

Cristiana Isabel Oliveira Brito Pires Lopes

Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito de Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Dra. Graça Ribeiro e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Julho 2013



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Índice

Lista de Quadros	iv
Lista de Figuras.....	iv
Lista de Abreviaturas.....	vii
Resumo.....	x
Abstract.....	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO	1
▪ Setorização do Serviço de Patologia Clínica.....	3
Laboratório de Urgência.....	3
Laboratório de Hematologia.....	4
Laboratório de Bioquímica	5
Laboratório de Microbiologia	5
Laboratório de Imunoserologia.....	6
Laboratório de Virologia.....	7
Laboratório de Hormonologia	7
3. CONTROLO DA QUALIDADE.....	8
▪ Avaliação Interna da Qualidade.....	8
▪ Avaliação Externa da qualidade.....	9
4. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	10
4.1. Bioquímica	10
4.1.1. Metodologia utilizada	10
▪ Espectrofotometria.....	10
▪ Espectrofotometria de absorção atômica	11
▪ Citometria de Fluxo	11
▪ Cromatografia líquida de alta pressão.....	11
▪ Turbidimetria.....	12
▪ Cinética enzimática	12
▪ Potenciometria.....	12
▪ ELISA- Enzyme linked immunoabsorbant assay	13
▪ Refratometria	13
4.1.2. Parâmetros analisados	13
▪ Função Renal.....	13
Azoto Ureico	13
Creatinina	14
Prova da Depuração de Creatinina	14
Taxa De Filtração Glomerular Estimada	15
Ácido Úrico.....	15
▪ Equilíbrio Hidro-Eletrolítico.....	16
Sódio	16
Potássio	16
Cloro.....	17
Osmolalidade Sérica.....	17
▪ Metabolismo Osseo.....	18
Cálcio.....	18
Cálcio Corrigido	18
Magnésio	18
Fósforo	19
▪ Metabolismo dos Hidratos de Carbono.....	19
Glicose.....	19

Prova de tolerância oral à glicose oral.....	20
Hemoglobina Glicada	21
▪ Proteínas	21
Proteínas Totais	21
Albumina	22
▪ Função Hepato-Biliar.....	22
A. Citólise.....	22
Alanina Aminotransferase	23
Aspartato Aminotransferase.....	23
B. Colestase.....	23
Fosfatase Alcalina.....	23
Gama-Glutamil Transferase	24
Bilirrubina	24
▪ Função Gastrointestinal e Pancreática Exócrina	26
α-Amilase.....	26
Lipase.....	26
▪ Marcadores de Destruição Celular	27
Creatina Quinase.....	27
Lactato Desidrogenase.....	27
▪ Outras Enzimas.....	28
Fosfatase Ácida.....	28
Colinesterases	28
Adenosina Desaminase.....	29
Enzima de Conversão da Angiotensina	29
▪ Lípidos.....	30
Colesterol Total.....	30
Colesterol HDL	30
Colesterol LDL	31
Triglicerídeos.....	31
▪ Inflamação e Infecção	32
Proteína C-Reativa	32
▪ Patologia Músculo-Esquelética	32
Aldolase Sérica.....	32
▪ Metais.....	33
Lítio (Monitorização terapêutica).....	33
Zinco	33
Cobre.....	33
Alumínio	33
▪ Catecolaminas.....	34
Adrenalina (Epinefrina) / Noradrenalina (Norepinefrina) /Dopamina	34
▪ Química Hematológica	34
Glicose 6-Fosfato-Desidrogenase.....	34
Lisozima Sérica.....	35
▪ Estudo do Ferro	35
Ferritina	35
Ferro.....	36
Capacidade de fixação do ferro disponível / Capacidade total de fixação do ferro	36
Saturação da transferrina.....	37
▪ Bioquímica Urinária	37
Proteínas Urinárias.....	37
Sumária De Urina (Urina Tipo 2)	37
Sedimento Urinário	38
Osmolalidade Urinária	39
pH.....	39
Densidade.....	39

▪ Litíase Renal.....	40
Cistina	40
Oxalatos	40
Análise química do cálculo renal.....	40
▪ Metabolismo de Neurotransmissores.....	40
Metanefrinas / Ácido Vanilmandélico	40
Serotonina e Hidroxitriptofano / Ácido 5-hidroxi-indol acético.....	41
▪ Bioquímica Noutros Produtos.....	41
Líquido Cefalorraquídeo.....	41
Outros Líquidos.....	41
4.3. Serologia.....	42
4.3.1. Metodologias utilizadas.....	43
▪ ELFA – <i>Enzyme-Linked Fluorescence Assay</i>	43
▪ ELISA – <i>Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay</i>	43
▪ RPR- <i>Rapid Plasma Reagin</i>	43
▪ Rosa de Bengala	43
▪ Reação de Wright.....	44
▪ <i>Treponema Passive Particle Agglutination</i>	44
▪ <i>Fluorescent Treponemal Antibody-Absorbance test</i>	44
▪ Imunofluorescência Indireta	44
▪ Chemoluminescence Immuno Assay.....	45
4.3.2. A Serologia no Diagnóstico de Infecções.....	45
▪ Toxoplasmose.....	45
▪ Rubéola.....	47
▪ Infecção por Citomegalovirus	49
▪ Infecção por <i>Herpes simplex</i>	51
▪ Sífilis.....	52
▪ Varicela	54
▪ Doença de Lyme	55
▪ Brucelose	56
▪ Mononucleose Infeciosa	57
▪ Febre Q.....	58
▪ Febre Escaro-Nodular.....	59
▪ Legionelose.....	59
▪ Infecção por <i>Chlamydia pneumoniae</i>	60
▪ Infecção por <i>Chlamydia trachomatis</i>	61
▪ Infecção por <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	61
5. CONCLUSÃO	63
6. BIBLIOGRAFIA	I
7. ANEXOS.....	III
▪ Da Pré-analítica à Pós- analítica	IV
▪ Estatística das análises efetuadas em 2012	V

Lista de Quadros

Quadro 1 - Equipamentos existentes no Laboratório de Urgência.	4
Quadro 2 - Equipamentos existentes no Laboratório de Hematologia.	4
Quadro 3 - Equipamentos existentes no Laboratório de Bioquímica.	5
Quadro 4 - Equipamentos existentes no Laboratório de Microbiologia.	6
Quadro 5 - Equipamentos existentes no Laboratório de Imunoserologia.	6
Quadro 6 - Equipamentos existentes no Laboratório de Virologia.	7
Quadro 7 - Equipamentos existentes no Laboratório de Hormonologia.	8
Quadro 8 - Valores de referência PTGO.	20
Quadro 9 - Valores de referência para a PTGO e classificação da patologia.	21
Quadro 10 - Elementos do sedimento urinário.	38
Quadro 11 - Correspondência entre densidade urinária e osmolalidade.	39
Quadro 12 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Toxoplasma gondii</i>	46
Quadro 13 - Interpretação do teste da avidéz das IgGs anti - <i>Toxoplasma gondii</i>	47
Quadro 14 - Interpretação dos testes serológicos para vírus da Rubéola.	48
Quadro 15 - Interpretação do teste da avidéz das IgGs anti- vírus da Rubéola.	49
Quadro 16 - Interpretação dos testes serológicos para Citomegalovírus.	50
Quadro 17 - Interpretação do teste da avidéz das IgG anti- Citomegalovírus.	50
Quadro 18 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Herpes simplex 1,2</i>	51
Quadro 19 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Treponema pallidum</i>	53
Quadro 20 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Varicella zoster</i>	54
Quadro 21 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	56
Quadro 22 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Brucela sp.</i>	57
Quadro 23 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Epstein barr</i>	58
Quadro 24 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Coxiela burnetii</i>	58
Quadro 25 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Rickettsia conorii</i>	59
Quadro 26 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Legionella pneumophila</i>	60
Quadro 27 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Chlamydia pneumonia</i>	60
Quadro 28 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Chlamydia trachomatis</i>	61
Quadro 29 - Interpretação dos testes serológicos para <i>Mycoplasma pneumonia</i>	62
Quadro 30 - Anexo II - Dados estatísticos das análises efetuadas em 2012.	V

Lista de Figuras

Figura 1 - Cinética dos anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	46
Figura 2 - Cinética dos anticorpos anti- vírus da Rubéola.	48
Figura 3 - Cinética dos anticorpos anti-Citomegalovírus.	50
Figura 4 – Cinética dos anticorpos anti - vírus <i>Epstein barr</i>	57

*“Algo tão pequeno como simples voo de uma borboleta
pode causar um tufão no outro lado do mundo...”*

(teoria do caos)

Agradecimentos

À Doutora Graça Ribeiro, Diretora do Serviço de Patologia Clínica dos CHUC manifesto aqui a minha gratidão, por me ter possibilitado desenvolver este trabalho e por todas as oportunidades que me tem dado ao longo destes quase 3 anos.

