética¹¹⁷. É recomendado que mulheres com idade compreendida entre os 50 e os 69 anos façam rastreio por mamografia 2 vezes ao ano¹¹⁸.

Apesar dos marcadores tumorais não serem uma mais valia no diagnóstico de CaM¹¹⁷, o antigénio de hidrato de carbono 15.3 (CA15.3), derivado do antigénio de Lewis-a¹⁰⁷, parece ajudar na deteção pré-clínica de doença metastática e, durante a monitorização da terapia, um aumento dos valores séricos em 25% é interpretado como um aumento clinicamente significativo. Ainda assim, é recomendável que este marcador não seja usado sozinho na monitorização da terapia da doença e poderá ser usado o marcador tumoral CEA em conjunto¹¹⁹. Assim, o LAC faz a determinação dos níveis séricos destes marcadores.

4.8.5. Carcinoma do Ovário

O carcinoma do ovário (CaO) é a quinta causa de morte por câncer em mulheres. Metade das mulheres diagnosticadas com CaO tinham 60 ou mais anos e a maioria dos casos anualmente reportados ocorrem em países em desenvolvimento. Fatores associados à diminuição do risco de CaO são o uso de contraceptivos orais, amamentação, histerectomia e ovariectomia profilática. Já o aumento do risco tem sido associado com a obesidade, o uso de pó de talco e de certos medicamentos para a fertilidade e com uma correlação mais forte com uma fraca história reprodutiva e uma baixa duração da vida reprodutiva. Uma menarca precoce e uma menopausa tardia parecem também aumentar o risco de CaO. Outro fator de risco importante é a predisposição genética, sendo que mulheres com mutações nos

genes BRCA1 e BRCA2, para além do risco de desenvolver CaM, têm também o risco de desenvolver CaO aumentado. Aproximadamente 90% dos tumores ováricos malignos são epiteliais (carcinomas) ¹²⁰.

No diagnóstico, vários sintomas estão associados: desconforto abdominal, inchaço abdominal, hábitos intestinais modificados, saciedade precoce e dispepsia. A presença de uma massa pélvica durante a avaliação clínica é um importante sinal de CaO. O marcador CA125, determinado pelo LAC no soro, é amplamente usado para avaliação primária de CaO. Falsos positivos podem aparecer com várias condições, em particular com aquelas associadas a inflamação peritoneal, como endometrioses, adenomioses, doença inflamatória pélvica, menstruação, miomas uterinos ou quistos benignos. O rastreio multimodal, usando determinação sérica de CA125 e ultrassons, tem-se mostrado efetivo na deteção precoce de CaO ¹²⁰. O CA125 tem utilidade ainda na avaliação pré e pós-operatória, na deteção de recorrências e na monitorização da terapia ^{121,122}. Elevações de CA125 podem ser ainda observadas noutros carcinomas não ováricos, como o endometrial, pancreático, pulmonar, da mama, colorretal e noutros tumores gastrointestinais ¹⁰⁷.

4.8.6. Câncer do Testículo

A incidência do câncer testicular (CaT) na Europa tem vindo a aumentar, ainda que a sua taxa de mortalidade seja baixa (0.38 casos/100 000/ano). Os tumores testiculares podem ser divididos em seminomas e não seminomas ¹²³. Fatores de risco para desenvolvimento de CaT são: história de criptorquidia ou a não descida dos testículos, síndrome de Klinefelter, história familiar de tumor testicular em familiares de primeiro grau e infertilidade ¹²⁴.

O LAC determina dois marcadores em amostras de soro, usados no diagnóstico de CaT: hCG e AFP. Estes marcadores são fatores de prognóstico e contribuem para o diagnóstico e determinação do estágio da doença. Nos tumores não seminomas verificam-se grandes aumentos de um ou dos dois marcadores tumorais, enquanto que em 30% dos seminomas se verifica um aumento da hCG. A LDH, marcador de destruição celular, também é recomendada na avaliação de doentes com doença metastática ¹²⁴. Durante o tratamento do tumor primário, é também aconselhada a análise de marcadores tumorais, antes da cirurgia e depois desta, até normalização dos valores ¹²³. A hormona hCG, dado ser produzida pelo trofoblasto, pode ainda ser associada a doenças trofoblásticas; e a glicoproteína AFP, que para além de ser produzida pelo saco vitelino fetal, também é produzida pelo fígado, pode, por isso, estar associada a carcinoma hepatocelular (HCC) ¹⁰⁷.

4.8.7. Carcinoma Hepatocelular

O HCC representa 90% dos câncros hepáticos primários. A incidência aumenta com idade, atingindo um pico aos 70 anos (no entanto, na China e em África afeta pessoas mais jovens) e tem maior preponderância nos homens. Hepatites virais crónicas do tipo B e C, cirrose hepática, exposição a aflotoxina B1, obesidade, diabetes e doença do fígado gordo são causas de HCC. A incidência nos países ocidentais é de 3 em cada 100 000 ^{125,126}.

A glicoproteína AFP, quantificada pelo LAC, tem sido usado em conjunto com ultrassons abdominais nos planos de vigilância após o tratamento. A elevação deste marcador pode fornecer uma primeira indicação de malignidade em casos de cirrose ou hepatite viral crónica, representando um fator de prognóstico adverso ¹²⁷. No entanto, é de ter em atenção a existência de falsos positivos. Os seus valores séricos podem aumentar, por exemplo, em doenças não malignas que afetem a síntese hepática, em tumores das células germinativas ou durante a gravidez. ¹⁰⁷.

5. IMUNOLOGIA

A imunologia é uma disciplina que tem tido uma importância crescente em virtude dos rápidos avanços científicos que se têm verificado. O seu aparecimento e evolução deram-se em paralelo com o desenvolvimento científico na área da microbiologia, com a identificação de agentes infecciosos e a tentativa de imunização contra estes ¹²⁸. Desta forma, a imunologia trata de estudar como é que o sistema imunitário se encontra organizado e como este funciona. O sistema imunitário evoluiu no sentido de proteger os organismos contra agentes patogénicos e tem a capacidade de produzir uma grande variedade de células e moléculas capazes de reconhecer e eliminar elementos estranhos ao organismo ¹⁰⁵. Tendo em conta a especificidade e sensibilidade de moléculas como as imunoglobulinas (Ig) contra antígenos estranhos, várias técnicas foram desenvolvidas, com base na reação antígeno-anticorpo, para pesquisa e quantificação de certos compostos ²¹.

Atualmente, para além das doenças infecciosas, esta área preocupa-se com a deteção de estados patológicos resultantes de uma atividade imunológica anormal como por exemplo: não diferenciação do próprio do não próprio (autoimunidade), falha no controlo da diferenciação celular (câncer) ou uma resposta exacerbada (alergia) ^{128,129}.

Com recurso a instrumentos automatizados e também a técnicas manuais, o LAC faz a pesquisa e quantificação de parâmetros necessários ao diagnóstico diferencial de patologias associadas a alterações do sistema imunitário que têm por base doenças infecciosas, autoimunes e alérgicas. Essas patologias e respetivos exames serão abordados nos próximos capítulos. No anexo 2 segue um quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em imunologia. Para além disso, o LAC faz a contagem diferencial de leucócitos em amostra de sangue, sendo útil no apoio ao diagnóstico de certas patologias do sistema imunitário.

5.1. Serologia Infecciosa

Após uma infeção, para que haja recuperação, é necessário controlar a multiplicação do agente infeccioso, diminuir a quantidade deste em circulação e cessar a sua propagação pelo organismo, não permitindo que este cause mais danos nos tecidos. Para tal, o sistema imunitário desenvolve vários fatores¹³⁰. Num primeiro contacto, os elementos que compõem o mecanismo de imunidade inata criam resistência à infeção. Após o contacto com o agente infeccioso e com o reconhecimento de antígenos, é ativado o mecanismo de imunidade adquirida, que pode ser mediado por células e anticorpos. Existem cinco classes de Ig : IgG, IgM, IgA, IgE e IgD. A IgG é a que se encontra em maior concentração no sangue e é aquela que responde mais fortemente num segundo contacto com o antígeno (resposta

secundária). Esta atua por opsonização, facilita a fagocitose e ativa o sistema complemento. A IgG tem ainda a capacidade de atravessar a placenta e conferir imunidade ao feto. A IgM é a imunoglobulina mais pesada, forma pentâmeros e, dado o seu tamanho, encontra-se predominantemente no sangue. É a imunoglobulina que responde em primeiro lugar perante um estímulo antigénico (resposta primária) e é especialmente efetiva a ativar o sistema complemento. A IgA predomina nas mucosas e nas secreções, onde funciona como um anticorpo neutralizante de proteção primária. Ao evitar que os micro-organismos se liguem às superfícies corporais, a IgA permite que estes sejam removidos através de fluidos secretórios em vez de estabelecerem infeção. A IgE encontra-se apenas em concentrações vestigiais no sangue e fluidos extracelulares e está envolvida em reações de hipersensibilidade e na defesa contra parasitas. A IgD encontra-se habitualmente ligada à membrana dos linfócitos B, participando na sua ativação^{105,131}.

Para averiguar a presença de um agente infeccioso ou a imunização contra este, o LAC executa uma série de testes com base em reações específicas do tipo antigénio-anticorpo para identificar a presença de antigénios e de anticorpos contra antigénios dos agentes infecciosos.

Para além de anticorpos específicos, o LAC também quantifica os títulos totais de anticorpos IgG, IgM, IgA e IgE, presentes no soro, conforme o tipo de infeção em suspeita para verificar a sua presença.

5.1.1. Serologia de Infeções Víricas

5.1.1.1. Vírus da hepatite A

O vírus da hepatite A (VHA) causa hepatite infecciosa, cuja transmissão ocorre pela via fecal-oral. As infeções por VHA resultam do contacto direto pessoa-pessoa ou através do consumo de água, marisco e outros alimentos contaminados. Tem um tempo de incubação de aproximadamente um mês e há emissão do vírus cerca de dez dias antes do aparecimento de sintomas. Esta última característica, associada a fracas condições de higiene e sobrepopulação, constitui a causa da alta incidência e daí se verificar uma maior incidência em países em vias de desenvolvimento. A manifestação clínica varia com a idade, sendo maioritariamente assintomática em crianças e provocando hepatite severa em pessoas adultas. Conforme a gravidade da doença, poderão aparecer sintomas como: febre, náuseas, dores abdominais, diarreia, icterícia, urina escura e fezes descoradas. A infeção por VHA não causa doença crónica e raramente é uma doença fatal^{132,133}.

Uma vez desenvolvida a infeção, o individuo fica com proteção imunológica para o resto da vida contra reinfeção. Para além de ter em conta evolução temporal dos sintomas clínicos, o diagnóstico da infeção é feito por testes serológicos específicos. Numa infeção aguda por VHA, os níveis de IgM anti-VHA estarão aumentados após um período de virémia transitória, diminuindo depois. Após a infeção, há formação de IgG anti-VHA, que vai conferir imunidade contra uma reinfeção por VHA^{132,133}. Neste sentido, o LAC procede à quantificação dos títulos séricos de anti-VHA total e do tipo IgM para diagnóstico de doença e diferenciação entre infeção aguda ou passada.

5.1.1.2. Vírus da hepatite B

O vírus da hepatite B (VHB) é transmitido por via parenteral através de sangue ou agulhas, por contacto sexual ou por transmissão perinatal e tem período de incubação de três meses. Após hepatite aguda, 5 a 10 % dos indivíduos infetados evoluem para infeção crónica. O VHB pode ainda estar associado a HCC^{132,134}.

O diagnóstico de infeção por VHB é feita com base em três antigénios: antigénio HBs (AgHBs), que se encontra na superfície viral; antigénio HBc (AgHBc), que se encontra na cápside e antigénio HBe (AgHBe), uma proteína solúvel com sequência semelhante ao AgHBc mas que é processada de forma diferente¹³²⁻¹³⁵.

O primeiro a detetar-se é o AgHBs, que demonstra a presença do vírus no organismo. Mais ou menos ao mesmo tempo, surge o AgHBe, sinónimo de que o agente infeccioso está a multiplicar-se. Só depois surgem os anticorpos. Primeiro aparece o anticorpo IgM anti-HBc e, mais tarde, aparecem anticorpos IgG anti-HBc, havendo a diminuição dos anticorpos IgM contra esse antigénio. Em seguida, se as defesas imunitárias do organismo estiverem a funcionar corretamente, surge o anti-HBe. Com a seroconversão, a multiplicação do vírus diminuiu e, se nada alterar o curso normal, desaparece o AgHBs e surgem os anticorpos anti-HBs, que permanecem no organismo para o resto da vida e que conferem imunidade. A presença de AgHBs, por mais de 6 meses, indica que a hepatite está numa fase crónica¹³²⁻¹³⁵. A evolução dos marcadores serológicos durante infeção aguda por VHB está representada no anexo 4.

O LAC faz a determinação sérica dos anticorpos anti-HBc, do AgHBs e do AgHBe que permitem diagnosticar e monitorizar as infeções pelo VHB. No período janela de infeção aguda recente, em que poderão não ser detetados os anticorpos anti-HBe e anti-HBs por estarem ligados aos respetivos antigénios, e o AgHBs já não é detetável, a medição de IgM anti-HBc é a melhor maneira de detetar a infeção^{132,133}. Nesse sentido o LAC faz também a determinação sérica de anti-HBe, anti-HBs e IgM anti-HBc.

5.1.1.3. Vírus da hepatite C

O vírus da hepatite C (VHC) transmite-se do mesmo modo que o VHB. Uma infecção por este vírus está mais propensa a evoluir para infecção crónica, resultando muitas vezes em cirrose ou HCC ^{132,133,136,137}.

O LAC faz a deteção de infecção por VHC por determinação do anticorpo anti-VHC. A seroconversão ocorre entre 7 a 31 semanas de infecção.¹³² É de referir que nem sempre o anticorpo é detetável em pessoas virémicas e que um resultado positivo deve ser confirmado por outro teste, nomeadamente um teste molecular. O rastreio é realizado em pessoas com risco de transmissão, como, por exemplo, grávidas e dadores de sangue^{132,133,136,137}.

5.1.1.4. Vírus da imunodeficiência humana

O vírus da imunodeficiência humana (VIH) infeta células T e macrófagos que expressam o antígeno CD4, acabando por comprometer todo o sistema imunitário do indivíduo. O vírus, presente nos fluidos orgânicos, apresenta um período de infecção longo e assintomático e é transmitido por contacto direto com esses fluidos, em relações sexuais, na inoculação de sangue e na transmissão vertical durante a gravidez, parto ou aleitamento. Atualmente existem dois tipos de HIV: HIV-1 e HIV-2, sendo o primeiro o mais prevalente e o que tem uma taxa de replicação maior^{132,138}.

Com uma infecção primária, há produção de anticorpos, diminuição dos linfócitos T CD4⁺, que aumentam após resolução da infecção primária, e dos linfócitos T CD8⁺. Após esta fase aguda, segue-se um período de latência clínica, durante o qual há perda gradual dos linfócitos T CD4⁺ ^{132,138}.

Os ensaios serológicos são a principal forma de diagnóstico atual. O LAC faz a deteção em soro ou plasma de anticorpos anti-HIV1 e anti-HIV2. A seroconversão ocorre lentamente e, em média, ao fim de 4-8 semanas os anticorpos são detetáveis na maioria dos pacientes. O LAC faz ainda a deteção do antígeno p24, uma proteína da cápside, cujos valores séricos aumentam logo após a infecção com HIV, antes do aparecimento dos anticorpos. Quando o resultado é positivo, o LAC envia a amostra a outro laboratório para que seja feito testes confirmatórios por Western Blot e métodos moleculares ^{132,138}. No anexo 5 está representada a cinética dos marcadores virais e da resposta imunitária do hospedeiro na fase inicial de infecção por HIV.

O diagnóstico de síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) é feito quando são detetados anticorpos anti-HIV (1 ou 2) e a contagem de linfócitos T é menor que 200/ μ l (ou

menor que 14% dos linfócitos totais) ou há ocorrência de uma doença indicadora da infeção, nomeadamente uma infeção oportunista^{132,139}.

5.1.1.5. Vírus do herpes simplex

Existem dois tipos de vírus do herpes simplex (HSV): HSV-1 e HSV-2. O HSV é transmitido por contacto pessoal íntimo. O HSV-1 está presente na saliva e líquido vesicular e provoca infeções na zona facial. O HSV-2 está presente nas secreções genitais e também no líquido vesicular, é normalmente transmitido por contacto sexual e provoca infeções na área genital^{132,140}.