À Professora Doutora Leonor Martins de Almeida, Professora Catedrática da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pela disponibilidade e incentivos ao longo destes dois anos.

À Drautora Fernanda Fontes Assessora Superior do Laboratório do serviço de Patologia Clínica pela disponibilidade, sugestões e ajuda sempre demonstradas.

À Drautora Teresa Magro, Assessora Superior de Laboratório do Serviço de Patologia Clínica dos HUC, pela amizade, pela força que sempre me deu, e principalmente por sempre acreditar em mim.

À Professora Drautora Paula Luxo pela atenção, disponibilidade e orientação.

Aos meus pais por acreditarem em mim, e por todo o apoio e motivação e valores que sempre me transmitiram.

À minha irmã pela ajuda, motivação, paciência e risadas nos momentos certos.

À minha Família em geral pela motivação e apoio.

Aos meus colegas do Serviço de Patologia Clínica dos HUC, que de diferentes formas sempre me apoiaram e ajudaram ao longo deste percurso, em especial à Doutora Eulália Costa e Doutor José Nuno.

Aos meus colegas de mestrado pela ajuda, disponibilidade e motivação ao longo deste processo formativo

Aos meus amigos pela paciência, motivação, ajuda em toda esta etapa, e por estarem presentes em todos os momentos que precisei, em especial à Nanda e ao Guillermo e Ângela.

Lista de Abreviaturas

ACP – Fosfatase ácida

ADA – Adenosina Desaminase

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

ATP – Adenosina trifosfato

Ca²⁺ – Cálcio

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

CK – Creatina Quinase

Cl⁻ – Cloro

CLIA – Chemoluminescence immuno assay (Quimioluminescência convencional)

CMIA – Chemiluminescent microparticle immunoassay (Quimioluminescência de micropartículas)

CMV – Citomegalovírus

GC – Garantia de Qualidade

CQ – Controlo de Qualidade

CV% – Percentagem do Coeficiente de Variação (CV%).

DPN – Diagnóstico Pré Natal

EBNA – *Epstein-barr* Nuclear Antigen

EBV – Vírus de *Epstein-barr*

ECA – Enzima de Conversão da Angiotensina

ELFA – Enzyme-Linked Fluorescence Assay

ELISA – Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay

FTA – Abs - Fluorescent Treponemal Antibody-Absorbance

G6PD – Glicose 6-Fosfato-Desidrogenase

GQ – Garantia da Qualidade

Hb – Hemoglobina

HDL – Lipoproteínas de alta densidade

HPLC – Cromatografia líquida de alta pressão

HSV – *Herpes simplex*

HUC – Hospitais da Universidade de Coimbra

IECA – Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina

IFI – Imunofluorescência Indireta

IHMT – Instituto de Higiene e Medicina Tropical

INSA – Instituto Nacional Dr. Ricardo Jorge

K⁺ – Potássio

LCR – Líquido Cefaloraquídeo

LDH – Lactato Desidrogenase

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LIS – Laboratory Information System

MAO – Monoamino-oxidase

MDRD – Modification of Diet in Renal Disease

NA⁺ – Sódio

NADP – Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate

NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards

PCR – Polymerase Chain Reaction

PCR – Proteína c reativa

PSA – Prostate-Specific Antigen

PTH – Paratormona da tiroide

RLU – Relative Light Units

RPR – Rapid Plasma Reagin

SIADH – Síndrome de Secreção Inapropriada da Hormona Antidiurética

SPC – Serviço de Patologia Clínica

SRC – Síndrome da Rubéola Congénita

TDT – Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica

TFG – Taxa de Filtração Glomerular

TIBC – Capacidade total de fixação do ferro,

TPPA – Treponema Passive Particle Agglutination

TSS – Técnico Superior de Saúde

UBIC – Capacidade de fixação do ferro disponível

UV – Ultravioleta

VLDL – Very-low-density lipoprotein

VZV – *Varicella zoster virus*

γ -GT – Gama glutamil transferase

Resumo

As Análises Clínicas atualmente encaradas como método de diagnóstico auxiliar da medicina são, hoje em dia, fulcrais para a investigação de casos clínicos os quais são muitas vezes verdadeiros “enigmas”. No entanto, tal só se tem tornado possível devido à grande tecnologia existente hoje num laboratório de análises clínicas, facilitando assim todo o processo analítico bem como tornando-o mais rápido e eficiente.

A qualidade tem de estar presente em todas as etapas do processo analítico, desde a Pré-analítica, à Analítica e até Pós-analítica. Só desta forma é possível que o resultado final seja confiável.

As Análises Clínicas, com o decorrer dos tempos, tornaram-se indispensáveis na rotina hospitalar como meio auxiliar de diagnóstico, bem como na monitorização da doença.

O serviço de Patologia Clínica (SPC) dos Hospitais da Universidade de Coimbra – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (HUC-CHUC) é um ótimo exemplo do que é a rotina laboratorial num Hospital central, participando no diagnóstico e monitorização clínica dos seus doentes/utentes de todas as especialidades aqui existentes.

Este é um serviço onde está implementada alta tecnologia e onde a qualidade de serviço é palavra de ordem, sendo necessária a aplicação de modelos de qualidade.

O SPC dos HUC-CHUC está dividido em alguns setores tais como Urgência, Bioquímica, Microbiologia, Imunoserologia, Hormonologia e Virologia, onde todos trabalham em equipa e em benefício de quem está por detrás da amostra biológica que lhes chega para estudar.

Neste relatório serão aprofundadas duas das áreas deste serviço, Bioquímica e Imunoserologia, mais especificamente o campo da serologia, com o objetivo de dar a conhecer um pouco do que faz parte da rotina de um laboratório como o do SPC.

Palavras-chave: análises clínicas, diagnóstico, monitorização bioquímica, serologia, controlo de qualidade

Abstract

Currently seen as an auxiliary diagnosis method Clinical Analysis represents a crucial element to enable research on clinical cases that often represent true enigmas. Nevertheless such has only been possible given the range of technologies available at a clinical analysis laboratory, easing the overall analytical process, as well as, making it faster and more efficient.

Quality has to be present throughout the different phases of an analytical process, from Pre-analytical, through Analytical and in the Post-Analytical. Only with a high quality process it is possible to ensure the reliability of the final outcome.

Over time, Clinical Analysis has become an indispensable step in the hospitals routine, as an auxiliary diagnosis method and as a way to monitor diseases.

The Clinical Pathology Service (Serviço de Patologia Clínica – SPC, do Hospital da Universidade de Coimbra) (SPC-HUC) from the University of Coimbra Hospital, is a real example of laboratorial routine in a central hospital facility, participating on the diagnosis and clinical monitoring of its patients of all the specialties represented.

The hospital herein studied operates based on high-end technologies, where quality represents an across-units priority, given the implementation and development of quality models and processes.

SPC-HUC is divided in different units, such as, Accident & Emergency (A&E), Biochemistry, Microbiology, Immunoserology, Hormonology and Virology, where teams work actively to increase the well-being of the patients to whom the biological samples belongs to, and that go under analysis at this medical facility.

On this report, two of the presented units will be further studied, being these, Biochemistry and Immunoserology, with a focus on the field of serology, to demonstrate what are the medical practices and routines at the SPC-HUC laboratory.

Key words: clinical analysis, diagnosis, biochemical monitoring, serology, quality control

I. INTRODUÇÃO

O mundo das Análises Clínicas é constituído por uma vasta multidisciplinaridade, sendo este um processo evolutivo e em constante mudança. É hoje intitulado como um método de diagnóstico auxiliar, sendo, no entanto, cada vez mais fundamental na medicina moderna. As Análises Clínicas podem ajudar a inferir sobre o estado de saúde do indivíduo cuja amostra biológica foi estudada participando, assim, no diagnóstico e monitorização da doença.

Dada a responsabilidade deste processo, é fundamental que o resultado seja controlado e verificado por profissionais responsáveis e com formação adequada para a avaliação de todo o processo. É pois, fundamental que exista um controlo de qualidade interno diário, que permita avaliar se os parâmetros analisados respeitam as normas da qualidade, bem como a participação em programas de controlo de qualidade externa.

Por ser um mundo tão vasto e em constante mudança, o mestrado em Análises Clínicas surge como um projeto formativo, de forma a colmatar algumas das lacunas sentidas no decorrer do meu tempo enquanto Técnica Superior de Saúde (TSS). A exploração de novas áreas permite uma maior abertura de horizontes e adicionar novos conhecimentos resultantes deste processo formativo.

O local escolhido para a realização do estágio do Mestrado em Análises Clínicas foi o Serviço de Patologia Clínica (SPC) dos Hospitais da Universidade de Coimbra-Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (HUC-CHUC), por ser um local que reúne uma vasta multidisciplinaridade, desde Bioquímica Clínica, Hematologia, Microbiologia, Imunologia, Endocrinologia, Virologia. Por conseguinte, este serviço abrange uma vasta gama de áreas de conhecimento, bem como técnicas laboratoriais ministradas no referido mestrado, tornando-se, assim, um local de excelência para conciliar a teoria com a prática.

No âmbito do estágio deste processo formativo, houve oportunidade de passar por outras áreas, tomando conhecimento e aprofundando outras metodologias.

As áreas aprofundadas neste relatório são a Imunoserologia, mais especificamente, Serologia e a área da Bioquímica.

2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

Como já atrás foi dito, o local de escolhido para a realização do estágio referente ao presente relatório relativo ao Mestrado em Análises Clínicas, foi o Serviço de Patologia Clínica (SPC) dos Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC- CHUC), sito na Praceta Prof. Mota Pinto 3000-075 COIMBRA.

Recentemente, este serviço fundiu-se com os serviços de Patologia Clínica do Hospital Pediátrico e Hospital dos Covões, tendo como diretora de serviço Dra. Graça Ribeiro.

O espaço físico deste serviço é constituído por diversas secções, entre elas: uma sala de colheitas, uma área de receção de amostras, duas áreas administrativas, salas de lavagem, Laboratório de Urgência, Laboratório de Hematologia, Laboratório de Bioquímica, Laboratório de Microbiologia, Laboratório de Imunoserologia Laboratório de Virologia e Laboratório de Hormonologia, estando cada um destes laboratórios associados a zonas de validação dos resultados.

A sala de colheitas recebe utentes provenientes das consultas externas, bem como de Centros de Saúde da região e fazem em média cerca de 400 colheitas diárias.

Adicionalmente, os laboratórios de Urgência e Hematologia estão em funcionamento 24 horas por dia, todos os dias do ano e recebem amostras de serviços de Urgência e enfermarias desta unidade hospitalar. Para além do tipo de amostras mencionadas, o Laboratório de Hematologia, processa, ainda, todas as amostras que lhe chegam da sala de colheitas.

Especificamente, a zona de receção de produtos biológicos recebe amostras entre as 9h e as 15h30, onde são verificadas e conferidas as requisições. Posteriormente, estas são integradas no sistema informático e de seguida distribuídas pelos diferentes setores para serem processadas. Após as 15h30, todas as amostras passam a ser recebidas no Laboratório de Urgência onde são devidamente tratadas e acondicionadas, sendo que no dia seguinte seguem a sua predestinação.

Para além das amostras internas, provenientes da sala de colheitas e enfermarias, este serviço recebe, esporadicamente, amostras vindas de outros hospitais como o de Aveiro e de Castelo Branco, que por serem Hospitais de dimensões mais reduzidas não efetuam certas análises por serem muito específicas e invulgarmente pedidas. O mesmo acontece com o Serviço de Patologia Clínica dos HUC que possui uma listagem de análises que são enviadas para o exterior, uma vez que não se justifica a sua execução neste serviço. Estas análises referidas são enviadas para o Instituto Nacional Dr. Ricardo Jorge (INSA) e para a Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT). Segue em anexo um esquema representativo de todo o processamento analítico das amostras biológicas desde a sua prescrição ao resultado final (Anexo I).

A patologia clínica, como um serviço complementar de diagnóstico, visa, especialmente, auxiliar o clínico no seu diagnóstico prestando-lhe um serviço que objetiva qualidade e excelência. Para que tal seja possível, existe uma equipa multidisciplinar constituída por

médicos - patologistas clínicos; técnicos superiores de saúde - farmacêuticos, biólogos e bioquímicos; técnicos de análises clínicas e saúde pública, administrativos e auxiliares de ação médica.

Neste serviço existe um sistema informático – (LIS – Laboratory Information System) do SPC, Clinidata XXI (MaxData), que permite que todo o processo, desde a prescrição de análises ao resultado, seja um processo informático.

Por conseguinte, o referido sistema de gestão laboratorial informático possui diversas funcionalidades tais como: permitir o pedido de análises pelo clínico; a integração de análises no sistema aquando da receção da amostra; identificação da amostra por códigos de barras de leitura ótica; elaboração de listas de trabalho e envio das mesmas para os equipamentos; visualização de resultados das diferentes secções transmitidos pelos diversos equipamentos; processamento de dados estatísticos e faturação. Este sistema informático de gestão laboratorial é uma ferramenta útil e indispensável, na medida em que permite agilizar, simplificar, otimizar, diminuir erros e custos de todos os processos laboratoriais.

Em 2012, neste serviço, foram realizadas 5480227 análises, correspondentes a 102093 doentes. Segue em anexo toda a estatística de análises efetuadas em 2012, correspondentes a cada setor (Anexo II).

▪ **Setorização do Serviço de Patologia Clínica**

Laboratório de Urgência

O Laboratório de Urgência é um serviço permanente cuja equipa não é fixa, sendo que, existe um Patologista Clínico diariamente responsável por este setor.

Este laboratório tem como objetivo auxiliar o diagnóstico clínico dos doentes do Banco de Urgências, bem como servir de apoio permanente aos doentes internados nesta unidade hospitalar cujo estado de saúde exija cuidados urgentes. O Laboratório de Urgência é, portanto, uma unidade polivalente que cobre todas as áreas laboratoriais que interessam às situações de urgência, com exceção da Hematologia que tem Laboratório de Urgência independente.

Para dar resposta a todos os pedidos urgentes dispõem dos seguintes equipamentos:

Quadro 1 - Equipamentos existentes no Laboratório de Urgência.

LABORATÓRIO DE URGÊNCIA	
StreamLAB (<i>Siemens Healthcare</i>)	Distribuidor de amostras com centrífuga e pipetador para os Dimension
Architect c16000 e c16200 (<i>Abbott Diagnostics</i>)	Analísadores químicos por espectrofotometria, potenciometria indireta, turbidimetria e imunoquimioluminescência com micropartículas
ADVIA Centaur CP (<i>Siemens Healthcare</i>)	Analísador por quimioluminescência
BRAHMS Kryptor Compact (<i>BRAHMS GmbH</i>)	Analísador por imunofluoroensaio por TRACE (<i>Time-Resolved Amplified Cryptate Emission</i>)
TDxFLx (<i>Abbott Diagnostics</i>)	Analísador para imunoensaio por polarização de fluorescência (FPIA)
RAPIDLab 1260 (2) e 1265 (<i>Siemens Healthcare</i>)	Gasómetros – Metodologias de potenciometria, amperometria e espectrofotometria

Laboratório de Hematologia

Este é um setor que se subdivide em várias áreas sendo elas: hemocitometria, hemostase, citologia, biologia molecular, citogenética, citometria de fluxo e química hematológica. Este Laboratório tem como patologista responsável a Dra. Lénia Jorge.

Assim, para dar resposta a todos os pedidos que lhe chegam, este laboratório possui um leque alargado de equipamentos dos quais se distinguem os seguintes:

Quadro 2 - Equipamentos existentes no Laboratório de Hematologia.

LABORATÓRIO DE HEMATOLOGIA	
Beckman Coulter LH 780 (2) (<i>Beckman Coulter, Inc</i>)	Hemocitómetros por impedância elétrica, condutividade de rádio frequência, dispersão de luz e espectrofotometria
ABX Pentra DX120 SPS (<i>Horiba</i>)	Hemocitómetro por impedância elétrica, dispersão de luz, citoquímica e espectrofotometria, com módulo de preparação e coloração automática de esfregaços de sangue periférico
ALIFAX Test-1 (<i>Alifax</i>)	Velocidade de Sedimentação Eritrocitária por fotometria cinética capilar
ACL TOP 700 (2) (<i>Instrumentation Laboratory</i>)	Analísadores por métodos coagulométricos, cromogénicos ou turbidimétricos
Tromboelastógrafo ROTEM (<i>Tem Innovations GmbH</i>)	Tromboelastografia rotacional
Agregómetro (<i>Multiplate</i>)	Avaliação de agregação por impedância
StepOne Real Time PCR System (<i>Applied Biosystems</i>)	Termociclador para PCR em tempo real
Coulter Cytomics FC500 (<i>Beckman Coulter</i>)	Citómetro de cinco cores.

Este setor, em 2009, foi o primeiro laboratório a nível nacional a obter certificação segundo a Norma ISO 9002 pelo *Dutch Council of Accreditation* (certificado nº58985) e pela ENAC (certificado nº99.0523), por proposta da *Bureau Veritas Quality International* (BVQI). Também neste ano foi distinguido com o “Prémio de Qualidade em Serviços Públicos”.

Laboratório de Bioquímica

O setor de Bioquímica tem como responsável, a Dra. Fernanda Fontes, Técnica Superior de Saúde. Este Laboratório é o que apresenta o maior volume de pedidos diários e, como tal, está equipado com tecnologias que permite dar uma resposta célere a todos os pedidos. (Esta será uma secção que será desenvolvida com maior detalhe).