Após infeção primária, o HSV persiste indefinidamente no hospedeiro, permanecendo latente nos gânglios nervosos até que um novo estímulo provoque a reativação^{132,140}. No diagnóstico de infeções por HSV, o LAC procede a ensaios imunoenzimáticos para pesquisa de anticorpos IgM e IgG contra HSV-1 e HSV-2 no soro ou plasma. Esta pesquisa é mais útil para diagnóstico de infeção primária, que ocorre quando os anticorpos do tipo IgM aparecem, e não tanto no diagnóstico de infeções recorrentes, visto que o aumento dos títulos de anticorpos pode não significar recorrência da infeção^{132,140}.

5.1.1.6. Citomegalovírus

O citomegalovirus (CMV), incluído na família Herpesviridae como o HSV, é ubíquo e tem o Homem como único reservatório. A infeção, reinfeção e reativação por CMV são normalmente assintomáticas. O CMV é o agente patogénico oportunista mais comum nos imunodeprimidos e pode ser a causa de infeções severas. Replica-se em vários tipos de células, como linfócitos e monócitos, e estabelece infeção latente em leucócitos, tecido linfoide, glândulas secretórias e rins. A reativação ocorre frequentemente em situações de imunossupressão e pode dar-se reinfeção por outra estirpe^{132,141}.

O vírus pode estar presente vários fluidos biológicos, entre eles o sangue, o leite materno, secreções cervicovaginais e saliva, e é a causa de infeção mais comum no feto. A infeção pode ser congénita, normalmente assintomática, podendo o feto desenvolver sequelas neurossensoriais; perinatal ou pós-natal. Na infeção pós-natal, uma das causas é o contacto sexual e pode haver desenvolvimento de síndrome mononucleósica^{132,141}.

No sentido de diagnosticar infeção por CMV, o LAC realiza, em amostras de soro, um teste serológico para determinação dos anticorpos IgM e IgG anti-CMV. A presença de anticorpos IgM geralmente indicam a presença de uma infeção primária, enquanto que a presença de IgG indicia o contacto com o vírus^{132,141}. Dado o risco que o vírus pode ter para o feto, é aconselhado a realização deste teste às grávidas. A infeção congénita é

normalmente resultado de uma infecção primária. O LAC realiza um teste de avidéz aos anticorpos anti-CMV IgG para diferenciar uma infecção primária de não primária. Uma avidéz fraca é indicativo de infecção primária^{142,143}. A procura de anticorpos também é realizada em dados de sangue¹³².

5.1.1.7. Vírus de Epstein-Barr

Também pertencente à família Herpesviridae, o vírus de Epstein-Barr (EBV) tem o Homem como único reservatório e pode infectar linfócitos e células epiteliais. A mononucleose infecciosa, mais prevalente em regiões com boas condições de higiene, é uma das consequências da infecção por EBV e é muitas vezes denominada de “doença do beijo” devido ao facto da transmissão do vírus ocorrer no contacto íntimo com secreções orais. Na infecção primária, os linfócitos B são infectados e, durante a infecção latente, o EBV causa a sua imortalização. Em situações de imunossupressão, pode haver reativação que, regra geral, é assintomática e há eliminação do vírus na saliva. Enquanto uma grande percentagem dos adultos desenvolve mononucleose, as crianças infectadas são normalmente assintomáticas^{132,144,145}.

Existem várias análises que o LAC executa para diagnosticar infecção por EBV e mononucleose infecciosa e que serão de seguida enunciados. Através da realização de um hemograma a uma amostra de sangue é possível descobrir a presença de linfocitose (60% a 70% dos leucócitos são células mononucleares e 30% destas são linfócitos atípicos), e fazendo um esfregaço sanguíneo é possível observar linfócitos atípicos (células de Downey). Estas são as indicações mais precoces de infecção por EBV¹³². Depois, também se realiza a reação de Paul Bunnell, para pesquisa do anticorpo heterófilo, um anticorpo do tipo IgM não específico, numa amostra de soro. Este anticorpo é transitório e é detetado especialmente em fase aguda. Quando o teste é negativo, faz-se a pesquisa de anticorpos específicos anti-EBV, usando amostra de soro. Esses anticorpos são IgM e IgG contra o antigénio da cápside viral (VCA), IgG contra o antigénio precoce (EA) e IgG contra o antigénio nuclear (EBNA). Os primeiros anticorpos a aparecer são os IgG anti-EA, que são persistentes, e IgM anti-VCA, que são transitórios. Depois, aparecem os anticorpos do tipo IgG anti-VCA que são persistentes. Com a resolução da infecção (lise das células infectadas produtoras de vírus), há a formação de anticorpos anti-EBNA. Assim, anticorpos do tipo IgG anti-VCA e anti-EBNA, indicam uma infecção passada, enquanto que a presença de anticorpo IgM anti-VCA ou IgG anti-VCA com ausência de IgG anti-EBNA ou presença de anticorpos anti-VCA e anti-EA indicam infecção por EBV^{132,144-146}. A cinética dos anticorpos durante o curso da mononucleose infecciosa por EBV encontra-se esquematizada no anexo 6.

5.1.1.8. Vírus da rubéola

O ser humano é o único hospedeiro do vírus da rubéola, um vírus cuja transmissão se dá por contacto próximo através de aerossóis do trato respiratório. Em crianças, a infeção por este vírus é normalmente suave e de curta duração, enquanto que nos adultos é mais severa. Desta infeção resulta exantema maculopapular, que inicialmente aparece na zona da cara e depois se estende ao resto do corpo, seguido de linfadenopatia, mal estar e febre. Pode aparecer ainda conjuntivite e complicações como artralgia, encefalopatia e trombocitopenia com manifestações hemorrágicas^{147,148}. A incidência desta infeção foi drasticamente reduzida graças aos planos de vacinação^{149,150}.

A infeção por vírus da rubéola em grávidas está associada a aumento do risco de aborto espontâneo e a anormalidades congénitas. Se uma infeção primária pelo vírus da rubéola ocorrer nas primeiras 12 semanas de gravidez, este pode atravessar a placenta e desenvolver uma infeção fetal generalizada e persistente, resultando naquilo que se chama síndrome da rubéola congénita¹⁴⁷⁻¹⁵⁰.

O estudo serológico é realizado no LAC em amostras de soro com o intuito de quantificar anticorpos do tipo IgM e IgG antirrubéola. Para esse estudo, faz-se a quantificação de IgG no período de fase aguda e na fase de convalescença. Se se verificar um aumento dos seus títulos então há indícios de uma primo-infeção recente, que será confirmada com presença de anticorpo do tipo IgM. Caso os valores de IgG não se alterem e não esteja presente anticorpo do tipo IgM, isso é indicativo de imunidade ao vírus da rubéola^{132,147,148}. Estes testes são também executados no início da gravidez¹³².

5.1.2. Serologia de Infeções Parasitárias

5.1.2.1. *Toxoplasma gondii*

O agente etiológico da toxoplasmose é *Toxoplasma gondii* (TXG), um parasita intracelular obrigatório cosmopolita, cujo hospedeiro definitivo é o gato doméstico. A contaminação ocorre por ingestão de quistos ou ooquistos. A forma invasiva e observável na fase aguda, os taquisóitos, vai invadir vários órgãos e tecidos, incluindo a placenta, e há infeção do feto em grávidas infetadas. Em imunocompetentes raramente ocorrem infeções graves e normalmente não é necessário tratamento. Já em indivíduos imunocomprometidos, traz problemas graves a nível cerebral e na rejeição de transplantes. Um outro problema é a toxoplasmose congénita, resultante de uma primo-infeção durante a gravidez e que provoca lesões graves no feto. As lesões são tanto mais graves quanto mais cedo ocorrer a infeção

durante a gravidez. No primeiro e segundo trimestre, pode ocorrer morte fetal ou aborto^{132,151,152}.

O LAC procede a testes serológicos em amostras de soro, para deteção de anticorpos do tipo IgM anti-TXG e quantificação de IgG anti-TXG em grávidas no primeiro trimestre da gravidez. Se não se detetar nenhum dos anticorpos, então não há nem infeção, nem imunidade. Caso se detete só IgM numa primeira colheita e, numa segunda colheita, IgM e IgG, então trata-se de uma primo-infeção. No caso de se detetar apenas IgG em duas colheitas, não havendo alteração do seu valor, e não se ter detetado IgM, então a grávida está imune. Se o valor IgG da segunda colheita estiver aumentado, faz-se teste de avididade. Se a avididade for forte, então a infeção ocorreu há mais de quatro meses. Se for intermédia ou fraca, não se pode excluir possibilidade de infeção recente^{132,151-153}. É aconselhado à grávida fazer um diagnóstico pré-natal¹³². O algoritmo do estudo serológico de toxoplasmose na gravidez encontra-se esquematizado no anexo 7. O LAC faz ainda determinações de IgM, IgE e IgA em amostra de soro, importantes no apoio à determinação da consistência de uma infeção de aquisição recente¹³².

5.1.3. Serologia de Infeções Bacterianas

5.1.3.1. *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes é um estreptococo β -hemolítico do grupo A. Estas bactérias, transmitidas via gotículas respiratórias, são uma das mais patogénicas, contando com uma série de fatores de virulência que lhes permite afetar quase todos os órgãos e tecidos. Um desses fatores é a estreptolisina O (SLO), uma enzima lábil ao oxigénio com capacidade de lisar vários tipos de células, como eritrócitos, leucócitos e plaquetas¹³². Uma infeção por *Streptococcus pyogenes* em jovens entre os 5 e os 15 anos resulta muitas vezes em faringite, após a qual se pode desenvolver febre reumática, caracterizada por alterações inflamatórias envolvendo o coração, as articulações, os vasos sanguíneos e o tecido subcutâneo, e glomerulonefrite aguda^{132,154,155}.

Para confirmar febre reumática ou glomerulonefrite aguda resultante de faringite estreptocócica recente, pode-se fazer a medição de anticorpos anti-SLO^{132,154}. Estes anticorpos formam-se após três a quatro semanas de exposição ao micro-organismo e depois persistem¹³². O LAC faz a sua quantificação sérica.

5.1.3.2. *Helicobacter pylori*

Bactérias da espécie *Helicobacter pylori* estão associadas a gastrite, úlceras pépticas, adenocarcinoma gástrico e linfomas de células B do tecido linfoide associado a mucosa gástrica (MALT)^{132,156}. A transmissão ocorre por via fecal-oral, sendo que estas bactérias têm o ser humano como reservatório primário e a colonização do estômago persiste ao longo da vida se a pessoa não for submetida a tratamento¹³².

A serologia é um importante teste de rastreio para diagnóstico de infeção por *Helicobacter pylori*. Os anticorpos IgM desaparecem muito rapidamente no entanto, os anticorpos IgA e IgG desenvolvidos contra estas bactérias podem permanecer durante meses ou anos. Apesar de não permitir a discriminação entre infeção corrente ou passada, é útil na avaliação inicial de um indivíduo sintomático^{132,157,158}. O LAC faz a determinação sérica de anticorpos IgG contra *Helicobacter pylori*.

5.1.3.3. *Chlamydia trachomatis*

Clamidiose é uma doença sexualmente transmissível cujo agente etiológico é *Chlamydia trachomatis* (CT). Estas bactérias são parasitas intracelulares obrigatórios e infeções por estas, para além de clamidiose, podem causar: tracoma, linfogranuloma venéreo e uretrite. Na maioria das vezes não apresenta manifestações clínicas^{132,159}. Uma grávida infetada pode transmitir CT ao recém-nascido durante o parto, podendo causar-lhe conjuntivite e até pneumonia^{132,159,160}

Na área da serologia, o LAC faz a determinação semiquantitativa de IgG e qualitativa de IgA contra CT, usando amostras de soro. Os testes serológicos têm um valor de diagnóstico limitado pois não é possível distinguir facilmente entre uma infeção corrente e passada. No entanto, o aumento dos valores de IgG entre duas colheitas e a presença de IgA é sugestivo de uma infeção ativa^{132,161,162}. O LAC faz ainda a pesquisa antigénica do lipopolissacarídeo específico de CT em exsudados genitais, muito útil ao diagnóstico dada a sua alta especificidade e uma boa sensibilidade¹⁶³.

5.1.3.4. *Treponema pallidum*

Treponema pallidum (TP) é o agente infeccioso da sífilis, uma doença sexualmente transmissível que, no primeiro estágio, resulta numa infeção localizada no local de entrada, designada de cancro duro. Segue-se um segundo estágio, correspondente a um período muito contagioso, em que há uma disseminação das espiroquetas para outros tecidos. Um terceiro estágio, não infeccioso, poderá desenvolver-se muitos anos após a infeção primária, afetando vários órgãos. Uma grávida infetada pode transmitir a infeção ao feto durante a

gestação ou o parto, levando a um quadro de sífilis congénita que poderá levar à morte do feto^{132,164}.

Em resposta à infeção, o organismo produz anticorpos (também designados de reaginas) contra lípidos libertados pelas células danificadas durante o estágio inicial da doença e presentes na superfície celular dos treponemas¹³². O LAC faz o rastreio de infeção por TP, executando o teste VDRL (*veneral disease research laboratory*), um teste não treponémico, semiquantitativo, em que se pesquisa no soro do indivíduo a presença de anticorpos contra cardiolipina^{132,165,166}. Como teste confirmatório, o LAC executa ainda um teste treponémico, o TPHA (*Treponema pallidum hemagglutination*), um teste semiquantitativo em que se faz a pesquisa de anticorpos contra TP no soro do utente, através de uma reação com eritrócitos de galinha sensibilizados com antigénios solúveis da bactéria^{132,166}.

5.1.3.5. *Salmonella enterica*

Salmonella enterica serotipo Typhi e serotipo Paratyphi são os principais agentes da febre tifoide e têm como único reservatório o ser humano. A transmissão ocorre por via fecal-oral ou por ingestão de produtos contaminados. Pode ocorrer septicémia sem infeção intestinal, sendo o risco maior em crianças e imunodeprimidos. Após a infeção, as salmonelas podem colonizar a vesícula biliar e serem a causa de reinfeções a nível intestinal¹³².

Com o intuito de diagnosticar febre tifoide, o LAC realiza a reação de Widal, um teste de aglutinação que permite a pesquisa, em soro do utente, de anticorpos contra antigénio O e H de *Salmonella enterica* serotipo Typhi e de anticorpos contra antigénio A e B de *Salmonella enterica* serotipo Paratyphi. Uma vez que este teste pode sofrer reatividade cruzada com outros agentes infecciosos e, assim, levar a falsos positivos, é aconselhado fazer um teste confirmatório, como por exemplo cultura bacteriológica¹⁶⁷.

5.1.3.6. *Brucella*

O género *Brucella* inclui seis espécies, das quais quatro estão associadas a doenças no ser humano: *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis* e *Brucella canis*. Estas bactérias são parasitas intracelulares que infetam células do sistema reticulo-endotelial, aparecendo depois em órgãos como baço, fígado, medula óssea, nódulos linfáticos e rins. Após exposição à bactéria, forma-se um abscesso localizado, aparece bacteriémia e há instalação de sintomas iniciais de febre intermitente, mal estar, suores, fraqueza e emagrecimento. A transmissão da brucelose dá-se por contacto direto com animais infetados, por ingestão de produtos contaminados (por exemplo, leite não pasteurizado) ou por inalação¹³².

Recorrendo a testes serológicos é possível fazer um diagnóstico presuntivo¹³². O LAC realiza o teste de rosa bengala para pesquisa de anticorpos contra bactérias do género *Brucella*. O teste consiste numa reação de aglutinação, misturando o soro do doente com um antigénio de *Brucella* corado. Este teste será positivo se houver aglutinação. Outro teste executado é a reação de Wright, um teste semiquantitativo em que se mistura soro com um reagente contendo antigénio de *Brucella abortus*. Este teste permite determinar os títulos de anticorpos não só contra *Brucella abortus*, como contra *Brucella melitensis* e *Brucella suis*, pois apresentam reatividade cruzada com o antigénio usado. Se se verificar um grande aumento nos títulos de anticorpos, há presumivelmente uma infeção corrente. No entanto, será necessário efetuar testes confirmatórios (testes bacteriológicos ou outros testes serológicos)¹⁶⁸.