Quadro 3 - Equipamentos existentes no Laboratório de Bioquímica.

LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA	
OLA 2550 (<i>Beckman Coulter</i>)	Distribuidor e alíquotador de amostras, partilhado entre a Bioquímica, Hormonologia e Imunoserologia.
Olympus AU5400 (<i>Beckman Coulter</i>)	Analisador químico por espectrofotometria, potenciometria indireta e turbidimetria
Aucion Max AX-4030 (<i>Arkray</i>)	Analisador para sumária de urina, por fita teste, por espectrofotometria de reflectância
Sysmex UF-1000i (<i>Sysmex Europe GmbH</i>)	Analisador de sedimentos urinários por Citometria de fluxo e impedância eléctrica
PerkinElmer AAnalyst 800 (<i>PerkinElmer</i>)	Analisador por espectrometria de absorção atómica
Gonotec OSMOMAT 030 (<i>Gonotec GmbH</i>)	Osmómetro por crioscopia
Grifols Triturus (<i>Grifols</i>)	Analisador automatizado para ELISA
Bio-Rad VARIANT II (<i>Bio-Rad</i>)	Analisador por HPLC – substituiu o analisador Bio-Rad D-10
PHM210 Standard pH meter (<i>Radiometer analytical</i>)	Medidor de Ph
Espectrofotómetro	
Refratómetro	

Laboratório de Microbiologia

O setor de Microbiologia tem como responsável a Dra. Luísa Boaventura, Patologista Clínica. Este laboratório é constituído por quatro setores sendo eles Bacteriologia Geral, Micobactérias, Micologia e Parasitologia.

A Microbiologia é a área de estudo onde ainda não foi possível a automatização da maioria dos processos, no entanto, existem hoje, já disponíveis, equipamentos que permitem agilizar o processo. Estão disponíveis no laboratório os seguintes equipamentos:

Quadro 4 - Equipamentos existentes no Laboratório de Microbiologia.

LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA	
miniMacs Workstation (Don Whitley Scientific)	Câmara de anaerobiose
Bact/Alert 3D (bioMérieux)	Sistema automatizado de incubação de culturas de sangue e líquidos de derrame. Leitura automática por colorimetria de um sensor de pH
VITEK 2 (bioMérieux)	Sistema automatizado de leitura espectrofotométrica de cartas de identificação de microrganismos e leitura cinética turbidimétrica de cartas para testes de suscetibilidade aos antimicrobianos
miniAPI (bioMérieux)	Sistema semiautomatizado de leitura espectrofotométrica de galerias de identificação de microrganismos API
mini VIDAS (bioMérieux)	Para pesquisa de toxina de <i>Clostridium difficile</i> por imunoensaioenzimático

Laboratório de Imunoserologia

O setor de Imunoserologia tem como responsável o Dr. Fernando Rodrigues, Patologista Clínico.

O laboratório de Imunoserologia está subdividido em três áreas tais como: Imunologia geral; Autoimunidade e Serologia, sendo esta uma das áreas abordadas com mais detalhe.

Neste setor os equipamentos que se destacam são:

Quadro 5 - Equipamentos existentes no Laboratório de Imunoserologia.

LABORATÓRIO DE IMUNOSEROLOGIA	
BN ProSpec (2) (Siemens Healthcare)	Nefelómetro
ImmunoCap 250 (Phadia)	Analizador para imunoensaio fluoroenzimático
Leitor de imunodifusão radial	ETI System Microplate Washer (Sorin Biomedica)
Mago 4 (Diamedix)	Equipamento automático para ensaios ELISA e preparação de lâminas de imunofluorescência indirecta
Analyzer I (Euroimmun)	Equipamento automático para ensaios de ELISA
EUROblot Master (Euroimmun)	Equipamento para immunoblotting
Mastercycler Personal (Eppendorf)	Termociclador para PCR
Auto-LiPA (Innogenetics)	Equipamento para ensaios por hibridização reversa
Wallac Wizard 1470 Automatic Gamma Counter (PerkinElmer)	Equipamento para radioimunoensaio – partilhado com o Laboratório de Hormonologia

LABORATÓRIO DE SEROLOGIA	
Architect i2000 (Abbott Diagnostics)	Imunoensaio por quimioluminescência com micro partículas magnéticas (CMIA)
VIDAS (bioMérieux)	Ensaio ELFA (ensaio imunoenzimático com detecção final de fluorescência)
Liaison XL (DiaSorin)	Imunoensaio por quimioluminescência (CLIA)

Laboratório de Virologia

A secção de Virologia está sob a responsabilidade da Dra. Vanda Mota, Técnica Superior de Saúde.

Nesta secção faz-se detecção do vírus por, cultura rápida (Shell Vial) e detecção de antígenos por imunofluorescência direta, antigenémia bem como a quantificação da carga viral em amostras biológicas por PCR em Tempo Real e sequenciação de ácidos nucleicos. Assim possuem os seguintes equipamentos:

Quadro 6 - Equipamentos existentes no Laboratório de Virologia.

LABORATÓRIO DE VIROLOGIA	
Lightcycler 2.0 (Roche)	Equipamento automático de PCR em tempo real
ViroSeq HIV-1 Genotyping System (Abbott Diagnostics)	Equipamento para sequenciação genética do HIV-1
OpenGene DNA Sequencing system (Siemens healthcare)	Equipamento de sequenciação genética, com o ensaio <i>TRUGENE HIV -1 Genotyping Assay</i> para sequenciação do HIV-1
COBAS AmpliPrep Instrument /COBAS TaqMan 48 Analyzer (Roche)	Equipamento automatizado de extração, amplificação e PCR em tempo real

Laboratório de Hormonologia

A Hormonologia tem como responsável a Dra. Fátima Leitão, Patologista Clínica.

Neste setor desenvolvem-se estudos mais específicos da química clínica, estudos funcionais das glândulas endócrinas (hipotálamo, hipófise e glândulas alvo), doseamento de marcadores tumorais e rastreio bioquímico pré-natal (DPN). Para tal, possui os seguintes equipamentos.

Quadro 7 - Equipamentos existentes no Laboratório de Hormonologia.

LABORATÓRIO DE HORMONOLOGIA	
Immulite 2000 (Siemens Healthcare)	Analizador químico por quimioluminescência
ADVIA Centaur XP (Arkray)	Analizador por quimioluminescência de micropartículas
Siemens Versacell (Siemens Healthcare)	Distribuidor de amostras entre o Immulite e o Centaur
BRAHMS Kryptor (BRAHMS GmbH)	Fluoroimunoensaio por tecnologia TRACE (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission)
Elecsys Systems (Roche)	Analizador por electroquimioluminescência
AxSYM (Abbott Diagnostics)	Analizador por ensaio imunoenzimático com micropartículas (MEIA)

3. CONTROLO DA QUALIDADE

“A garantia da qualidade (GC) é definida pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) como a prática que inclui todos os esforços, procedimentos, formatos e atividades dirigidas para assegurar que uma qualidade ou produto especificado seja alcançado e mantido”.¹

Para se evitarem erros simples, que podem alterar os resultados dos exames laboratoriais, foi criado o controlo de qualidade. Assim, devem ser seguidos os padrões para assegurar que os resultados demonstrem com fiabilidade o estado clínico do paciente. Desta forma, o controlo de qualidade (CQ) visa aumentar os níveis de confiança nos resultados analíticos, tendo como objetivo a obtenção de valores fidedignos.

▪ Avaliação Interna da Qualidade

A avaliação interna da qualidade não é mais que um controlo intralaboratorial; ou seja a análise diária de amostra de controlo com valores conhecidos para avaliar a imprecisão (concordância) dos resultados.

A partir do controlo de qualidade interna é possível fazer um controlo estatístico de erros, que tem como objectivo monitorizar e avaliar o processo analítico. Para tal são utilizados os dados reunidos através de ensaios, por forma a garantir que o resultado obtido por um determinado método analítico, de comportamento estável, esteja de acordo com o esperado.

¹ Fonte: HENRY, JOHN BERNARD - **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. 19ª Edição, Brasil, Editora Manole LTDA. ISBN 85-204-0826-5

Assim, é possível assegurar a fiabilidade dos resultados analíticos do paciente, bem como reduzir a variabilidade dos mesmos, através da monitorização da percentagem do coeficiente de variação (CV%) que permite determinar a imprecisão (erro aleatório).

Decididamente, trabalhar com confiança e garantias de qualidade é, portanto, o lema desta Unidade de Saúde. Desta forma, existe um CQ interno que é efetuado diariamente, antes de iniciar a rotina diária, por forma a garantir que equipamento e reagentes estão nas devidas condições para avançar com a rotina laboratorial.

Quando algo sai fora de controlo, são implementadas de imediato medidas corretivas, antes de dar início à rotina diária, até detetar e eliminar (ou minimizar) o agente interferente.

▪ **Avaliação Externa da qualidade**

Este serviço participa também regularmente em diversos programas de controlo de qualidade externo, programas interlaboratoriais. Este tipo de programas visa avaliar o desempenho de cada laboratório participante, analisando e trabalhando estatisticamente todos os dados que até eles chegam, referentes aos diferentes participantes.

A participação neste tipo de programas permite então determinar o erro total² ou seja avaliar a imprecisão (%CV) e a inexatidão, erro sistemático (bias)³ do método ou equipamento consoante o tipo de programa de avaliação externa da qualidade em questão.

Neste serviço todos os setores participam em programas de Avaliação Externa da Qualidade sendo eles:

- United Kingdom External Quality Assessment Service (UKNEQAS);
- Randox International Quality Assessment Scheme (RIQAS);
- Digital PT;
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC);
- Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA);
- Oncocheck;
- Allergy Quality Club (Phadia's External Quality Assessment Program).

² Erro total (TE,%) = bias% + 1,65CV% (IC 95%)

³ Bias – Diferença obtida entre o valor encontrado e o valor real.

4. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

4.1. Bioquímica

A bioquímica é a ciência que estuda as reações químicas que ocorrem nos seres vivos, que permite caracterizar e compreender o funcionamento da célula, tecidos e órgãos.

Por conseguinte, o setor de Bioquímica Clínica tem como função a realização de análises qualitativas e quantitativas em fluídos corporais, como sangue, urina, liquor, bem como outros líquidos, fezes, cálculos, e outros produtos biológicos, investigando variações metabólicas responsáveis pelo desenvolvimento de patologias.

Assim, visa mensurar e expressar quimicamente em valores, os analitos importantes, para controlo e manutenção da homeostase orgânica. Portanto, tem como principais doseamentos a glicose, o colesterol total e fracionado, triglicéridos, ácido úrico, ureia, creatinina, proteínas, enzimas, eletrólitos entre outros. A bioquímica clínica como área multidisciplinar tem como objetivos o diagnóstico, tratamento, monitorização e/ ou prevenção das patologias. Como tal, todos os testes laboratoriais devem ser realizados com a maior precisão possível, recorrendo-se para isso ao uso de métodos analíticos e instrumentação de referência. Deve também haver um entendimento das reações químicas envolvidas em cada teste e dos efeitos de variáveis físicas nos procedimentos.

4.1.1. Metodologia utilizada

- **Espetrofotometria**

A espectrofotometria é uma metodologia presente, hoje em dia, em larga escala num laboratório. Esta metodologia baseia-se na medição, sob condições controladas, da intensidade de energia radiante absorvida ou transmitida.

Os componentes do espectrofotómetro consistem numa lâmpada, fenda de entrada, monocromador, célula analítica ou cuvete e o fotodetector.

Assim, a fonte de luz, podendo ser luz visível, infravermelha, ou ultravioleta, que atravessa o monocromador e será separada em discretos comprimentos de onda. Por conseguinte a luz de determinado comprimento de onda selecionado incidirá na cuvete que conterá uma solução, cuja absorção vai ser medida cumprindo a tradicional lei de Beer⁴. [1] [2]

⁴ A Lei de Beer é expressa matematicamente pela seguinte fórmula: $A=abc$, onde **A** é absorvância; **a** é a constante de proporcionalidade definida como absorvância; **b** é a trajectória da luz em centímetros e **c** é a concentração do composto absorvido, normalmente expresso em gramas por litro.

Este é um método quantitativo que tem por base a comparação de cor produzida por uma reacção química, com uma cor padronizada a qual se designa de “branco”.^[1]

Consoante a intensidade de cor medida será inferida a concentração do parâmetro em estudo.

▪ **Espetrofotometria de absorção atómica**

A espectrofotometria de absorção atómica (EAA) baseia-se na absorção de radiação eletromagnética por átomos gasosos no estado fundamental. Ou seja, um elemento quando no estado fundamental ou atómico de baixa energia, ao ser submetido a uma fonte de energia externa (cátodo), absorve parte desta energia, resultando numa diminuição de intensidade transmitida para o detetor.

O espectrofotometro de absorção atómica é constituído por uma lâmpada oca catódica do metal a analisar, um oscilador, um queimador-atomizador um monocromador e um fotodetector.

A EAA é um método de análise útil na determinação quantitativa e qualitativa de metais.^[1]

▪ **Citometria de Fluxo**

A citometria de fluxo é uma metodologia utilizada para quantificar e caraterizar partículas microscópicas em suspensão num meio líquido.

Um citómetro de fluxo é um sistema constituído por uma fonte de luz (laser), uma câmara de fluxo, filtros ópticos, fotomultiplicadores e uma unidade processadora de dados.

Esta metodologia tem por princípio a medida física e/ou química de características celulares ou outras partículas. Estas medições são feitas enquanto as células ou outros produtos passam alinhadas por um feixe luminoso. Desta forma a luz dispersa é direccionada e convertida num sinal digital que é utilizado para quantificação e diferenciação dos diferentes constituintes da amostra. A informação produzida é gerada pela dispersão do feixe de luz ou pela luz emitida por fluorocromos após excitação.^{[1][2]}

▪ **Cromatografia líquida de alta pressão**

A cromatografia é uma metodologia pela qual os componentes de uma mistura são separados. Neste processo existem duas fases, sendo elas a fase móvel e a fase estacionária. Consoante o tipo de fases móveis e estacionárias assim existem vários tipos de cromatografia, líquida, gasosa, de alta pressão entre outras.

Esta metodologia utiliza o princípio da maior ou menor afinidade entre os elementos da fase móvel e estacionária para separação dos constituintes da amostra.

Especificamente, na cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), a fase móvel é injetada a pressões constantes na coluna cromatográfica, a fase estacionária está então dependente do que se pretende analisar. À medida que a fase móvel passa pela coluna cromatográfica, os solutos que a compõem e possuem maior afinidade pelos constituintes da fase estacionária vão-se deslocando mais lentamente que os que possuem uma menor afinidade pela fase estacionária, que se deslocam mais rapidamente. ^{[1][2]}

▪ **Turbidimetria**

A turbidimetria é uma metodologia geralmente utilizada para medir a diminuição de transmissão de luz causada pela formação de um complexo (Ex: Antígeno – Anticorpo). Ou seja, a quantidade de luz absorvida por uma suspensão dependerá da concentração na amostra e do tamanho da partícula em suspensão.

Em suma, a turbidimetria não é mais do que a medição da luz que a partícula absorve e a quantidade de luz que ela deixa passar.

▪ **Cinética enzimática**

Nesta metodologia ocorre a formação do complexo enzima substrato. Com a ligação enzima-substrato, o substrato passa para o seu estado ativado. Desta forma, é analisada a atividade enzimática, que vai originar um produto.

Esta reação está normalmente associada a uma reação colorimétrica por forma a poder ser mensurável por espectrofotometria. No entanto, para que a reação enzimática ocorra, é necessário que as condições ótimas de reação estejam garantidas tais como, existência de um tampão que mantenha o pH pretendido, o substrato, os cofactores e temperatura controlada. ^[2]



E – Enzima, **S** – Substrato, **ES** – Enzima – Substrato, **P** – Produto

▪ **Potenciometria**

Potenciometria é a medida da diferença de potencial elétrico (força eletromotriz) entre dois eléctrodos de uma célula galvânica.

Nesta metodologia consoante o que se pretende mensurar usam-se eléctrodos seletivos específicos e um eléctrodo de referência. [1]

▪ **ELISA- Enzyme linked immunoabsorbant assay**

Neste ensaio imunoenzimático, ocorre uma reacção antigénio – anticorpo. O anticorpo liga-se com o antigénio (incubação). Seguidamente acrescenta-se um ligando (imunoglobulina anti humana - molécula acoplada a uma enzima (peroxidase). Assim, esta molécula vai ligar-se também ao anticorpo.

Após lavagem a presença do anticorpo é revelada pela adição de um cromogénio, sendo esta uma substância incolor que adquire cor sob o efeito da porção enzimática do ligando.

A microplaca é então lida em espectrofotómetro multicanal e a revelação advém da densidade ótica da solução final. É necessário estabelecer uma curva padrão com soluções de controlo, o que permite determinar a quantidade de substância a dosear numa solução desconhecida, neste caso o anticorpo. [2]

▪ **Refratometria**

A refratometria é o método utilizado para a medição do índice de refração de substâncias a fim de avaliar a sua composição.