5.1.3.7. *Rickettsia*

As bactérias do género *Rickettsia* são parasitas intracelulares obrigatórios, transmitidos por vetores artrópodes e que apresentam tropismo para as células epiteliais. Estas podem ser divididas em dois grupos principais: grupo exantemático e grupo tifo. Ao grupo exantemático pertencem *Rickettsia rickettsii*, responsável pela febre das Montanhas Rochosas e *Rickettsia conorii*, responsável pela febre do escaro nodular. Ao grupo do tifo pertencem *Rickettsia typhi*, responsável por tifo murino e *Rickettsia prowazekii*, que é a causa de tifo epidémico. A maioria das rickettsioses causam doença sistémica com exantema, febre e cefaleias violentas^{132,169}.

Com o objetivo de diagnosticar infeção por bactérias do género *Rickettsia*, o LAC realiza um teste serológico para pesquisa de anticorpos contra *Rickettsia* através de reação cruzada com antigénios de *Proteus* (OX19, OXK e OX2). Este teste denomina-se reação de Weil-Felix e é um teste semiquantitativo que usa uma amostra de soro numa reação de aglutinação com antigénios bacterianos. Aglutinação com antigénio OX2 de *Proteus vulgaris* indica infeção por rickettsias do grupo exantemático; aglutinação com antigénio OX19 de *Proteus vulgaris* indica infeção por rickettsias do grupo tifo e aglutinação com o antigénio OXK de *Proteus mirabilis* indica infeção por *Orientia tsutsugamushi*, antigamente inserido no género *Rickettsia*, e que causa de tifo do mato¹⁶⁹⁻¹⁷¹. Em caso de aglutinação e como este teste não é específico, deve proceder-se ao despiste de uma eventual infeção urinária por *Proteus*. A falta de especificidade e pouca sensibilidade, fazem com que este teste não seja recomendado, sendo aconselhados testes sensíveis e específicos como a microimunofluorescência¹³².

5.2. Doenças Autoimunes

Para uma doença ser classificada como autoimune, tem de haver dano tecidual causado por uma resposta imunitária adaptativa a antígenos do próprio organismo. Este tipo de doenças é mediado por linfócitos autorreativos e/ou pelos seus produtos solúveis (citocinas pró-inflamatórias) e autoanticorpos responsáveis por inflamação e dano tecidual. A ação dos linfócitos desenvolve processos inflamatórios e de destruição celular crónicos que podem ser sistémicos ou específicos de órgãos. Uma doença sistémica diferencia-se de uma doença específica de um órgão por causar inflamação de múltiplos tecidos, isto porque os antígenos envolvidos podem ser encontrados em várias células do corpo e não só em células de um mesmo órgão ¹³¹.

5.2.1. Doenças Autoimunes sistémicas

5.2.1.1. Artrite Reumatoide

Artrite reumatoide (RA) é uma doença crónica caracterizada pela inflamação da membrana sinovial, a membrana que reveste as articulações. Com a progressão da doença, a membrana sinovial inflamada invade e danifica a cartilagem, provocando a erosão do osso. Estes doentes apresentam sintomas de dor crónica, perda de função e incapacidade ¹³¹.

Muitos indivíduos com esta patologia produzem autoanticorpos designados de fator reumatoide (FR), reativos contra determinantes antigénicos na região Fc das IgG. Estes autoanticorpos, geralmente do tipo IgM, formam complexos com as IgG em circulação e depositam-se nas articulações ¹⁰⁵. Usando este princípio, o LAC executa dois testes em amostra de soro: o teste de Waaler-Rose, um teste qualitativo, e o RA teste, que é semiquantitativo. O teste de Waaler-Rose faz a pesquisa de FR com base numa técnica de hemaglutinação de eritrócitos de carneiro sensibilizados com IgG de coelho e eritrócitos não sensibilizados. No RA teste faz-se a determinação dos títulos de FR com base numa reação de aglutinação de partículas de látex revestidas com IgG. Este último teste é mais sensível e, por isso, mais usado no rastreio de RA, enquanto que o teste de Waaler-Rose é menos sensível e menos específico sendo usado como apoio à confirmação da doença. É de referir que o FR não é específico de RA, podendo aumentar noutras patologias ¹⁷².

Durante o processo de inflamação, ocorre citrulinização de proteínas e parece haver uma maior capacidade de se formarem anticorpos contra essas proteínas na RA ¹⁷³. Usando uma amostra de soro, o LAC faz a quantificação de anticorpos contra o péptido citrulinado cíclico (PCC). Um outro teste é a quantificação de CRP sérica, um parâmetro que, como já

referi anteriormente, indica inflamação. A avaliação destes parâmetros em conjunto permite chegar ao diagnóstico de RA.

5.2.1.2. Espondilite Anquilosante

A espondilite anquilosante (AS) é uma doença inflamatória das articulações vertebrais caracterizada pela destruição da cartilagem. A presença do alelo HLA-B27 do complexo major de histocompatibilidade (MHC) está associado ao desenvolvimento de AS. Ainda assim, ser portador deste alelo não significa que a sua expressão leve ao desenvolvimento da doença mas apenas que estão mais propensas a desenvolvê-la ^{131,174}.

Usando uma amostra de soro, o LAC faz a deteção do alelo HLA-B27 para averiguar o risco de uma pessoa desenvolver AS.

5.2.1.3. Lúpus Eritematoso Sistémico

O lúpus eritematoso sistémico (LES) é uma doença reumática inflamatória crónica, resultante de fatores endocrinometabólicos, ambientais e genéticos ¹⁷², mais prevalente em mulheres de idades compreendidas entre os 20 e os 40 anos. O LES é caracterizado por febre, fraqueza, artrite, erupções cutâneas, pleurisia e disfunção renal. Nesta doença há produção de autoanticorpos contra uma vasta gama de antígenos tecidulares como dsDNA, histonas, eritrócitos, plaquetas, leucócitos e fatores de coagulação. A formação dos complexos imunitários entre autoanticorpos e antígenos nucleares leva à sua deposição nas paredes de pequenos vasos sanguíneos e ao desenvolvimento de uma reação de hipersensibilidade tipo III ^{105,175}.

No LAC, usando soro do doente, faz-se a determinação de anticorpos contra dsDNA, antígeno nuclear Smith (Sm) e contra nucleoproteínas. Os anticorpos anti-dsDNA são os mais específicos de LES, seguidos dos anticorpos anti-Sm, sendo, por último, os anticorpos antinucleares (ANA) os menos específicos, aumentando noutras patologias autoimunes ^{172,175}.

5.2.1.4. Síndrome de Sjögren

Síndrome de Sjögren (SS) é uma exocrinopatia inflamatória crónica que é uma doença autoimune marcada por secura dos olhos, boca e outras membranas mucosas. A doença pode evoluir das glândulas exócrinas para uma desordem sistémica, assim como para uma transformação linfoproliferativa das células B. A prevalência é maior nas mulheres e aumenta ao longo da vida adulta, podendo estar associada a outras doenças reumáticas ¹⁷².

Nesta doença há formação de autoanticorpos específicos de órgãos contra antígenos celulares dos ductos das glândulas salivares e eritrócitos, por exemplo. Por outro lado, também se formam autoanticorpos não específicos de órgãos como FR, ANA e anticorpos contra as ribonucleoproteínas Ro/SS-A e La/SS-B. Os anticorpos contra estas ribonucleoproteínas, apesar de também aparecerem no LES, são mais específicos de SS ¹⁷⁶.

Com o intuito de ajudar no diagnóstico de SS, o LAC faz análises ao soro para quantificar anticorpos anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B e ANA.

5.2.1.5. Esclerose Sistémica

A esclerose sistémica ou esclerodermia (ES) é uma doença reumática crónica de causa desconhecida, caracterizada por alterações vasculares, aumento da produção de tecido fibroso, quer na pele, quer em órgãos internos do corpo, e pela produção de autoanticorpos ^{172,177}.

Lesões microvasculares parecem estar na origem da produção de autoanticorpos e de citocinas pró-inflamatórias e pró-fibróticas pelas células imunitárias. Estes autoanticorpos, podem ser ANA, antitopoisomerase I (ou anti-Scl70), anticentrómero (ACA) e anti-RNA polimerase III ^{172,177}.

Para ajudar ao diagnóstico de ES, o LAC executa a quantificação de anticorpos anti-Scl70 e ACA, usando o soro do doente como amostra. Ambos os testes apresentam uma grande especificidade para ES ^{172,178}.

5.2.1.6. Polimiosite e Dermatomiosite

Polimiosite (PM) é uma doença inflamatória do músculo esquelético. É caracterizada pela presença de infiltrados inflamatórios no músculo esquelético que levam a necrose e degeneração das fibras musculares. Quando a doença é acompanhada de alterações cutâneas designa-se dermatomiosite. Serologicamente, são caracterizadas pela presença de autoanticorpos contra RNA transportador (tRNA)- aminoacil sintetases ^{179,180}.

O autoanticorpo contra Jo I, uma histidil-tRNA sintetase ^{179,180}, é doseado pelo LAC em amostra de soro com o intuito de diagnosticar PM/Dermatomiosite.

5.2.1.7. Doença Mista do Tecido Conjuntivo

A doença mista do tecido conjuntivo (DMTC) é descrita como uma entidade com uma combinação de características associadas às doenças SLE, ES, PM e RA e títulos elevados de anticorpos contra ribonucleoproteínas (RNP), especialmente contra a pequena ribonucleoproteína nuclear UI (UI-snRNP). As manifestações clínicas mais comuns da

doença são: fenómeno de Raynaud, artralgias, inflamação das articulações, disfunções no esófago, fraqueza muscular e dedos inchados^{181,182}.

O diagnóstico de DMTC, para além de critérios clínicos, requer critérios serológicos¹⁸¹. A nível serológico, a proteína de 70 kDa da UI-snRNP (snRNP 70) é um dos principais determinantes da resposta dos anticorpos contra a UI-snRNP. Os primeiros anticorpos desenvolvidos são contra snRNP 70 e só depois contra as restantes proteínas de UI-snRNP. Anticorpos anti-snRNP 70 e anti-UI-snRNP podem desenvolver-se em LES com títulos baixos, enquanto que, num caso de DMTC, os títulos estarão elevados^{183,184}. O LAC quantifica os anticorpos anti-snRNP 70 em amostra de soro para apoio do diagnóstico de DMTC.

5.2.1.8. Vasculite

Vasculite é definida como a presença de inflamação nos vasos sanguíneos. Esta inflamação pode levar a estenose/oclusão do vaso sanguíneo, provocando isquémia do órgão ou desgaste do vaso sanguíneo, resultando na formação de um aneurisma ou hemorragia. Uma série de características podem estar associadas, podendo-se dividir em vasculites secundárias, que ocorrem em associação com outras doenças subjacentes, e vasculites primárias, que são de causa desconhecida mas em que a vasculite é a causa patológica na base do dano tecidual^{185,186}.

Vários mecanismos imunológicos parecem estar subjacentes a este processo patológico e anticorpos anticitoplasma dos neutrófilos (ANCA) têm sido associados ao seu desenvolvimento, sendo a sua pesquisa importante no diagnóstico de vasculite. Foram identificados dois tipos de ANCA em doentes com vasculite: ANCA contra a proteinase 3 (PR3), uma serina protease presente no citoplasma dos neutrófilos e ANCA contra uma enzima dos neutrófilos, a mieloperoxidase (MPO)¹⁸⁵⁻¹⁸⁷.

O LAC faz então a determinação de ANCA e de anticorpos anti-PR3 e anti-MPO em soro. Enquanto que os ANCA podem estar associados a outros processos patológicos, os anticorpos anti-PR3 e anti-MPO são mais específicos de vasculite, sendo os anti-PR3 mais particulares de granulomatose de Wegener (WG)¹⁸⁵⁻¹⁸⁷.

5.2.1.9. Granulomatose de Wegener

A granulomatose de Wegener (WG) está entre as formas mais comuns de vasculite sistémica e apresenta alta taxa de mortalidade em doentes que não recebam tratamento apropriado. Esta doença é caracterizada patologicamente por lesões granulomatosas

necrozantes no trato respiratório, glomerulonefrite e vasculite envolvendo artérias de pequeno e médio tamanho, afetando assim outros órgãos¹⁸⁸⁻¹⁹⁰.

Autoanticorpos contra PR3 parecem estar na origem do processo inflamatório subjacente. Dessa forma, a determinação de anticorpos anti-PR3 tem sido usada no apoio ao diagnóstico clínico dada a sua especificidade^{172,189,190}. Nesse sentido, o LAC procede à determinação destes anticorpos em amostra de soro.

5.2.2. Doenças Autoimunes Específicas de Orgãos

5.2.2.1. Anemia Hemolítica Autoimune

Anemia hemolítica autoimune (AHAI) é uma anemia causada pela produção de autoanticorpos contra os eritrócitos, levando à sua lise. Podem distinguir-se diferentes formas de AHAI com base no processo autoimune envolvido: AHAI a quente, quando o processo é mediado por autoanticorpos, normalmente do tipo IgG, com reatividade máxima à temperatura corporal (37°C); e AHAI a frio, mediado por anticorpos, normalmente do tipo IgM, com máxima reatividade a temperaturas inferiores à temperatura corporal. Se este processo autoimune for o resultado de outras doenças autoimunes, designa-se de AHAI secundária¹⁹¹⁻¹⁹⁴.

Para além de sinais e sintomas clínicos, o diagnóstico é apoiado por parâmetros bioquímicos, como bilirrubina indireta e LDH séricos e urobilinogénio urinário; parâmetros hematológicos, como hemograma e esfregaço sanguíneo, e ainda um teste imunológico, o teste da antiglobulina humana (ou Teste de Coombs) direto (DAT), um teste baseado numa reação de hemaglutinação, específico e de grande importância no diagnóstico de AHAI¹⁹¹⁻¹⁹⁴. Esta investigação de AHAI é realizado no LAC. Outras situações de processos hemolíticos mediados por uma reação imunológica são as transfusões e a gravidez. Após uma primeira transfusão ou gravidez, podem-se desenvolver aloanticorpos que poderão reagir num segundo evento. Neste sentido, é realizado um teste de antiglobulina humana indireto, para deteção de anticorpos existentes no soro dos utentes contra eritrócitos de antigénio conhecido¹⁹¹. No LAC, este último teste é realizado a grávidas durante o primeiro trimestre de gravidez, para detetar anticorpos no sangue de mães Rh(-) sensibilizadas que possam originar anemia hemolítica no recém-nascido.

5.2.2.2. Doença Celíaca

Doença celíaca (DC) é uma doença inflamatória do trato gastrointestinal, que resulta de uma alta reatividade imunológica ao glúten ingerido na dieta em pessoas geneticamente

suscetíveis. O tratamento efetivo é feito com uma dieta livre de glúten e que leva a diminuição das complicações da DC ¹⁹⁵⁻¹⁹⁸. A intolerância verificada é, concretamente, em relação à gliadina, um dos péptidos que compõe o glúten, havendo a produção de anticorpos contra esse péptido na DC. Outros anticorpos produzidos nesta doença, são autoanticorpos contra o endomísio, mais especificamente contra a enzima transglutaminase tecidual (tTG), que parece estar diretamente relacionada com a patogénese da doença ¹⁹⁶⁻¹⁹⁹.

O diagnóstico definitivo é feito pelas características histológicas de uma biópsia intestinal. No entanto, os testes serológicos tornaram a DC mais facilmente detetável ¹⁹⁶⁻¹⁹⁹. O LAC faz a quantificação em soro dos anticorpos do tipo IgA e IgG anti gliadina e anti tTG. Os anticorpos do Tipo IgA contra anti-tTG são muito específicos e, associados aos IgA anti gliadina, mais usados na monitorização da aderência do doente à dieta livre de glúten, aumentam ainda mais a especificidade. A deficiência em IgA é uma condição mais comum em doentes com DC do que na população em geral ¹⁹⁶⁻¹⁹⁹. Nesse sentido, o LAC determina os níveis séricos de IgA. Os anticorpos do tipo IgG contra a gliadina e tTG são então usados em caso de deficiência em IgA.

5.2.2.3. Doença da Tireoide

A tireoide produz hormonas que controlam vários processos biológicos importantes, nomeadamente o controlo da taxa metabólica basal e a termogénese ⁶⁴. Existem duas doenças autoimunes associadas à tireoide: a doença de Graves (GD) e a tiroidite de Hashimoto (TH). A GD é caracterizada por hipertiroidismo associado a bócio difuso, oftalmopatia e mixedema peritibial. A TH é caracterizada por hipotiroidismo associado a bócio difuso. Nestas doenças autoimunes, os anticorpos produzidos têm como principais alvos: os recetores de TSH, a tiroglobulina (Trg), uma proteína tiroideia que tem como função armazenar as hormonas da tireoide, e a peroxidase da tireoide (TPO), uma enzima com a função de biossíntese das hormonas tiroideias ^{64,198,200}.