Com efeito, a refratometria baseia-se no princípio de que uma substância, quando atravessada por um feixe de luz, este muda de direcção, designando-se este processo de refração. Por conseguinte, o ângulo de refração obtido como consequência da mudança de direcção do feixe de luz é transformado pelo refratómetro em valores de índices de refração (nD), que podem ser usados para expressar concentrações de determinados analitos numa solução. Isto torna-se possível uma vez que o índice de refração varia consoante as concentrações na substância analisada. [1]

4.1.2. Parâmetros analisados

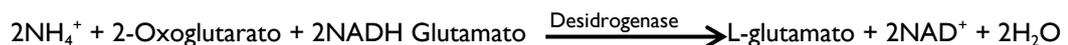
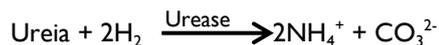
▪ **Função Renal**

Azoto Ureico

A ureia é um composto sintetizado pelo fígado a partir do amoníaco, produto tóxico, e metabolito final do catabolismo proteico exógeno (dieta) e endógeno (tecdular).

Utiliza-se então para a avaliação integrada da função renal, pois mais de 90% é excretada na urina. Assim sendo, nos doentes renais crónicos, a ureia apresenta valores elevados sendo essa elevação proporcional ao grau de insuficiência renal. Para além desta existem outras situações em que este composto pode aparecer elevado, sendo elas: dieta rica em proteínas e desgaste muscular (em desportistas ou casos de fome severa).^{[1][2][14]}

- **Amostra:** Soro, urina
- **Método:** Cinético U.V. pelo sistema enzimático urease / glutamatodesidrogenase (Olympus AU5400)

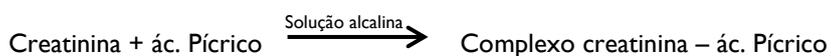


Creatinina

A creatinina resulta do catabolismo da fosfocreatina, do músculo-esquelético. Desta maneira este metabolito é sintetizado endogenamente e libertado para os fluídos corporais, sendo os seus níveis plasmáticos mantidos dentro de valores muito estreitos. Assim, por ser um metabolito de produção constante e de quase total excreção glomerular, a depuração renal de creatinina é um indicador por excelência em rotina laboratorial da taxa de filtração glomerular.

A sua determinação é importante no diagnóstico e monitorização de doenças renais agudas e crónicas. Este analito é normalmente, avaliado a par com a ureia, sendo o conjunto o melhor indicativo da função renal.^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro e urina
- **Método:** Cinético colorimétrico (Olympus AU5400)



Prova da Depuração de Creatinina

A prova de depuração da creatinina é uma prova de avaliação da taxa filtração glomerular em doentes com suspeita de insuficiência renal ou que já sofrem desta patologia (insuficiência renal crónica).

Para a sua realização é determinada a creatinina no sangue e na urina.

A depuração da creatinina pode ser feita para períodos de quatro, doze ou vinte e quatro horas (desde que a urina seja conservada no frigorífico durante a colheita e desde que o doente seja hidratado de modo a assegurar uma diurese $\geq 2\text{ml /minuto}$).

É calculada a partir da seguinte fórmula⁵: [1]

$$\text{Depuração da creatinina} : \frac{U \times V}{S \times T}$$

U = Concentração de creatinina na urina

S = Concentração de creatinina no soro

V = Volume de urina em ml

T = Tempo de colheita da urina em minutos

Taxa De Filtração Glomerular Estimada

A taxa de filtração glomerular (TFG) é o melhor índice de avaliação da função renal. Este parâmetro é estimado a partir de equações que tenham em conta a concentração sérica da creatinina bem como outras variáveis: idade, sexo, raça, peso e altura. Assim, são recomendadas equações para a determinação do TFG tendo em conta a metodologia do doseamento de creatinina utilizado. Desta forma, o SPC utiliza a fórmula MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)⁶ e a EPI-CKD⁷(Chronic Kidney Disease), mais recomendada actualmente: [2]

- **TFG-e (ml/min/1.73 m²)** = 175 x [Creatinina sérica]^{-1.154} x (Idade)^{-0.203} x [0,742 se feminino] x [1,212 se raça negra].
- **TFG-e** = 141 x min (SCreat/k,l)^α x max (SCreat- soro/k,l)^{-1.209} x (Idade)^{-0.203} x 0.993^{Idade} x [1.018 se feminino] x [1.159 se raça negra].⁸

Ácido Úrico

O ácido úrico é o produto final do metabolismo dos nucleótidos purínicos.

A maior parte da síntese do ácido úrico ocorre no fígado e posteriormente é excretado pelos rins. A sua determinação é muito útil no diagnóstico e monitorização de numerosas situações clínicas como: insuficiência renal, gota, terapêuticas citostáticas, fome e psoríase.

⁵ O resultado obtido dá-nos a indicação da quantidade de sangue que sofre depuração de creatinina por unidade de tempo (min).

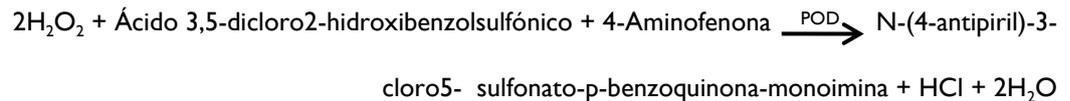
⁶ Existem situações em que a utilização de equações se revela inadequada tais como: dietas especiais, alteração significativa da massa muscular, índice de massa corporal < a 19kg/m² ou > a 35 kg/m², hepatopatias grave, edema generalizado ou ascite, gravidez, ajuste de dose de fármacos com elevada toxicidade e eliminação renal e estudo de potenciais dadores de rim .

⁷ O uso da fórmula CKD-EPI foi recomendado pelo Kidney Disease: Improving Global Outcomes na actualização das *guidelines* clínicas para a Doença Renal Crónica.

⁸ SCret é a creatinina sérica em mg/dl; k é 0,7 para mulheres e 0,9 para homens; α é -0,329 para mulheres e -0,411 para homens; min é o min de SCreat/k ou l e max é o máximo de ZCreat/K ou l)

A quantificação deste analito na urina pode dar indicações importantes para o tipo de terapêutica em casos de hiperuricemia, fornecendo, assim, indicações se o doente deve ser tratado com drogas uricosúricas, para aumentar a excreção renal, ou alopurinol para suprimir a síntese púrica. ^{[1] [2] [14]}

- **Amostra:** Soro e urina
- **Método:** Colorimétrico enzimático pelo sistema uricase / peroxidase (POD) (Olympus AU5400)



▪ Equilíbrio Hidro-Eletrolítico

Sódio

O sódio (Na^{2+}) é o principal catião extracelular representando cerca de 90% dos catiões inorgânicos por litro de plasma. Assim, dele depende o volume do fluido extracelular.

As causas de perda de sódio podem ser: terapêutica diurética, deficiência mineralocorticóide, sudorese excessiva, queimadura extensa, vômitos e diarreia. Pelo contrário, algumas endocrinopatias, como aldosteronismo secundário, Doença de Cushing, doença cardíaca congestiva, síndrome nefrótica, cirrose hepática com ascite ou estenose da artéria renal provocam retenção de sódio e ligeiro aumento da sua concentração sérica. ^{[2] [14]}

- **Amostra:** Soro e urina
- **Método:** Potenciometria indireta (Olympus AU5400)

Potássio

O potássio (K^+) é o catião intracelular mais importante intervindo na regulação da excitabilidade neuromuscular e contração cardíaca, no volume de fluido intracelular e na concentração de H^+ .

Desta forma, a hipocaliémia pode resultar de uma dieta deficiente neste ião por períodos prolongados, perda excessiva deste ião na urina (hiperaldosteronismo, terapia diurética, diurese osmótica prolongada na diabetes, ou em situações de alcalose) e no trato gastrointestinal (vômitos, diarreias, fístulas, adenoma viloso do intestino).

Por outro lado, uma hipercaliémia pode ocorrer como resultado de destruição tecidual, lesões por esmagamento. Para além de tudo isto, doentes com insuficiência renal com comprometimento da excreção de potássio poderão apresentar níveis elevados de potássio se não seguirem uma dieta restritiva a este nível. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro e urina
- **Metodologia:** Potenciometria indireta (Olympus AU5400)

Cloro

O cloro (Cl⁻) É o principal anião extracelular. Juntamente com o sódio representam a maior parte dos constituintes osmoativos do plasma. Como tal, intervém, entre outras funções, na manutenção da pressão osmótica, sendo que as concentrações do cloro variam, inversamente, com as concentrações do bicarbonato.

Desta maneira, a concentração deste anião aumenta em desidratações hipertónicas, em determinadas acidoses tubulares renais, em diarreias com grande perda de bicarbonato, em intoxicações por salicilatos, no hiperparatiroidismo e situações de hiperventilação. Por outro lado, a sua concentração diminui quando ocorrem vômitos excessivos, aspiração gástrica, acidose metabólica, insuficiência adrenal, hiperaldosteronismo. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro e urina
- **Metodologia:** Potenciometria indireta (Olympus AU5400)

Osmolalidade Sérica

A determinação da osmolalidade é utilizada para avaliar os distúrbios dos eletrólitos. A determinação da osmolalidade sérica e da urina é utilizada para a avaliação do estado de regulação da água pelos rins em distúrbios eletrolíticos graves como pode acontecer na Diabetes Insipida ou na síndrome de secreção inapropriada da hormona antidiurética (SIADH).