No diagnóstico deste dois tipos de doença, os anticorpos contra os recetores de TSH revelaram-se mais específicos de GD, não apresentando grande utilidade clínica no diagnóstico de TH. Os outros dois autoanticorpos mostraram-se úteis no diagnóstico das duas doenças, sendo que os anticorpos anti-TPO são aqueles que se correlacionam mais fortemente com doença clínica ativa e, por isso, a sua quantificação é a mais recomendada no rastreio destas doenças autoimunes ²⁰⁰. O LAC determina os autoanticorpos anti-TPO e anti-Trg em soro do doente. Para além de determinação dos anticorpos, como já visto anteriormente, o LAC também faz quantificação das hormonas da tireoide e da TSH, para o estudo da função tiroideia e que aqui nos permite diferenciar a etiologia da doença.

5.3. Alergias

Por vezes, o sistema imunitário falha em proteger o hospedeiro adequadamente ou direciona as suas atividades de forma errada, causando desconforto, doença debilitante ou até mesmo morte. Um exemplo dessas disfunções imunológicas é a alergia, que não é mais que uma reação de hipersensibilidade resultante de uma resposta inapropriada do sistema imunitário contra antigénios muitas vezes comuns, como o pólen das plantas, alimentos ou pelo de animais ¹⁰⁵. Um primeiro contacto com o alérgeno leva à produção de anticorpos, normalmente do tipo IgE, e sensibilização de mastócitos. Num segundo contacto, o alérgeno induz os mastócitos a libertarem histamina e outras moléculas pró-inflamatórias, havendo também participação de eosinófilos e basófilos no processo. Estas substâncias, causadoras de irritação e inflamação, levam ao aparecimento de sintomas como espirros, pieira, dificuldade em respirar (asma), dermatite ou erupções cutâneas (urticária) e, em casos mais extremos, estrangulamento por bloqueio das vias aéreas devido à inflamação ^{105,201,202}.

Na base etiológica das reações alérgicas podem estar causas ambientais e genéticas. Quando há uma tendência pessoal ou familiar para produzir anticorpos IgE em resposta a doses baixas de alérgenos e a desenvolver sintomas típicos tais como asma, rinoconjuntivite ou eczema / dermatite, designamos este fato de atopia ²⁰¹. O estudo alergológico é essencial para um correto diagnóstico e é o pré-requisito para entender a doença e começar um tratamento específico em crianças com menos de quatro anos de alto risco para desenvolvimento de doença alérgica ²⁰²⁻²⁰⁴.

Quando se suspeita de uma etiologia alérgica perante sintomas típicos, deve-se fazer um rastreio. O LAC realiza testes para diferenciar hipersensibilidade atópica ou não atópica através dos sistemas Phadiatop® e Phadiatop® Infant, dedicado a crianças com idade inferior a quatro anos. Estes sistemas pesquisam IgE específica a alérgenos de grupos diferentes. Um resultado negativo indica que os sintomas não são causados por alérgenos comuns e devem ser exploradas outras possibilidades. Um resultado positivo confirma a presença de alergia e o estudo deve prosseguir com a identificação específica do(s) alérgeno(s) em causa. O próximo passo será executar o teste multialérgénico que mede a IgE específica a um conjunto de alérgenos de um mesmo grupo. Identificado o grupo de alérgenos responsáveis, realiza-se o teste alérgénico que mede a IgE específica a um dado alérgénio. Estes testes são realizados em amostra de soro do paciente. No LAC, realizam-se testes a vários grupos de alérgenos: alimentos, gramíneas, árvores, ervas infestantes, epitélios e proteínas animais, ácaros, pó de casa, insetos, microorganismos, ocupacionais e fármacos. No anexo 8 encontra-se representado o estudo alergológico no diagnóstico laboratorial. O LAC determina ainda as quantidades sérica de IgE total para averiguar a presença de doença alérgica.

6. A MINHA EXPERIÊNCIA

Nos quatro meses que estive no LAC, realizei uma série de tarefas nas suas quatro valências principais. Neste estágio, tive a oportunidade de exercer funções técnicas como realização do CQI e processamento de amostras. Apesar de não me ter sido possível fazer a validação de resultados, pude observar como se processa a validação informática destes.

É complicado estipular o tempo que permaneci em cada uma das valências do LAC, já que as minhas tarefas ao longo do dia iam alternando pelas diferentes áreas. Dado que o LAC é um laboratório privado e, mais que um laboratório público, tem de satisfazer por completo o cliente para se manter no mercado, todo o processo analítico foi-me sendo mostrado conforme a oportunidade de tempo ia surgindo e conforme a valência onde se encontrava o meu tutor, a diretora técnica Dra. Graça Lopes ou outro técnico superior responsável.

Assim, durante a manhã, presenciei e aprendi a realizar um vasto leque de tarefas. Durante esta altura do dia, realizei a verificação dos reagentes e o CQI dos aparelhos automáticos, na área da hematologia, e dos aparelhos A.Menarini Aution MAX AX-4280 e ARKRAY Adams A1c HA-8160, na área da bioquímica. Na área da microbiologia, pude observar e interpretar culturas microbiológicas preparadas no dia anterior, e fazer a respetiva visualização microscópica dos esfregaços após tê-los corado por coloração de Gram ou Kinyoun-Gabett, no caso de se tratarem de micobactérias. No que respeita à parasitologia, realizei exame parasitológico de fezes, sem e após concentração por técnica de Willis modificada, através de exame direto e exame após coloração com lugol. A Dra Graça Lopes concedeu-me o acesso às amostras de fezes e esfregaços sanguíneos da AEQ para que pudesse pesquisar a eventual presença de parasitas nessas amostras. Na valência da hematologia, pude corar os esfregaços sanguíneos pela técnica de May-Grunwald-Giemsa, para posterior estudo morfológico de sangue periférico, ou por azul novo de metileno, para contagem de reticulócitos.

Ao início da tarde, chegavam ao laboratório as amostras provenientes dos vários postos de colheita. Nesta fase, ajudei a registar e medir as temperaturas a que as amostras eram transportadas e a separar e organizar as amostras para a sua posterior distribuição pelas diferentes áreas do LAC onde as amostras seriam processadas de seguida.

No sentido de acompanhar melhor todo o processo analítico, decidi trabalhar numa área principal, na qual passaria a maior parte do tempo, para observar os testes e processamento das amostras.

De janeiro até meados de fevereiro, estive colocado na área da hematologia, onde tive oportunidade de preparar esfregaços sanguíneos para depois serem corados e observados ao microscópio. Nesta área, fiz ainda a verificação da conformidade das amostras e a sua introdução nos respetivos aparelhos automáticos na realização de hemogramas, velocidade de sedimentação e tempo de coagulação.

De meados de fevereiro até ao início de abril, dediquei-me à área da microbiologia. Aqui, verifiquei a conformidade dos contentores e das amostras e pude realizar culturas de amostras de urina, exsudatos vaginais, fezes, fâneros e expetorações para pesquisa de eventual infeção por bactérias ou fungos. Para além de ter preparado esfregaços com coloração de Gram e de Kinyoun-Gabett, preparei esfregaços de exsudatos vaginais para realizar posteriormente o exame direto. Também preparei suspensões para identificação definitiva e antibiograma recorrendo ao aparelho Biomérieux Vitek 2.

No mês de abril, concentrei-me mais na área da bioquímica e da imunologia. Na bioquímica estive responsável por separar, registar e verificar a conformidade das amostras de urina de 24 horas e pela sua introdução no aparelho Roche/Hitachi Modular Analytics para análise das mesmas. Estive ainda responsável por verificar e assinalar quais os parâmetros pedidos para análise. Também observei todos os processos relativos ao funcionamento dos equipamentos Sebia Hydrasys e Hydraplus e o processamento e interpretação do perfil electroforético de proteínas séricas. Fiquei ainda responsável pelo processamento de amostras para quantificação de hemoglobina glicosilada no equipamento ARKRAY Adams A1c HA-8160. Outro equipamento com o qual trabalhei foi o A.Menarini Aution MAX AX-4280 para exame físico e químico de amostras de urina. No seguimento deste processo de urinálise, preparei e observei sedimentos urinários. Realizei ainda testes imunocromatográficos para pesquisa de sangue oculto nas fezes e hCG e drogas de abuso em amostras de urina. Na valência de imunologia tive a oportunidade de verificar o modo de operar do equipamento Pharmacia Diagnostics UniCAP 100 E no estudo de autoimunidade e doenças alérgicas. Tive ainda a possibilidade de realizar as técnicas manuais usadas no campo da serologia infecciosa e da autoimunidade e interpretação dos respetivos resultados.

7. CONCLUSÃO

Os laboratórios de análises clínicas têm vindo a ganhar cada vez mais importância no apoio ao diagnóstico, sendo que isso ficou provado pelos diversos parâmetros determinados pelo LAC, que abordei ao longo deste trabalho e que nos dão evidências fundamentadas e rigorosas sobre a existência de um estado patológico. No LAC, associado a essas determinações rigorosas, há um trabalho com qualidade que permite obter resultados de confiança e, assim, satisfazer as exigências dos clientes, promovendo dados para um diagnóstico acertado. Na altura em que terminei o meu estágio, o LAC tinha em vista a implementação de um sistema de trabalho rotativo que iria permitir aos seus funcionários manter e desenvolver aptidões multidisciplinares.

No âmbito geral, penso que a evolução dos laboratórios de análises clínicas se dará no sentido de promover o aumento da eficiência e da produtividade, a redução de custos e a promoção de um trabalho com cada vez mais qualidade, por forma a fornecer uma maior qualidade dos dados. Nesse sentido, para além do aparecimento de novas metodologias mais sensíveis e específicas que permitirão a contínua diminuição dos erros associados ao processo analítico, a padronização de metodologias e a correção de comportamentos técnicos permitirá universalizar valores de referência e avaliar resultados de confiança, conhecendo o erro total associado a esse resultado.

Apesar de, no final do meu estágio, sentir que não me possibilitaram uma participação tão ativa na realização das várias tarefas do LAC, sei que o que pude realizar foi da maior importância para cimentar todos os conhecimentos que fui adquirindo ao longo do mestrado em Análises Clínicas. Gostaria de ter tido um papel mais ativo nas tarefas das áreas da bioquímica e da imunologia, uma vez que são desafiantes em termos das doenças que abrangem, das análises que podem ser feitas no LAC e da importância que estas têm no auxílio do diagnóstico clínico. Ainda que não tenha tido a possibilidade de entrar em contacto direto com o diagnóstico de várias patologias, decidi ainda assim abordá-las devido ao interesse que elas me despertaram.

No entanto, é de realçar a importância que este estágio teve como um primeiro contacto com o mercado de trabalho na área do mestrado, permitindo perceber as rotinas, os custos e as dificuldades subjacentes ao trabalho próprio de um laboratório de análises clínicas, para além da experiência técnica que este nos fornece. Observar todo o processo de tratamento das amostras até se obter um resultado final permitiu perceber cuidados que se devem ter com as amostras, para que estas não se alterem e não levem a um diagnóstico errado.

Num jeito platónico, a melhoria do mestrado em Análises Clínicas passaria por aumentar a componente prática através de rotações em laboratórios hospitalares a acompanhar a matéria teórica abordada. Certamente, este complemento à excelente carga teórica de que o mestrado dispõe levaria a uma maior familiarização de rotinas e ambiente na área clínica, aperfeiçoamento crítico na resolução de casos clínicos e, portanto, a uma melhor formação profissional, permitindo-nos uma maior autonomia e espírito crítico durante o estágio. Apesar desta ideia poder ser uma mais valia, torna-se, muito certamente, inoportável face à atual conjuntura económica, e respetivo financiamento universitário, dados os custos que esta medida albergaria.

8. BIBLIOGRAFIA

1. BERGER, D. - **A brief history of medical diagnosis and the birth of the clinical laboratory**. *Medical Laboratory Observer*. 31:7 (1999) 28-30, 32, 34-40.
2. BÜTTNER, J. - **The origin of clinical laboratories**. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*. 30:10 (1992) 585-593.
3. BERNARD, C. - **Introduction à l' étude de la médecine expérimentale**. Paris: JB Baillière et Fils, 1865.
4. DELWICHE, F. A. - **Mapping the literature of clinical laboratory science**. *Journal of the Medical Library Association*. 91:3 (2003) 303-310.
5. ROSENFELD, L. - **Clinical chemistry since 1800: growth and development**. *Clinical chemistry*. 48:1 (2002) 186-97.
6. NAUNYN, B.; COWEN, D. L. - **Memories, thoughts, and convictions** [Em linha]. Canton, M.A.: Science History Publications, 1994. Disponível em <http://forward.library.wisconsin.edu/catalog/ocm29797525>
7. BURKE, M. D. - **Laboratory medicine in the 21st Century**. *American Journal of Clinical Pathology*. 114:6 (2000) 841-846.
8. TRUCHAUD, A., *et al.* - **Automated System Features**. In WILD, D. (Ed.) *The Immunoassay Handbook*. 3ª ed. [S.l.]: Elsevier, 2005. p.338-342.
9. MANDY, F. F., BERGERON, M.; MINKUS, T. - **Principles of flow cytometry**. *Transfusion Science*. 16:4 (1995) 303-314.
10. ULLMAN, M. D.; BURTIS, C. A. - **Chromatography**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.112-127.
11. HOLME, D. J.; PECK, H. - **Analytical Biochemistry**. 3ª ed. [S.l.]: Prentice Hall, 1998. ISBN 978-0582294387.
12. SKOOG, D. A. *et al.* - **Fundamentals of Analytical Chemistry**. 9ª ed. Belmont: Brooks/Cole, 2013. ISBN 978-0-495-55828-6.
13. FORSTER, R. J.; BERTONCELLO, P.; KEYES, T. E. - **Electrogenerated Chemiluminescence**. *Annual Review of Analytical Chemistry*. 2 (2009) 359-385.
14. YOLKEN, R. H.; STOPA, P. J. - **Enzyme-linked fluorescence assay: Ultrasensitive solid-phase assay for detection of human rotavirus**. *Journal of Clinical Microbiology*. 10:3 (1979) 317-321.
15. KRICKA, L. J.; PARK, J. Y. - **Optical Techniques**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.63-83.
16. BARER, R.; JOSEPH, S. - **Refractometry of Living Cells. Part I. Basic Principles**. *Quarterly Journal of Microscopical Science*. 95:4 (1954) 399-423.
17. PAULA, R. O. DE; LOPES, A. DE F.; FARIA, R. M. D. DE. - **Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica**. *Revista Médica de Minas Gerais* 18:2 (2008) 116-122.
18. KARCHER, R. E.; LANDERS, J. P. - **Electrophoresis**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.102-111.
19. PAEK, S. H. *et al.* - **Development of rapid one-step immunochromatographic assay**. *Methods*. 22:1 (2000) 53-60.
20. WISDOM, G. B. - **Enzyme-Immunoassay**. *Clinical Chemistry*. 22:8 (1976) 1243-1255.
21. BURMESTER, È.; PEZZUTTO, A. - **Color Atlas of Immunology**. 1ª ed. Stuttgart/New York: Thieme, 2003. ISBN 9783131267412.