Sendo os principais osmoactivos no plasma o Na⁺ o Cl⁻, a glicose e a ureia, a osmolalidade sérica é obtida a partir do seguinte cálculo: ^[2]

- **Fórmula:** $1,86 \times [\text{Sódio}] + [\text{Glicose}]/18 + [\text{Azoto Ureico}]/2,8 + 9$

- 9mOsm/kg : Representa a contribuição de outras substâncias osmoactivas no plasma como K⁺, Ca²⁺ e proteínas.
- Constante 1,89: Reflete as contribuições do ião Na⁺ e Cl⁻ para a osmolalidade.

▪ **Metabolismo Osseo**

Cálcio

O cálcio (Ca^{2+}) é o elemento mineral mais abundante do organismo, apresentando-se sob a forma de três frações diferentes: o cálcio livre ou ionizado, o cálcio ligado a proteínas plasmáticas (albumina e globulinas) e o cálcio complexado com iões diferentes como com o bicarbonato, o lactato, o fosfato e o citrato.

No entanto a forma biológica ativa é o cálcio livre sendo a sua concentração plasmática regulada pelas hormonas PTH (paratormona) e a 1,25-diidroxivitamina D.

Desta forma este elemento participa em diversos processos fisiológicos nomeadamente na coagulação, na condução neuromuscular e consequente excitabilidade dos músculos esquelético e cardíaco, na preservação e integridade da membrana celular e na mineralização do tecido ósseo. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro e urina
- **Método:** Fotométrico colorimétrico – Arsenazo III – Complexometria (Olympus AU5400)



Cálcio Corrigido

O cálcio total plasmático resulta das frações ligadas a proteínas e da fração livre (ionizada). Assim sendo, os valores doseados dependem da concentração de albumina sérica (ao contrário da fração ionizada). Logo, em situações de hipoalbuminémia, é possível estimar a concentração sérica de cálcio utilizando fórmulas. Essas fórmulas de cálculo são assentes em valores normais médios de albumina, que determinam o valor estimado de cálcio caso a albumina fosse normal. ^{9 [2]}

- **Fórmula:** $0,8 \times (4 - [\text{Albumina (g/dl)}]) + [\text{Cálcio (mg/dl)}]$;

Magnésio

O magnésio tem um papel importante no metabolismo celular, dentro das células e a maior parte do magnésio está ligado a proteínas e a moléculas carregadas negativamente, em particular o ATP. Por seu turno, o magnésio extracelular encontra-se na sua forma livre.

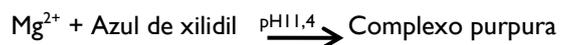
⁹ A fórmula utilizada pelo SPC é genérica e não foi, portanto, desenvolvida com base na população hospitalar. De acordo com a fórmula apresentada, deve-se aumentar o cálcio total em 0.8mg por cada grama de albumina que falta para atingir o nível médio de albumina de 4.0g/dl.

Este parâmetro é determinado em situações em que a albumina sérica <3 e/ou cálcio <8.8.

Este elemento participa ativamente em diferentes mecanismos como a fosforilação oxidativa, a glicólise e a replicação celular. Além disso é cofactor de muitas enzimas funcionando como substrato ativador ou desencadeador de várias reações.

Desta forma, a redução da concentração deste elemento resulta num aumento da excitabilidade muscular, uma vez que este elemento inibe de forma competitiva a entrada de Ca^{2+} dentro dos neurónios. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro e urina
- **Método:** Azul de xilidil – Complexometria (Olympus AU5400)



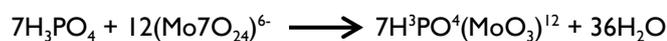
Fósforo

O fósforo está distribuído por todo o organismo nas formas de fosfato orgânico ou inorgânico. Aproximadamente 10% do fosfato no soro, encontra-se ligado a proteínas, 35% apresenta-se complexado com o sódio, cálcio e magnésio e o restante encontra-se livre.

Assim sendo, o fosfato inorgânico é o maior componente da hidroxiapatite no osso, tendo por isso um importante papel estrutural. Além disso, participa nos mecanismos de obtenção de energia, visto fazer parte das moléculas de ATP e NADP e é um constituinte essencial da membrana celular, pois faz parte dos fosfolípios.

Desta forma, uma hipofosfatémia pode ocorrer como resultado da saída do fosforo do espaço extracelular para o espaço intracelular, perda renal, diminuição da absorção intestinal, perda do fosfato intracelular. Por outro lado, uma hiperfosfatémia pode estar relacionada com baixos níveis ou resistência da paratormona (PTH) ou acromegalia. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro e urina
- **Método:** Fosfomolibdato – Complexometria UV (Olympus AU5400)



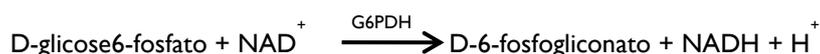
▪ Metabolismo dos Hidratos de Carbono

Glicose

A glicose é um monossacarídeo sendo a mais importante fonte energética do organismo. O seu doseamento é indispensável no diagnóstico e monitorização de *Diabetes mellitus* e estudo de intolerância à glicose. A *Diabetes mellitus* pode ocorrer em todas as idades e no decurso da gravidez.

A determinação de glucose no líquido cefalorraquidiano (LCR) é importante no diagnóstico de meningites bacterianas, visto que nestes casos há um elevado consumo deste monossacarídeo, quer por parte dos microrganismos, quer dos leucócitos, o que provoca uma descida acentuada dos valores de glucorráquea (hipoglucorráquea).^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro, urina, LCR, líquidos pleurais, peritonias e sinoviais.
- **Método:** Enzimático de referência com hexoquinase (HK)¹⁰



Prova de tolerância oral à glicose oral

A prova de tolerância oral à glicose (PTGO) é realizada quando os níveis de glicose em jejum são inferiores a 140mg/dl, em pacientes com suspeita de intolerância à glicose e em grávidas sem patologia de *Diabetes mellitus*.

Este teste tem como fundamento avaliar a glicose metabolizada em diferentes intervalos de tempo, após a ingestão de 75gr de glicose em 250ml de água, sendo o primeiro doseamento efectuado em jejum.^[1]

✓ PTGO no adulto e na grávida:¹¹

Quadro 8 - Valores de referência PTGO.

Hora	Glicemia plasmática
0	≥92 mg/dl (5,1 mmol/L)
1	≥180 mg/dl (10,0 mmol/L)
2	≥153 mg/dl (8,5 mmol/L)

¹⁰ A hexoquinase catalisa a fosforilação da glicose pelo ATP, dando origem à glicose-6-fosfato e ADP. Para prosseguir a reação, uma segunda enzima, a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) catalisa a oxidação de glicose-6-fosfato pelo NAD⁺, dando origem ao NADH. Assim sendo a concentração do NADH formada é diretamente proporcional à concentração de glicose e então determinada medindo o aumento da absorvância a 340 nm. Podem ser realizadas provas com doseamentos de glicose em tempos de colheita específicos.

¹¹ Disponível em: <http://www.dgs.pt/ms/7/default.aspx?id=5519>, Norma da Direcção-Geral da Saúde Nº 007/2011 de 31/01/2011 - acedido online a 10 de junho de 2013.

Quadro 9 - Valores de referência para a PTGO e classificação da patologia.

Classificação	Jejum		Duas horas após
Normal	<110 mg/dl (6,1 mmol/L)	E	<140 mg/dl (7,8 mmol/L)
Anomalia da Glicemia de Jejum (AGJ)	≥110 mg/dl (6,1 mmol/L) <126 mg/dl (7 mmol/L)	E	Se avaliada <140 mg/dl (7,8 mmol/L)
Tolerância Diminuída à Glicose (TDG)	<126 mg/dl (7 mmol/L)	E	≥140 mg/dl (7,8 mmol/L) e <200 mg/dl (11,1 mmol/L)
Diabetes Mellitus	≥126 mg/dl (7 mmol/L)	OU	≥200 mg/dl (11,1 mmol/L)

Hemoglobina Glicada

A hemoglobina (Hb) normal, no adulto, divide-se em HbA (97%), HbA₂ (2.5%) e HbF (0.5%).

A análise cromatográfica de HbA mostra um fracionamento em HbA_{1a}, HbA_{1b} e HbA_{1c}, sendo esta última a mais abundante, e à qual se deu o nome de hemoglobina glicada.

A glicação da hemoglobina é uma reação não enzimática, lenta e irreversível, entre a glicose plasmática e os grupos amina livres da hemoglobina eritrocitária.