22. GIASUDDIN, A. S. M. - **Polymerase chain reaction technique: fundamental aspects and applications in clinical diagnostics.** Journal of Islamic Academy of Sciences. 8:1 (1995) 29-32.
23. WILKINSON, I. - **History of Clinical Chemistry Wöhler & the Birth of Clinical Chemistry.** Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 13:4 (1998) 1-5.
24. DOMINICZAK, M. H. - **Contribution of biochemistry to medicine: medical biochemistry and clinical biochemistry.** Encyclopedia of Life Support Systems, atual. 2011 [Consult. 22 Ago. 2013]. Disponível na internet em <http://www.eolss.net>.
25. PORTUGAL. Ministério da Saúde - **Doenças Cardiovasculares.** [Em linha], Doenças do Aparelho Circulatório, atual. 2009. [Consult. 21 Ago. 2013]. Disponível em <http://www.portaldasaude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/ministeriosaude/doencas/doencas+do+aparelho+circulatorio/doencascardiovasculares.html>
26. ARA, S. - **A literature review of cardiovascular disease management programs in managed care populations.** Journal of managed care pharmacy. 10:4 (2004) 326-344.
27. MATHENY, M. *et al.* - **Systematic Review of Cardiovascular Disease Risk Assessment Tools.** Rockville: [s.n.] Agency for Healthcare Research and Quality, 2011.
28. GUTTMACHER, A. E.; COLLINS, F. S. - **Cardiovascular Disease.** The New England Journal of Medicine. 349:1 (2003) 60-72.
29. APPLE, F. S., *et al.* - **National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for Standardization of Markers of Cardiac Damage Laboratory Medicine Practice Guidelines: Analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes.** Circulation. 115:13 (2007) e352-e355.
30. APPLE, F. S.; JAFFE, A. S. - **Cardiovascular Disease.** In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.614-630.
31. NIGAM, P. K. - **Biochemical markers of myocardial injury.** Indian Journal of Clinical Biochemistry. 22:1 (2007) 10-17.
32. LUSIS, A. J. - **Atherosclerosis.** Nature. 407:6801(2000) 233-241.
33. COLPO, A. - **LDL Cholesterol: “ Bad ” Cholesterol , or Bad Science?.** Journal of American Physicians and Surgeons. 10:3 (2005) 83-89.
34. VERHOYE, E.; LANGLOIS, M. R. - **Circulating oxidized low-density lipoprotein: a biomarker of atherosclerosis and cardiovascular risk?.** Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 47:2 (2009) 128-137.
35. KOULOURIS, S. N. - **HDL-Cholesterol: Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Effects.** Hellenic Journal of Cardiology. 45 (2004) 324-330.
36. FONTES, J. D. *et al.* - **Clinical correlates of change in inflammatory biomarkers: The Framingham Heart Study.** Atherosclerosis. 228:1 (2013) 217-223.
37. KONES, R. - **Rosuvastatin, inflammation, C-reactive protein, JUPITER, and primary prevention of cardiovascular disease - a perspective.** Drug Design, Development and Therapy. 4 (2010) 383-413.
38. ABD, T. T. *et al.* - **The role of C-reactive protein as a risk predictor of coronary atherosclerosis: implications from the JUPITER trial.** Current atherosclerosis reports. 13:2 (2011) 154-161.

39. KAPLAN, J. M.; FIRST, M. R. - **Renal Function**. In KAPLAN, L.; PESCE, A. (Eds.) *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. 5ª ed. [S.l.]: Mosby Elsevier, 2009. ISBN 9780323036580. p. 567-585
40. DELANEY, M. P.; PRICE, C. P.; LAMB, E. J. - **Kidney Function and Disease**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.631-654
41. TRAYNOR, J. *et al.* - **How to measure renal function in clinical practice**. *British Medical Journal*. 333:7571 (2006) 733-737
42. LAMB, E. J.; PRICE, C. P. - **Creatinin, Urea and Uric Acid**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.363-372
43. STRASINGER, S. K.; LORENZO, M. S. Di. - **Urinalysis and Body Fluids**. 5ª ed. Philadelphia: F.A. Davis Company, 2008. ISBN 978-0-8036-1697-4.
44. DUFOUR, D. R. - **The Liver: function and chemical pathology**. In KAPLAN, L.; PESCE, A. (Eds.) - *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. 5ª ed. [S.l.]: Mosby Elsevier, 2009. ISBN 9780323036580. p. 586-600
45. Dufour, D. R. - **Liver Disease**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.675-695
46. LIMDI, J. K.; HYDE, G. M. - **Evaluation of abnormal liver function tests**. *Postgraduate medical journal*. 79:932 (2003) 307-312.
47. MCKENNA, J. P. - **Liver Function Test Abnormalities**. In MENGEL, M.; SCHWIEBERT, L. (Eds.) - *Family Medicine: Ambulatory Care and Prevention*. 5ª ed. [S.l.]: McGraw-Hill, 2009. ISBN 9780071494564. p.296-300.
48. THAPA, B. R.; WALIA, A. - **Liver function tests and their interpretation**. *Indian Journal of Pediatrics*. 74:7 (2007) 663-671.
49. HIGGINS, T.; BEUTLER, H.; DOUMAS, B. T. - **Hemoglobin, Iron and Bilirrubin**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.509-526
50. SMITH, M. E.; MORTON, D. G. - **The Digestive System: Basic Science and Clinical Conditions**. 1ª ed. [S.l.]: Churchill Livingstone, 2001. ISBN 9780443062452.
51. Fisher, W. E. *et al.* - **Pancreas**. In BRUNICARDI, F. *et al.* (Eds.) - *Schwartz's Principles of Surgery*. 9ª ed. New York: McGraw-Hill, 2010. ISBN 978-0-07-1547703. p.1167-1244
52. LANKISCH, P. G. - **Exocrine pancreatic function tests**. *Gut*. 23:9 (1982) 777-798.
53. BECK, I. T. - **The role of pancreatic enzymes in digestion**. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 26:3 (1973) 311-325.
54. PANTEGHINI, M.; BAIS, R. - **Enzymes**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.317-336.
55. DATTA, H. K. *et al.* - **The cell biology of bone metabolism**. *Journal of Clinical Pathology*. 61:5 (2008) 577-587.
56. VESPER, H. W. - **Analytical and Preanalytical Issues in Measurement of Biochemical Bone Markers**. *Laboratory Medicine*. 36:7 (2005) 424-429.
57. VASIKARAN, S. *et al.* - **Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards**. *Osteoporosis International*. 22:2 (2011) 391-420.

58. ENDRES, D. B.; RUDE, R. K. - **Disorders of Bone**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry. 6^a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.711-734.
59. BAKER, S. B.; WORTHLEY, L. I. G. - **Basic sciences review: The Essentials of Calcium , Magnesium and Phosphate Metabolism. Part I . Physiology**. Critical Care and Resuscitation. 4 (2002) 301-306.
60. PINCUS, M. R. *et al.* - **Clinical Enzymology**. In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.274-295.
61. LENORA, J.; IVASKA, K. K.; GERDHEM, P. - **Use of Bone Turnover Markers in Osteoporosis**. Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism. 8:1 (2010) 1-14.
62. KLEMM, K. M.; KLEIN, M. J. - **Biochemical markers of bone metabolism**. In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.193-209.
63. NEWSOME, S.; HICKMAN, P. E. - **Thyroid**. In KAPLAN, L.; PESCE, A. (Eds.) - Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation. 5^a ed. [S.I.]: Mosby Elsevier, 2009. ISBN 9780323036580. p. 948-969
64. DEMERS, L. M. - **Thyroid Disorders**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry. 6^a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.766-779.
65. SALVATORE, D. *et al.* - **Thyroid Physiology and Diagnostic Evaluation of Patient with thyroid disorders**. In MELMED, S. *et al.* (Eds.) - Williams Textbook of Endocrinology. 12^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-4377-01324-5. p.327-361.
66. JOSHI, S. R. - **Laboratory evaluation of thyroid function**. The Journal of the Association of Physicians of India. 59 (2011) 14-20.
67. DUFOUR, D. R. - **Laboratory tests of thyroid function: uses and limitations**. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. 36:3 (2007) 579-594.
68. SHIVARAJ, G. *et al.* - **Thyroid function tests: a review**. European review for medical and pharmacological sciences. 13:5 (2009) 341-349.
69. MANSOURIAN, A. R. - **Metabolic Pathways of Tetraiodothyronine and Triiodothyronine Production by Thyroid Gland: A Review of Articles**. Pakistan Journal of Biological Sciences. 14:1 (2011) 1-12.
70. GUBER, H. A.; FARAG, A. F. - **Evaluation of Endocrine Function**. In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.365-401.
71. DAYAN, C. M. - **Interpretation of thyroid function tests**. Lancet. 357:9256 (2001) 619-624.
72. FRAIETTA, R.; ZYLBERSTEJN, D.; ESTEVES, S. - **Hypogonadotropic Hypogonadism Revisited**. Clinics. 68:S1 (2013) 81-88.
73. COOK, J. D. - **Reproductive Endocrinology in Infertility**. Laboratory Medicine. 35:9 (2004) 558-569.
74. FODE, M., *et al.* - **Disorders of the Male Reproductive Tract**. In MCPHEE, S. J.; HAMMER, G. D. (Eds.) - Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine. 6^a ed. [S.I.]: McGraw-Hill, 2010. ISBN 978-0-07-162167-0. p.629-654.
75. GRONOWSKI, A. M. - **Reproductive Disorders**. In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry. 6^a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.780-801.

76. HAFEZ, B. & HAFEZ, E. S. E. - **Andropause: Endocrinology, Erectile Dysfunction, and Prostate Pathophysiology.** *Systems Biology in Reproductive Medicine.* 50:2 (2004) 45-68.
77. AMUDHA, M. *et al.* - **An Updated Overview on Causes, Diagnosis and Management of Infertility.** *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.* 18:1 (2013) 155-164.
78. RANDOLPH, J. F. - **The endocrinology of the reproductive years.** *The Journal of Sexual Medicine.* 5:10 (2008) 2274-2281.
79. HOLT, R. I. G.; HANLEY, N. A. - **Essential Endocrinology and Diabetes.** 6^a ed. [S.l.]: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 978-1-4443-3004-5.
80. PURCELL, K. J.; TAYLOR, R. N. - **Disorders of the Female Reproductive Tract.** In MCPHEE, S. J.; HAMMER, G. D. (Eds.) - *Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine.* 6^a ed. [S.l.]: McGraw-Hill, 2010. ISBN 978-0-07-162167-0. p.603-628
81. ASHWOOD, E. R.; KNIGHT, G. J. - **Disorders of Pregnancy.** In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry.* 6^a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.802-824.
82. MONTAGNANA, M. *et al.* - **Human chorionic gonadotropin in pregnancy diagnostics.** *Clinica Chimica Acta.* 412: 1515-1520 (2011).
83. Demers, L. M. - **Adrenal Cortical Disorders.** In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry.* 6^a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.749-765.
84. ASHTON, N. - **Pituitary, adrenal and thyroid dysfunction.** *Anaesthesia and Intensive Care Medicine.* 6:10 (2005) 346-349.
85. DEMERS, L. M.; VANCE, M. L. - **Pituitary Disorders.** In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry.* 6^a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.736-748.
86. ANDERSON, J. R. *et al.* - **Neurology of the pituitary gland.** *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 66:6 (1999) 703-721.
87. SACKS, D. B. - **Carbohydrates.** In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - *Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry.* 6^a ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p.373-401.
88. NELSON, D. L.; COX, M. M. - **Lehninger: Principles of Biochemistry.** 5^a ed. New York: W. H. Freeman, 2008. ISBN 978-0-7167-7108-1.
89. DODS, R. F. - **Diabetes Mellitus.** In KAPLAN, L.; PESCE, A. (Eds.) - *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation.* 5^a ed. [S.l.]: Mosby Elsevier, 2009. ISBN 9780323036580. p. 731-754
90. BASTAKI, S. - **Diabetes mellitus and its treatment.** *International Journal of Diabetes and Metabolism.* 13:3 (2005) 111-134.
91. BELLE, T. L. Van; COPPIETERS, K. T.; HERRATH, M. G. Von - **Type I diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies.** *Physiological Reviews.* 91:1 (2011) 79-118.
92. RIAZ, S. - **Diabetes mellitus.** *Scientific Research and Essay.* 4:5 (2009) 367-373.
93. USA, American Diabetes Association - **Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.** *Diabetes Care.* 35:S1 (2012).
94. RORSMAN, P. - **Insulin secretion: function and therapy of pancreatic beta-cells in diabetes.** *British Journal of Diabetes & Vascular Disease* 5:4 (2005) 187-191.
95. SAVAGE, D. B.; PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. - **Disordered Lipid Metabolism and the Pathogenesis of Insulin Resistance.** *Physiological Reviews* 87:32 (2007) 507-520.

96. OLOKOBA, A. B., OBATERU, O. A.; OLOKOBA, L. B. - **Diabetes mellitus.** Oman Medical Journal 27:4 (2012) 269-273.
97. CRYER, P. E. - **Minireview: Glucagon in the Pathogenesis of Hypoglycemia and Hyperglycemia in Diabetes.** Endocrinology 153:3 (2012) 1039-1048.
98. FUNK, J. L. - **Disorders of the Endocrine Pancreas.** In MCPHEE, S. J.; HAMMER, G. D. (Eds.) - Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine. 6ª ed. [S.l.]: McGraw-Hill, 2010. ISBN 978-0-07-162167-0. p. 497-522.
99. PERKINS, J. M.; DUNN, J. P.; JAGASIA, S. M. **Perspetives in Gestational Diabetes Mellitus: A Review of Screening , Diagnosis , and Treatment.** Clinical Diabetes 25:2 (2007) 57-62.
100. KIM, S. Y. *et al.* - **Gestational Diabetes Mellitus and Risk of Childhood Overweight and Obesity in Offspring: A Systematic Review.** Experimental Diabetes Research. 2011 (2011) 1-9.
101. MCMILLEN, I. C.; ROBINSON, J. S. - **Developmental Origins of the Metabolic Syndrome: Prediction , Plasticity , and Programming.** Physiological Reviews. 85:2 (2005) 571-633.
102. USA, American Diabetes Association - **Standards of Medical Care in Diabetes- 2012.** Diabetes Care. 35:S1 (2012) S11-S63.
103. CORREIA, L. G. *et al.* - **Diabetes: Factos e Números 2012 - Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes.** Lisboa: Sociedade Portuguesa de Diabetologia, 2013. ISBN 978-989-96663-1-3.
104. PORTER, W. H. - **CLinical Toxicology.** In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 562-602.
105. Kindt, T. J. *et al.* - **Kuby Immunology.** 6ª ed. [S.l.]: W.H. Freeman, 2007. ISBN 978-1-4292-0211-4.
106. ALISON, M. R. - **Cancer.** In Encyclopedia of Life Sciences. Chichester: John Wiley & Sons, 2001. p.1-8.
107. CHAN, D. W.; BOOTH, R. A.; DIAMANDIS, E. P. - **Tumor Markers.** In BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. (Eds.) - .Tietz's Fundamentals of Clinical Chemistry. 6ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2. p. 337-362.
108. DUFFY, M. J. - **Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers.** Medical Principles and Practice. 22:1 (2013) 4-11.
109. HEIDENREICH, A. *et al.* - **Guidelines on Prostate Cancer.** European Association of Urology (2010).
110. Strohmaier, W. L. *et al.* - **Is the determination of prostatic acid phosphatase still worthwhile in prostate cancer patients?.** Urologic Oncology. 3:2 (1997) 47-50.
111. BUNTING, P. S. - **Is there still a role for prostatic acid phosphatase? CSCC position statement.** Clinical Biochemistry. 32:8 (1999) 591-594.
112. SEUFFERLEIN, T. *et al.* - **Pancreatic adenocarcinoma: ESMO-ESDO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up.** Annals of oncology. 23:S7 (2012) vii33-vii40.
113. GOGGINS, M. *et al.* - **National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) Guidelines for the Use of Tumor Markers in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma.** [Em linha], atual. 2006. Disponível em http://www.aacc.org/SiteCollectionDocuments/NACB/LMPG/tumor/chp3i_pancreatic.pdf

114. SEGNAM, N.; PATNICK, J.; KARSA, L. von - **European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis**. 1ª ed. [S.l.]: European Commission, 2010. ISBN 9789279164354.
115. ZAVORAL, M. *et al.* - **Colorectal cancer screening in Europe**. World Journal of Gastroenterology. 15:47 (2009) 5907-5915.
116. Brünner, N. *et al.* - **Tumor Markers in Colorectal Malignancy**. In STURGEON, C. M.; DIAMANDIS, E.P. (Eds.) - Laboratory Medicine Practice Guidelines: Use of Tumor Markers in Testicular, Prostate, Colorectal, Breast and Ovarian Cancers. [S.l.]: American Association for Clinical Chemistry, 2009. p.27-35.
117. AEBI, S. *et al.* - **Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up**. Annals of oncology. 22:S6 (2011) vi12- vi24.
118. Perry, N. *et al.* - **European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis**. 4ª ed. [S.l.]: European Commission, 2006. ISBN 92-79-01258-4.
119. Duffy, M. J. *et al.* - **Tumor Markers in Breast Cancer**. In STURGEON, C. M.; DIAMANDIS, E. P. (Eds.) - Laboratory Medicine Practice Guidelines: Use of Tumor Markers in Testicular, Prostate, Colorectal, Breast and Ovarian Cancers. [S.l.]: American Association for Clinical Chemistry 2009. p.37-49.
120. COLOMBO, N. *et al.* - **Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up**. Annals of oncology. 21:S5 (2010) v23-v30.
121. CHAN, D. W. *et al.* - **Tumor Markers in Ovarian Cancer**. In STURGEON, C. M.; DIAMANDIS, E. P. (Eds.) - Laboratory Medicine Practice Guidelines: Use of Tumor Markers in Testicular, Prostate, Colorectal, Breast and Ovarian Cancers. [S.l.]: American Association for Clinical Chemistry 2009. p.51-59
122. UK, National Institute for Health and Care Excellence - **Ovarian cancer: the recognition and initial management of ovarian cancer**. Cardiff: National Collaborating Centre for Cancer, 2011. ISBN 978-0-9558265-5-9.
123. SCHMOLL, H.J. *et al.* - **Testicular seminoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up**. Annals of oncology. 21:S5 (2010) v140-v146.
124. ALBERS, P. *et al.* - **Guidelines on testicular cancer**. European Association of Urology. 48:6 (2005) 885-894.
125. European Association for the Study of the Liver; European Organization for Research and Treatment of Cancer - **Clinical Practice Guidelines EASL – EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma**. Journal of Hepatology. 56:4 (2012) 908-943.
126. VERSLYPE, C.; ROSMORDUC, O.; ROUGIER, P. - **Hepatocellular carcinoma: ESMO-ESDO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up**. Annals of Oncology. 23:S7 (2012) vii41-vii48.
127. STURGEON, C. M. *et al.* - **National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for Use of Tumor Markers in Liver , Bladder , Cervical , and Gastric Cancers**. Clinical Chemistry. 56:6 (2010) e1-e48.
128. VIRELLA, G. - **Introduction**. In VIRELLA, G (Ed.) - Introduction to Medical Immunology. 4ª ed. [S.l.]: Marcel Dekker, 1998. ISBN 0-82479897-X
129. MCPHERSON, R. A.; MASSEY, H. D. - **Overview of th Immune System and the Immunologic Disorders**. In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22ª ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.845-850.

130. Fitzgerald, R. *et al.* - **Mims' Pathogenesis of Infectious Disease**. 5^a ed. San Diego: Academic Press, 2000. ISBN 9780124982642.
131. MURPHY, K. P. - **Janeway's Immunobiology**. 8^a ed. New York: Garland Science, 2012. ISBN 978-0-8153-4243-4.
132. MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. - **Medical Microbiology**. 6^a ed. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2009. ISBN 978-0-323-05470-6.
133. PINCUS, M. R., *et al.* - **Evaluation of Liver Function**. In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.296-311.
134. DÉNY, P.; ZOULIM, F. - **Hepatitis B virus: from diagnosis to treatment**. *Pathologie Biologie*. 58:4 (2010) 245-253.
135. BADUR, S.; AKGÜN, A. - **Diagnosis of hepatitis B infections and monitoring of treatment**. *Journal of Clinical Virology*. 21:3 (2001) 229-237.
136. MAJID, A. M.; GRETCH, D. R. - **Current and future hepatitis C virus diagnostic testing: problems and advancements**. *Microbes and Infection*. 4:12 (2002) 1227-1236.
137. FRIED, M. W. - **Diagnostic Testing for Hepatitis C: Practical Considerations Hepatitis C Infection**. *The American Journal of Medicine*. 107:6B (1999) 31S-35S.
138. IWEALA, O. I. - **HIV diagnostic tests: an overview**. *Contraception*. 70:2 (2004) 141-147.
139. World Health Organization - **WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children**. [Em linha] Geneva: World Health Organization, 2007. Disponível em <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/HIVstaging150307.pdf>. ISBN 9789241595629.
140. FATAHZADEH, M.; SCHWARTZ, R. A. - **Human herpes simplex virus infections: Epidemiology , pathogenesis , symptomatology , diagnosis , and management**. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 57:5 (2007) 737-763.
141. KANO, Y.; SHIOHARA, T. - **Current understanding of cytomegalovirus infection in immunocompetent individuals**. *Journal of Dermatological Science*. 22:3 (2000) 196-204.
142. VAULOUP-FELLOUS, C. *et al.* - **Reevaluation of the VIDAS(®) cytomegalovirus (CMV) IgG avidity assay: determination of new cut-off values based on the study of kinetics of CMV-IgG maturation**. *Journal of Clinical Virology*. 56:2 (2013) 118-123.
143. BODÉUS, M.; FEYDER, S.; GOUBAU, P. - **Avidity of IgG antibodies distinguishes primary from non-primary cytomegalovirus infection in pregnant women**. *Clinical and Diagnostic Virology*. 9:1 (1998) 9-16.
144. TOSATO, G. *et al.* - **Epstein-Barr virus as an agent of haematological disease**. *Baillière's Clinical Haematology*. 8:1 (1995) 165-199.
145. SEIGNEURIN, J. M. - **Apport du laboratoire dans l' infection à virus Epstein-Barr Laboratory diagnosis of Epstein-Barr virus infections**. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. 1 (2002) 33-39.
146. TSUCHIYA, S. - **Diagnosis of Epstein-Barr virus-associated diseases**. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 44:3 (2002) 227-238.
147. SANTIS, M. de, *et al.* - **Rubella infection in pregnancy**. *Reproductive Toxicology*. 21:4 (2006) 390-398.
148. BEST, J. M. - **Rubella**. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. 12:3 (2007) 182-192.

149. GOODSON, J. L. *et al.* - **Research priorities for global measles and rubella control and eradication.** *Vaccine*. 30:32 (2012) 4709-4716.
150. BELLINI, W. J.; ROTA, P. A. - **Biological feasibility of measles eradication.** *Virus Research*. 162 (2011) 72-79.
151. REY, L. - **Bases da Parasitologia Médica.** 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
152. RORMAN, E. *et al.* - **Congenital toxoplasmosis--prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection.** *Reproductive Toxicology*. 21:4 (2006) 458-472.
153. FRICKER-HIDALGO, H. *et al.* - **New Vidas assay for *Toxoplasma*-specific IgG avidity: evaluation on 603 sera.** *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 56:2 (2006) 167-172.
154. GUZMAN-COTTRILL, J. A.; JAGGI, P.; SHULMAN, S. T. - **Acute rheumatic fever: Clinical aspects and insights into pathogenesis and prevention.** *Clinical and Applied Immunology Reviews*. 4:4 (2004) 263-276.
155. CARAPETIS, J. R.; MCDONALD, M.; WILSON, N. J. - **Acute rheumatic fever.** *Lancet*. 366:1480 (2005) 155-168.
156. VAIRA, D. *et al.* - ***Helicobacter pylori*: diseases, tests and treatment.** *Digestive and Liver Disease*. 33:9 (2001) 788-794.
157. MAROYE, P. - **Diagnostic biologique de l'infection à *Helicobacter pylori*.** *Revue Française des Laboratoires*. 1999:316 (1999) 47-54.
158. RICCI, C.; HOLTON, J.; VAIRA, D. - **Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests.** *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 21:2 (2007) 299-313.
159. MACKERN-OBERTI, J. P. *et al.* - ***Chlamydia trachomatis* infection of the male genital tract: An update.** *Journal of Reproductive Immunology* (2013).
160. REDDY, S. P.; YETURU, S. R.; SLUPIK, R. - ***Chlamydia trachomatis* in Adolescents: A Review.** *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*. 10:2 (1997) 59-72.
161. HAFNER, L. M.; WILSON, D. P.; TIMMS, P. - **Development status and future prospects for a vaccine against *Chlamydia trachomatis* infection.** *Vaccine*. (2013) 1-9.
162. HAMDAD, F. *et al.* - **Infections urogénitales féminines à *Chlamydia trachomatis*. Meilleures approches diagnostiques.** *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. 32 (2004) 1064-1074.
163. SCHACHTER, J. *et al.* - **Evaluation of the Vidas *Chlamydia* test to detect and verify *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens.** *Journal of Clinical Microbiology*. 35:8 (1997) 2102-2108.
164. SALAZAR, J. C.; HAZLETT, K. R. O.; RADOLF, J. D. - **The immune response to infection with *Treponema pallidum*, the stealth pathogen.** *Microbes and Infection*. 4:11(2002) 1133-1140.
165. ZANTO, S. N. - **Changing Algorithms in Syphilis Laboratory Diagnosis.** *Clinical Microbiology Newsletter*. 32:8 (2010) 59-64.
166. CLYNE, B.; JERRARD, D. A. - **Syphilis testing.** *Clinical Laboratory in Emergency Medicine*. 18:3 (2000) 361-367.
167. OLOPOENIA, L. A.; KING, A. L. - **Widal agglutination test - 100 years later: still plagued by controversy.** *Postgraduate Medical Journal*. 76:892 (2000) 80-84.
168. CORBEL, M. J. - **Brucellosis in humans and animals.** [Em linha] Geneva: World Health Organization, 2006. Disponível em <http://www.who.int/iris/handle/10665/43597> . ISBN 9241547138
169. WALKER, D. H.; WOODS, G. L.; SMITH, M. B. - **Chlamydial, Rickettsial and Mycoplasmal Infections.** In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - *Henry's*

- Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.1065–1078.
170. BOUDES, A.; PAROLA, P. - **Rickettsia**. *Revue Francophone des Laboratoires*. 37:391 (2007) 23-32.
 171. KANTSØ, B. *et al.* - **Evaluation of serological tests for the diagnosis of rickettsiosis in Denmark**. *Journal of Microbiological Methods*. 76:3 (2009) 285-288.
 172. Mühlen, C. A. von; NAKAMURA, R.M. - **Clinical and Laboratory Evaluation of Systemic Rheumatic Disease**. In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.973-990.
 173. CANTAERT, T. *et al.* - **Citrullinated proteins in rheumatoid arthritis: crucial...but not sufficient!** *Arthritis and Rheumatism*. 54:11 (2006) 3381-3389.
 174. TUBERGEN, A. van; WEBER, U. - **Diagnosis and classification in spondyloarthritis: identifying a chameleon**. *Nature Reviews. Rheumatology* 8:5 (2012) 253-261.
 175. FRIERI, M. - **Mechanisms of disease for the clinician: systemic lupus erythematosus**. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 110:4 (2013) 228-232.
 176. KASSAN, S. S.; MOUTSOPOULOS, H. M. - **Clinical Manifestations and Early Diagnosis of Sjögren Syndrome**. *Archives of Internal Medicine*. 164 (2004) 1275-1284.
 177. BALBIR-GURMAN, A.; BRAUN-MOSCOVICI, Y. - **Scleroderma - new aspects in pathogenesis and treatment**. *Best practice & research. Clinical Rheumatology*. 26:1 (2012) 13-24.
 178. REVEILLE, J. D., SOLOMON, D. H.; The American College of Rheumatology - **Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies**. *Arthritis and Rheumatism*. 49:3 (2003) 399-412.
 179. GHERARDI, R. K. - **Pathogenic aspects of dermatomyositis, polymyositis and overlap myositis**. *Presse Médicale*. 40:4 (2011) e209-e218.
 180. SELVA O'CALLAGHAN, A.; TRALLERO ARAGUÁS, E. - **Inflammatory Myopathies. Dermatomyositis, Polymyositis, and Inclusion Body Myositis**. *Reumatología Clínica*. 4:5 (2008) 197-206.
 181. ORTEGA-HERNANDEZ, O. D.; SHOENFELD, Y. - **Mixed connective tissue disease: an overview of clinical manifestations, diagnosis and treatment**. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 26:1 (2012) 61-72.
 182. HOFFMAN, R. W.; MALDONADO, M. E. - **Immune pathogenesis of Mixed Connective Tissue Disease: a short analytical review**. *Clinical immunology*. 128:1 (2008) 8-17.
 183. ARINGER, M.; SMOLEN, J. S. - **Mixed connective tissue disease: what is behind the curtain? Best practice & research**. *Clinical Rheumatology*. 21:6 (2007) 1037-1049.
 184. KEITH, M. P.; MORATZ, C.; TSOKOS, G. C. - **Anti-RNP immunity: implications for tissue injury and the pathogenesis of connective tissue disease**. *Autoimmunity reviews*. 6:4 (2007) 232-236.
 185. LANGFORD, C. A. - **Vasculitis**. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 125:2 (2010) S216-S225.
 186. SHAH, A.; BYLUND, D. J.; MCCALLUM, R. M. - **Vasculitis**. In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.992-1002.

187. MILLER, A., BASU, N. & LUQMANI, R. - **Assessment of systemic vasculitis.** *Autoimmunity reviews.* 8:2 (2008) 170-175.
188. SCHILDER, A. M. - **Wegener's Granulomatosis vasculitis and granuloma.** *Autoimmunity Reviews.* 9:7 (2010) 483-487.
189. TAKIZAWA, M. *et al.* - **Correlation between the levels of circulating adhesion molecules and PR3-ANCA in Wegener's granulomatosis.** *Auris Nasus Larynx.* 28 (2001) S59-S62.
190. HARMAN, L. E.; MARGO, C. E. - **Wegener's granulomatosis.** *Survey of Ophthalmology.* 42:5 (1998) 458-480.
191. PACKMAN, C. H. - **Hemolytic anemia due to warm autoantibodies.** *Blood reviews.* 22:1 (2008) 17-31.
192. PETZ, L. D. - **Cold antibody autoimmune hemolytic anemias.** *Blood Reviews.* 22:1 (2008) 1-15.
193. LAMBERT, J. F.; NYDEGGER, U. E. - **Geoepidemiology of autoimmune hemolytic anemia.** *Autoimmunity reviews.* 9:5 (2010) A350-A354.
194. ELGHETANY, M. T.; BANKI, K. - **Erythrocytic Disorders.** In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.* 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.557-600.
195. KUPFER, S. S.; JABRI, B. - **Pathophysiology of celiac disease.** *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America.* 22:4 (2012) 639-660.
196. BRIANI, C.; SAMAROO, D.; ALAEDINI, A. - **Celiac disease: from gluten to autoimmunity.** *Autoimmunity reviews.* 7:8 (2008) 644-650.
197. KENNEDY, N. P.; FEIGHERY, C. - **Clinical features of coeliac disease today.** *Biomedicine & Pharmacothera.* 54:7 (2000) 373-380.
198. BYLUND, D. J.; NAKAMURA, R. M. - **Organ-specific Autoimmune Diseases.** In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.* 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.1004-1020.
199. REIF, S.; LERNER, A. - **Tissue transglutaminase - the key player in celiac disease : a review.** *Autoimmunity Reviews.* 3 (2004) 40-45.
200. AI, J.; LEONHARDT, J. M.; HEYMANN, W. R. - **Autoimmune thyroid diseases: etiology, pathogenesis, and dermatologic manifestations.** *Journal of the American Academy of Dermatology.* 48:5 (2003) 641-659.
201. JOHANSSON, S. G. O. *et al.* - **A revised nomenclature for allergy An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force.** *Allergy.* 56 (2001) 813-824.
202. HOMBURGER, H. A. - **Allergic Diseases.** In MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. (Eds.) - *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.* 22^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. ISBN 978-1-437-0974-2. p.1021-1033.
203. HØST, A. *et al.* - **Allergy testing in children : why , who , when and how ?** *Allergy.* 58 (2003) 559-569.
204. HØST, A.; HALKEN, S. - **Practical aspects of allergy-testing.** *Pediatric Respiratory Reviews.* 4:4 (2003) 312-318.
205. SANER-AMIGH, K. J.; HALVORSON, L. M. - **Andrology and Fertility Assessment.** *Laboratory Medicine.* 42:1 (2010) 41-50.
206. VU, S. Le *et al.* - **Principles and uses of HIV incidence estimation from recent infection testing- a review.** *Eurosurveillance.* 13:7-9 (2008) 11-16.

ANEXOS

Anexo I- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em bioquímica.

I- DOENÇA CARDIOVASCULAR			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
CK	Soro	Modular P	Enzimático UV
CKMB	Soro	VIDAS 30	IFE
LDH	Soro	Modular P	Enzimático UV
CRP	Soro	Modular P	Imunoturbidimétrico
Col-HDL	Soro	Modular P	Enzimático Colorimétrico
Col-LDL	Soro	Modular P	Cálculo a partir de TG, Col-T e Col-HDL
Col-T	Soro	Modular P	Enzimático Colorimétrico
TG	Soro	Modular P	Enzimático Colorimétrico

2- FUNÇÃO RENAL			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Creatinina	Soro e Urina	Modular P	Cinético Colorimétrico
Clearance de Creatinina	Soro e Urina	Modular P	Cálculo a partir do valor de creatinina no soro e na urina
Ureia	Soro e Urina	Modular P	Cinético UV
Azoto Ureico	Soro	Modular P	Calculado a partir do valor da ureia no soro
Ácido Úrico	Soro e Urina	Modular P	Enzimático Colorimétrico
Ionograma:			
Sódio	Soro e Urina	Modular ISE	Eléctrodo Seletivo
Potássio	Soro e Urina	Modular ISE	Eléctrodo Seletivo
Cloreto	Soro e Urina	Modular ISE	Eléctrodo Seletivo
Proteínas Urinárias	Urina	Modular P	Turbidimétrico
Microalbuminúria	Urina	Modular P	Imunoturbidimétrico

Anexo I (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em bioquímica.

3- FUNÇÃO HEPÁTICA			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Bilirrubina Direta	Soro	Modular P	Colorimétrico
Bilirrubina Total	Soro	Modular P	Colorimétrico
Albumina	Soro	Modular P	Imunoturbidimétrico
Proteína Total	Soro	Modular P	Colorimétrico
AFP	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
Ureia	Soro	Modular P	Cinético UV
GGT	Soro	Modular P	Enzimático Colorimétrico
AST	Soro	Modular P	UV
ALT	Soro	Modular P	UV
ALP	Soro	Modular P	Colorimétrico
LDH	Soro	Modular P	Enzimático UV

4- FUNÇÃO PANCREÁTICA EXÓCRINA			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
LIP	Soro	Modular P	Enzimático Colorimétrico
AMY	Soro e urina	Modular P	Enzimático Colorimétrico

5- FUNÇÃO ÓSSEA			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Cálcio Total	Soro e Urina	Modular P	Colorimétrico
Fosfato	Soro e Urina	Modular P	Colorimétrico
Magnésio	Soro e Urina	Modular P	Colorimétrico
PTH	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
ALP	Soro	Modular P	Colorimétrico
ACP Total	Soro	Modular P	Colorimétrico
ACP Não Prostática	Soro	Modular P	Colorimétrico

Anexo I (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em bioquímica.

6- REGULAÇÃO HORMONAL

I - Função Tiroideia			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
T ₃ Livre	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição
T ₃ Total	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição
T ₄ Livre	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição
T ₄ Total	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição
TSH	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
Trg	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

II - Função Reprodutora			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
FSH	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
LH	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
DHEA-S	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição
Testosterona Total	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição
Estradiol	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição
Progesterona	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição

III - Hormonas da Gravidez			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
hCG	Soro e Urina/Urina	VIDAS 30 / Técnica Manual	IFE / Imunocromatografia
PRL	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
AFP	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

Anexo I (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em bioquímica.

IV - Função Adrenocortical			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Cortisol	Soro	VIDAS 30	IFE
DHEA-S	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição

V - Função Hipofisária			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
FSH	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
LH	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
TSH	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
PRL	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

VI - Diabetes Mellitus			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Glucose	Plasma	Modular P	Enzimático Colorimétrico
HbA _{1c}	Sangue total	Adams Alc HA-8160	HPLC

7-Drogas de Abuso			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Canabinóides	Urina	Técnica Manual	Imunocromatografia
Opiáceos	Urina	Técnica Manual	Imunocromatografia
Cocaína	Urina	Técnica Manual	Imunocromatografia

Anexo I (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em bioquímica.

8- NEOPLASIAS

I - Câncer da Próstata

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
PSA Livre	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
PSA Total	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
ACP Total	Soro	Modular P	Colorimétrico
ACP Prostática	Soro		Calculada a partir dos valores da ACP total e da não prostática

II - Câncer do Pâncreas

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
CA 19.9	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

III - Câncer Colorretal

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
CEA	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
Sangue Oculto	Fezes	Técnica Manual	Imunocromatografia

IV - Câncer da Mama

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
CA 15.3	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

V - Carcinoma do Ovário

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
CA 125	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

Anexo I (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em bioquímica.

VI - Câncer do Testículo			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
hCG	Soro	Vidas 30	IFE
AFP	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

VII - Carcinoma Hepatocelular			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
AFP	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

Anexo 2- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em imunologia.

I - Parâmetros gerais			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
IgA	Soro	Modular P	Imunoturbidimétrico
IgG	Soro	Modular P	Imunoturbidimétrico
IgM	Soro	Modular P	Imunoturbidimétrico
IgE	Soro	VIDAS 30	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

2- INFEÇÕES VÍRICAS

I - Vírus da Hepatite A

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-VHA Total	Soro	VIDAS 30	IFE
Ac anti-VHA IgM	Soro	VIDAS 30	IFE

II - Vírus da Hepatite B

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-HBc Total	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição
Ac anti-HBc IgM	Soro	VIDAS 30	IFE
AgHBe	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
Ac anti-HBe	Soro	Modular E	Imunoensaio de competição
AgHBs	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
Ac anti-HBs	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

III - Vírus da Hepatite C

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-VHC	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

IV - Vírus da Imunodeficiência Adquirida

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-HIV1 e anti-HIV2	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>
Ag p24	Soro	Modular E	Imunoensaio de <i>Sandwich</i>

Anexo 2 (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em imunologia.

V - Vírus Herpes Simplex			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-HSV1 IgG	Soro	Técnica Manual	Imunoenzimático
Ac anti-HSV1 IgM	Soro	Técnica Manual	Imunoenzimático
Ac anti-HSV2 IgG	Soro	Técnica Manual	Imunoenzimático
Ac anti-HSV2 IgM	Soro	Técnica Manual	Imunoenzimático

VI - Citomegalovírus			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-CMV IgG	Soro	VIDAS 30	IFE
Ac anti-CMV IgM	Soro	VIDAS 30	IFE

Continuação do Anexo V

VII - Vírus de Epstein-Barr			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-VCA IgG	Soro	VIDAS 30	IFE
Ac anti-VCA IgM	Soro	VIDAS 30	IFE
Ac anti-EA	Soro	VIDAS 30	IFE
Ac anti-EBNA	Soro	VIDAS 30	IFE
Ac Heterófilo	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex

VIII - Vírus da Rubéola			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac antirrubéola IgG	Soro	VIDAS 30	IFE
Ac antirrubéola IgM	Soro	VIDAS 30	IFE

3- INFEÇÕES PARASITÁRIAS			
I - <i>Toxoplasma gondii</i>			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-TXG IgG	Soro	VIDAS 30	IFE
Ac anti-TXG IgM	Soro	VIDAS 30	IFE

Anexo 2 (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em imunologia.

4- INFEÇÕES BACTERIANAS

I - *Streptococcus pyogenes*

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-SLO	Soro	Modular P	Imunoturbidimétrico

II - *Helicobacter pylori*

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac contra <i>Helicobacter pylori</i>	Soro	VIDAS 30	IFE

III - *Chlamydia trachomatis*

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Antigénio de CT	Zaragatoa exudatos genitais	VIDAS 30	IFE
Ac anti-CT IgG	Soro	Técnica Manual	Imunoenzimático
Ac anti-CT IgA	Soro	Técnica Manual	Imunoenzimático

IV - *Treponema pallidum*

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anticardiolipina	Soro	Técnica Manual	Aglutinação
Ac anti-TP	Soro	Técnica Manual	Hemaglutinação

V - *Salmonella enterica*

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-A	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex
Ac anti-B	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex
Ac anti-O	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex
Ac anti-H	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex

VI - *Brucella*

Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac contra <i>Brucella</i>	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex
Ac contra <i>Brucella abortus</i>	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex

Anexo 2 (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em imunologia.

VII - Rickettsia			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-OX19	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex
Ac anti-OXK	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex
Ac anti-OX2	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex

5- AUTOIMUNIDADE

I - Artrite Reumatoide			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
FR	Soro	Técnica Manual	Aglutinação com látex
CRP	Soro	Modular P	Imunoturbidimétrico
PCC	Soro	UniCap	IFE

II - Espondilite Anquilosante			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Gene HLA-B27	Sangue	Técnica Manual	PCR associado a Imunocromatografia

III - Lúpus Eritematoso Sistémico			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-dsDNA	Soro	UniCap	IFE
Ac anti-Sm	Soro	UniCap	IFE
ANA	Soro	UniCap	IFE

IV - Síndrome de Sjögren			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-Ro / SS-A	Soro	UniCap	IFE
Ac anti-La / SS-B	Soro	UniCap	IFE

Anexo 2 (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em imunologia.

V - Esclerose Sistémica			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-Scl70	Soro	UniCap	IFE
ACA	Soro	UniCap	IFE

VI - Polimiosite e Dermatomiosite			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-Jo I	Soro	UniCap	IFE

VII - Doença Mista do Tecido Conjuntivo			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-snRNP 70	Soro	UniCap	IFE

VIII - Vasculite			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-PR3	Soro	UniCap	IFE
Ac anti-MPO	Soro	UniCap	IFE
ANCA	Soro	UniCap	IFE

IX - Granulomatose de Wegener			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-PR3	Soro	UniCap	IFE

X - Anemia Hemolítica Autoimune			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac contra antígenos eritrocitários	Sangue e Soro	Técnica Manual	Hemaglutinação

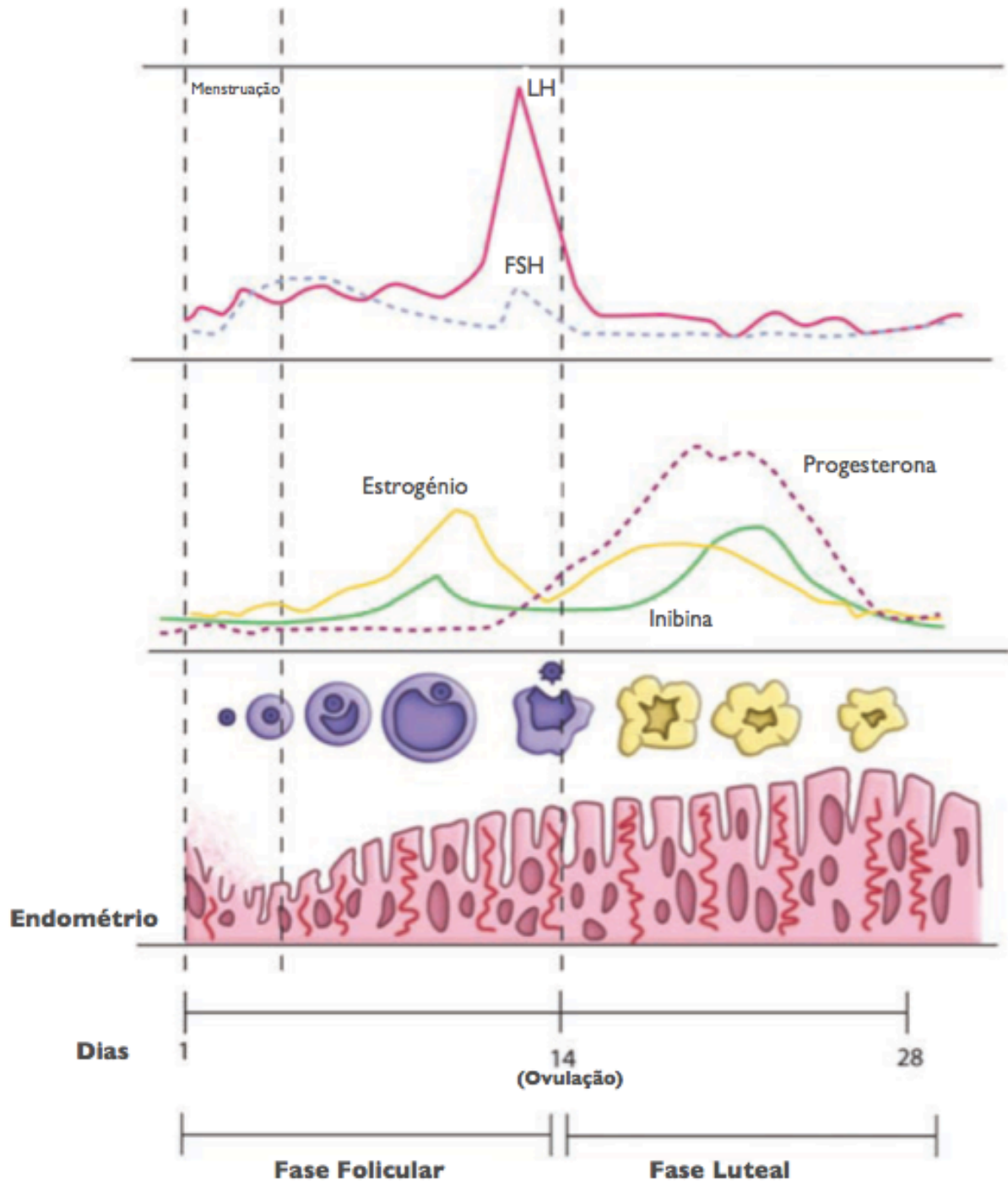
Anexo 2 (cont.)- Quadro resumo dos métodos e equipamentos usados na quantificação/deteção dos diferentes parâmetros usados em imunologia.

XI - Doença Celíaca			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac antigliadina IgG	Soro	UniCap	IFE
Ac antigliadina IgA	Soro	UniCap	IFE
Ac anti-tTG IgG	Soro	UniCap	IFE
Ac anti-tTG IgA	Soro	UniCap	IFE

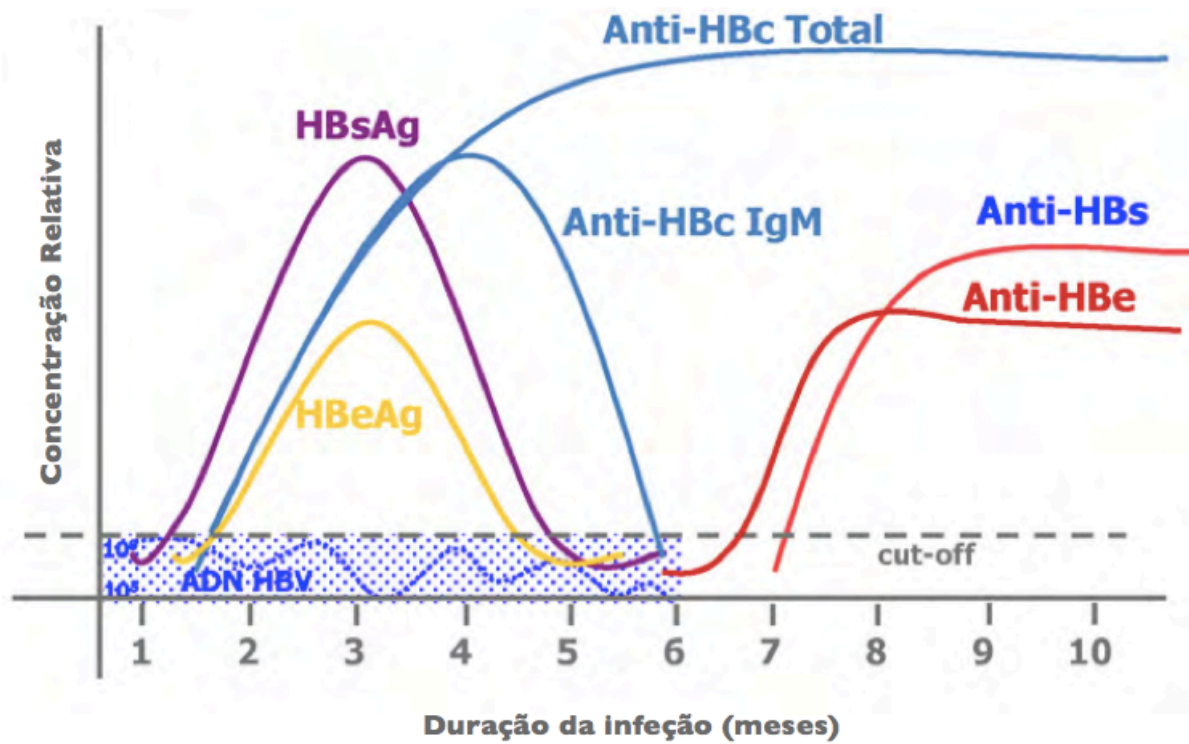
XII - Doença da Tireoide			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
Ac anti-Trg	Soro	VIDAS 30	IFE
Ac anti-TPO	Soro	VIDAS 30	IFE

ALERGIAS			
Parâmetro	Amostra	Equipamento	Método
IgE Total	Soro	UniCap	IFE
IgE contra alergenios específicos	Soro	UniCap	IFE

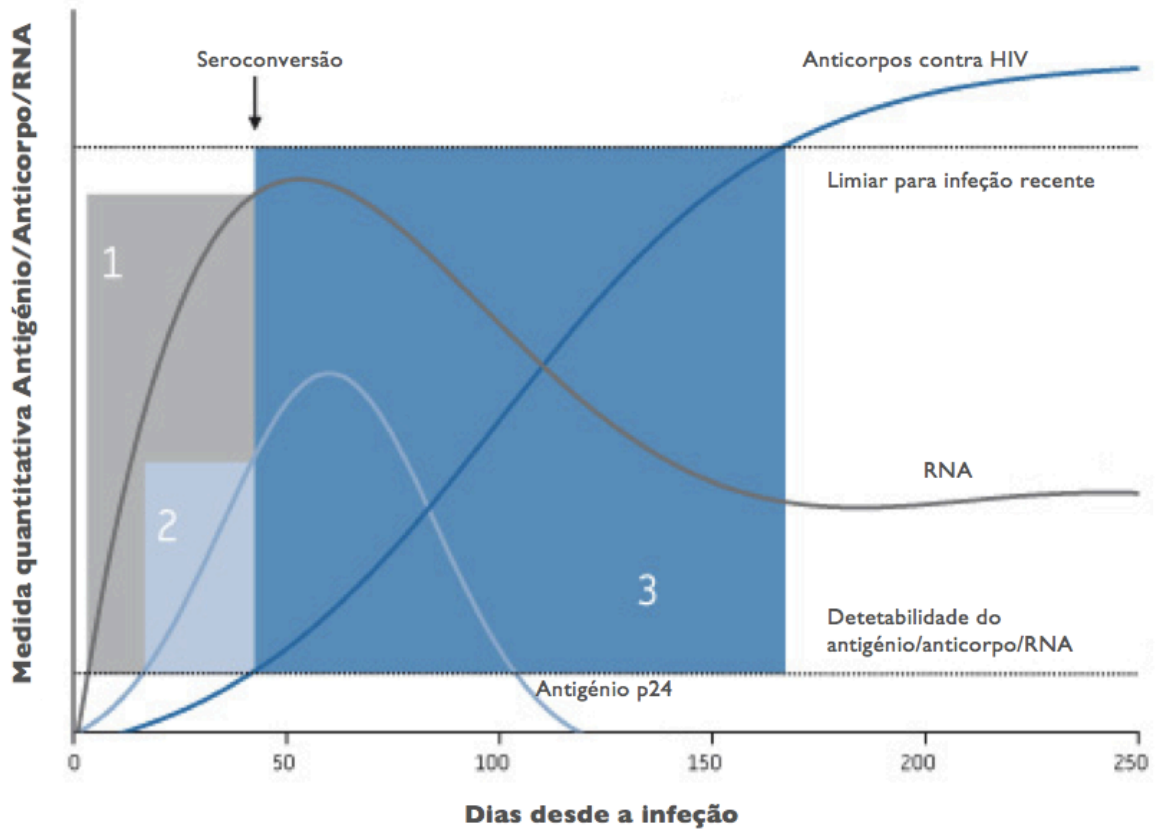
Anexo 3- Ciclo menstrual e as alterações ováricas, endometriais e hormonais subjacentes (Adaptado de ²⁰⁵). No painel superior está representada a variação dos níveis das gonadotropinas e, no painel do meio, dos esteroides das gónadas. No painel inferior encontram-se esquematizadas as alterações histológicas no ovário e no endométrio.



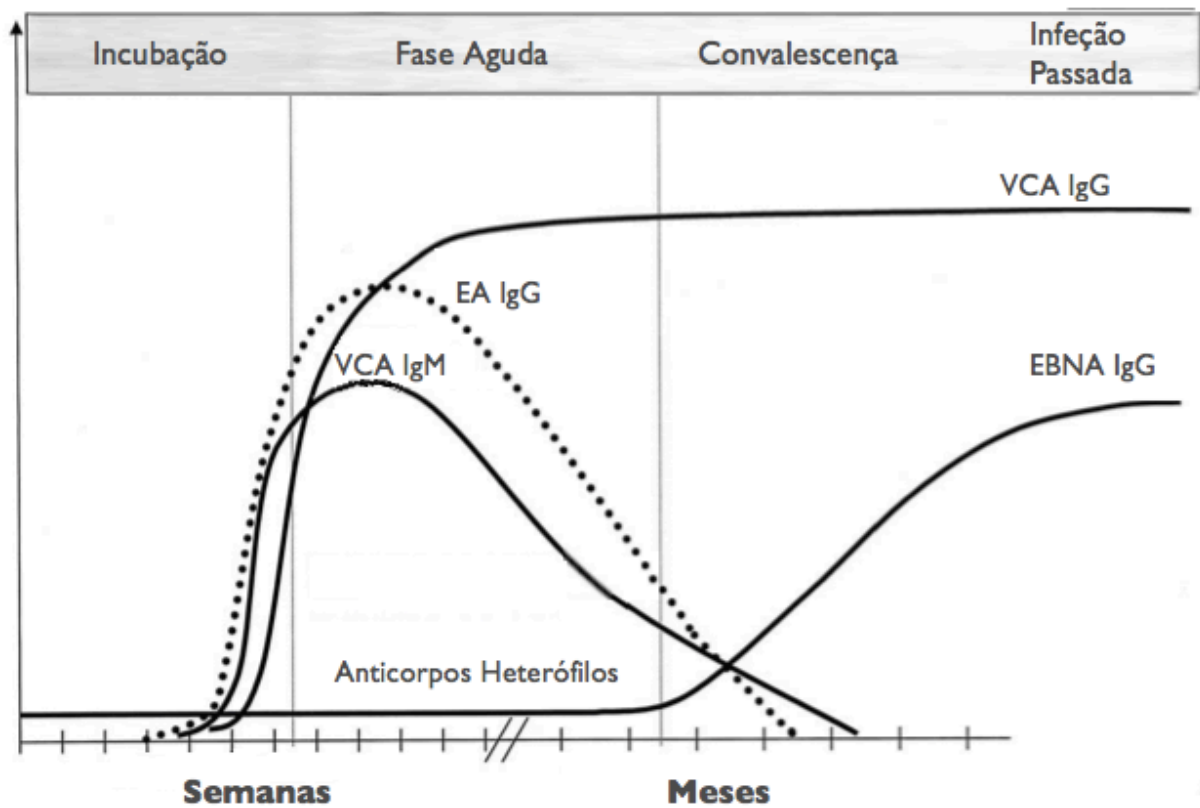
Anexo 4- Evolução dos marcadores serológicos durante infecção aguda por VHB. (Adaptado de ¹³⁴).



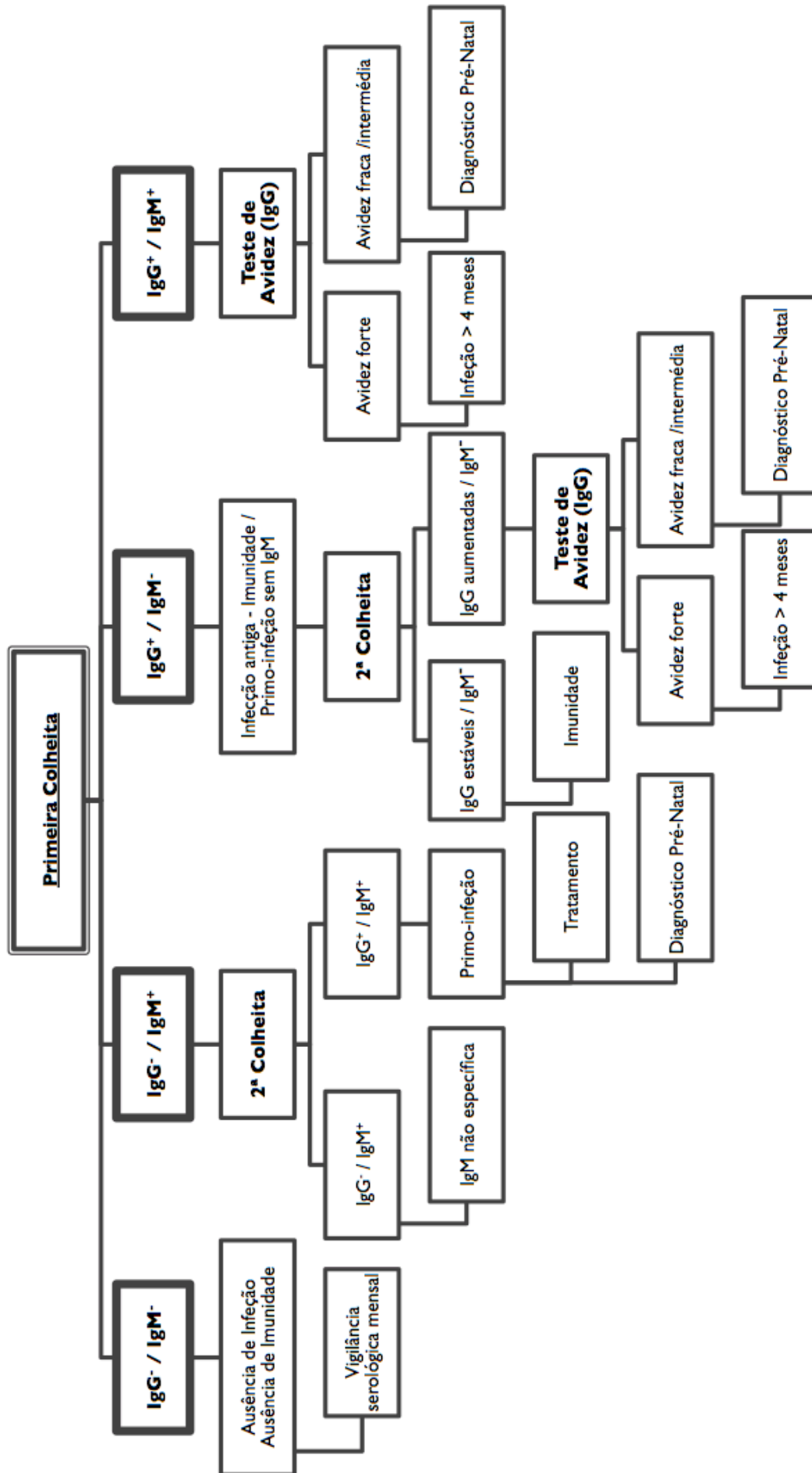
Anexo 5- Cinética dos marcadores virais e da resposta imunitária do hospedeiro na fase inicial de infecção por HIV (Adaptado de ²⁰⁶). 1- Estado de transição entre o aparecimento de RNA e a seroconversão; 2- Estado de transição entre aparecimento do antígeno p24 e a seroconversão; 3- Período de doseamento de anticorpos em infecção recente.



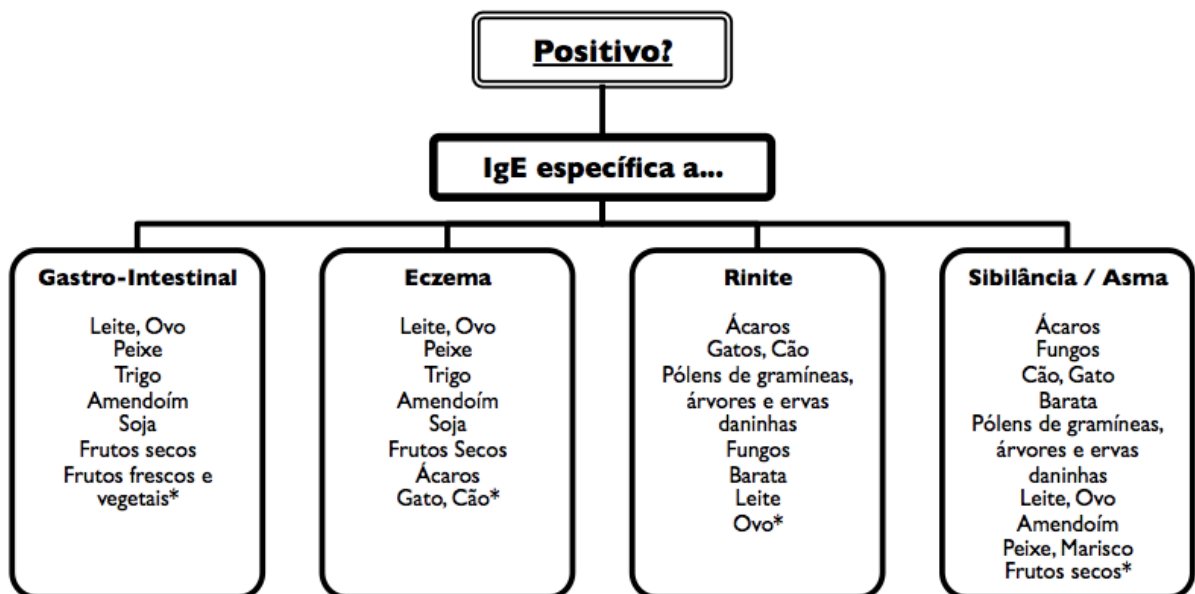
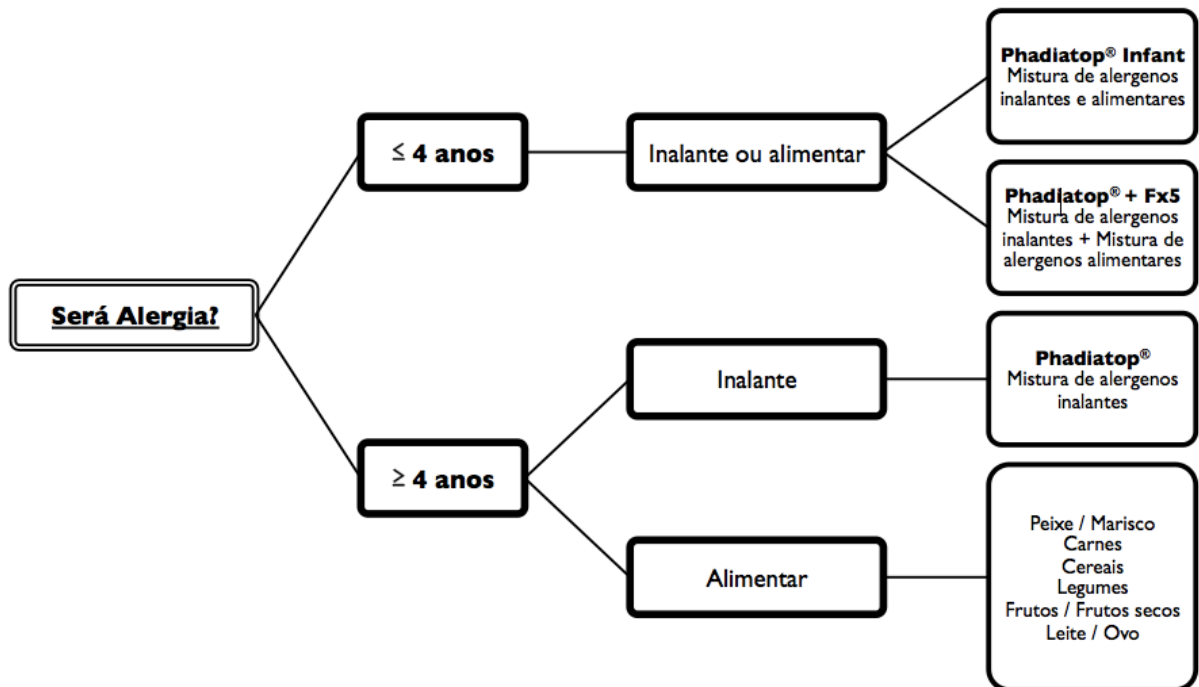
Anexo 6- Cinética dos anticorpos durante o curso da mononucleose infecciosa por EBV (Adaptado de ¹⁴⁵).



Anexo 7 - Algoritmo do acompanhamento serológico de toxoplasmose na gravidez (Adaptado de ^{132,151-153}).



Anexo 8- Algoritmo do estudo alergológico no diagnóstico laboratorial
 (Adaptado do boletim informativo: *Lista de Alergénios - Diagnóstico “in vitro”*, da marca ImmunoCap da empresa Pharmacia Diagnostics).



*Ou outros. de acordo com a história