A taxa de formação de hemoglobina glicada é diretamente proporcional à concentração sanguínea de glicose e ao tempo de vida média dos eritrócitos, cerca de 120 dias. Este doseamento reflete os valores médios da glicemia ao longo das 6 a 8 semanas anteriores, pelo que é muito utilizado no diagnóstico e monitorização da *Diabetes mellitus*.^{[1][2]}

- **Amostra:** Sangue total (colhido num tubo com anticoagulante EDTA)
- **Método:** HPLC (randox d-10/variant ii)

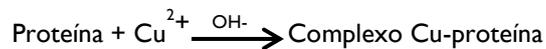
Proteínas

Proteínas Totais

Consiste no doseamento de todas as proteínas plasmáticas circulantes, nomeadamente albumina e as globulinas que na sua maioria, são sintetizadas no fígado, gânglios linfáticos, baço e medula óssea. A sua concentração pode encontrar-se alterada em inúmeras situações clínicas, como: síndrome nefrótica, hemorragias, desidratação e mieloma múltiplo.

A determinação das proteínas totais é importante para o diagnóstico e avaliação de alterações metabólicas, estados nutricionais e doenças hepáticas, renais, da medula óssea, etc.^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Colorimétrico – Método do Biureto (formação de um complexo corado resultante da ligação, em meio alcalino, entre as proteínas e o cobre) (Olympus AU5400)



Albumina

A albumina é a proteína mais importante do organismo. Devido à sua elevada concentração plasmática e ao seu baixo peso molecular, a albumina é, também, a proteína mais abundante no fluido extracelular, incluindo o LCR, o fluido intersticial e a urina.

As suas principais funções são a manutenção da pressão oncótica e o transporte de inúmeras substâncias, entre as quais, as pouco hidrossolúveis, tais como: ácidos gordos livres, bilirrubina, iões metálicos, hormonas e fármacos.

A sua determinação é utilizada no diagnóstico e tratamento de diversas patologias hepáticas, renais ou patologias que envolvam a medula óssea, bem como perturbações metabólicas e nutricionais.

Sendo assim, uma hipoalbuminémia pode ter como origem: uma produção deficiente em patologias hepáticas, ou em dietas com défice proteico; por um catabolismo exacerbado proveniente de lesão tecidual ou inflamação; absorção reduzida de aminoácidos devido a síndromas de má absorção ou má nutrição; perda de proteínas como acontece em síndrome nefrótica, enteropatas ou queimaduras; e alteração na sua distribuição como por exemplo em ascites. Por seu turno uma hiperalbuminémia (que é rara) pode ter como origem uma desidratação grave e estase venosa. ^{[1][2][14]}

- **Amostra:** Soro, Líquidos pleural e peritoneal
- **Método:** Colorimétrico pela reação com o Verde de Bromocresol



▪ Função Hepato-Biliar

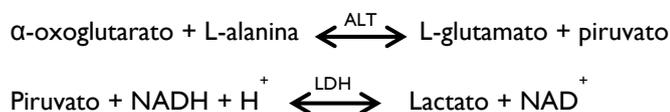
A. Citólise

As transaminases são um grupo de enzimas às quais pertencem a Aspartato aminotransferase (AST) e a Alanina aminotransferase (ALT). São responsáveis pela interconversão dos aminoácidos em 2-oxo-ácidos através da transferência do grupo amina.

Alanina Aminotransferase

A enzima alanina aminotransferase (ALT/GTP) encontra-se em maior quantidade no tecido hepático comparativamente com os outros tecidos, o que faz dela um bom auxiliar de diagnóstico nas doenças hepáticas. Valores elevados desta enzima dão a indicação de doença do parênquima hepático, com deterioração da integridade da membrana plasmática do hepatócito. Podem também aparecer níveis elevados da ALT em situações associadas a necrose hepatocelular aguda de origem vírica, tóxica ou circulatória, bem como em situações de cirrose e colestase extra-hepática. [2][14]

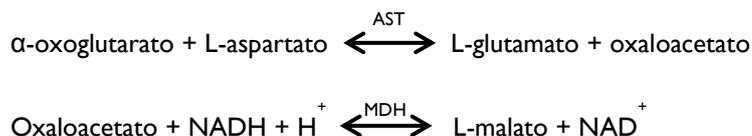
- **Amostra:** Soro
- **Método:** Cinético enzimático U.V.



Aspartato Aminotransferase

A enzima aspartato aminotransferase (AST/GOT) encontra-se distribuída por vários tecidos como: cardíaco, hepático, renal, cerebral e músculo-esquelético. No entanto, é de destacar o fígado e músculo cardíaco pois, em casos de hepatites, aguda e tóxica, necrose hepática, cirrose e enfarte do miocárdio os valores de AST aumentam severamente, servindo de ajuda ao diagnóstico clínico. [2][14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Cinético enzimático por U.V.



B. Colestase

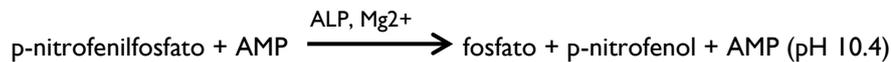
Fosfatase Alcalina

A fosfatase alcalina (ALP) pode encontrar-se nos osteoblastos, hepatócitos, rins, baço, placenta, leucócitos e intestino delgado.

Assim sendo, a ALP e as suas isoenzimas são determinadas no diagnóstico e controlo de patologias hepáticas, ósseas e intestinais. Apresentando-se elevada em todas as formas de colestase, doença de Paget, raquitismo, osteomalácia, fraturas e tumores malignos.

No entanto, há que salvaguardar certas situações (não patológicas) em que esta enzima pode aparecer alterada tais como em crianças, adolescentes e nas mulheres pós-menopausa. Esta situação ocorre em crianças e adolescentes, devido a uma intensa atividade osteoblástica de remodelação óssea e nas mulheres pós-menopausa devido à osteoporose. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Cinético colorimétrico (Olympus AU5400)



AMP: 2-amino-2-metil-1-propanol

Gama-Glutamil Transferase

A gama glutamil transferase (γ -GT) é uma enzima que pertence ao grupo das peptidases e é responsável pela transferência do grupo γ -glutamil dos peptídeos para outros aceptadores como aminoácidos ou peptidos.

Desta forma, a γ -GT está presente no soro e em todas as células (a nível da membrana celular), excetuando as musculares. A sua presença no soro advém principalmente do sistema hepatobiliar, apresentando-se elevada em todas as formas de doença hepática. Esta enzima é também um marcador sensível para a ingestão alcoólica desregrada, pois a sua elevação sobressai relativamente às outras enzimas. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Enzimático colorimétrico



Bilirrubina

A bilirrubina é um pigmento resultante, maioritariamente, da degradação do grupo heme da hemoglobina (80-85%), sendo a restante obtida a partir da rutura de proteínas que contêm hemoglobina tais como a mioglobina, citocromos, catalases e da medula óssea resultantes de uma eritopoiese ineficaz (hemácias anormais).

A bilirrubina não conjugada (ou indireta) é transportada pela albumina até aos hepatócitos, local onde se dissociam e esta é conjugada com o ácido glucurónico. Desta forma torna-se hidrossolúvel, sendo posteriormente excretada pelo fígado e acumulando-se na vesícula biliar. Por conseguinte, ocorrem descargas de bÍlis da vesícula para o duodeno que desempenha um papel importante na digestão das gorduras.

Quando há obstrução das vias biliares a bilirrubina conjugada volta para o sangue indo depositar-se na pele, nas membranas mucosas e na esclerótica, dando origem a um sinal clínico designado por icterícia.

O acréscimo da bilirrubina direta no sangue aumenta a sua excreção urinária ao mesmo tempo que as fezes ficam descoradas.

A hiperbilirrubinémia pode ter origem no aumento da bilirrubina não conjugada ou conjugada. Assim, a hiperbilirrubinémia pode ter varias classificações: pré-hepática, hepática ou pós hepática.

Pré-hepática: Nesta situação a bilirrubina aumentada será a não conjugada. Como patologias relacionadas com hiperbilirrubinémia pré-hepática temos: anemias hemolíticas corpusculares (talassemia e anemia falciforme); anemia hemolítica extracorpúscular (ex: reação a transfusão de sangue devido a incompatibilidade do sistema sanguíneo ABO e Rh); icterícia neonatal e anemia hemolítica do recém-nascido.

Hepática: Nestas situações a fração elevada é a bilirrubina conjugada. Com o aumento desta fração estão relacionadas doenças de origem hepática, tais como hepatite aguda e viral crónica, cirrose e carcinoma hepatocelular.

Pós-hepática: A fração elevada será também a bilirrubina conjugada, acontece em situações de colestase extra-hepática e rejeição de transplante hepático. ^{[1][2][14]}

Bilirrubina Total

Em situações de hemólise acentuada, eritropoiese ineficaz, hemorragias extensas ou na Doença de Gilbert há um aumento da concentração sérica de bilirrubina total.

Amostra: Soro

Método: Colorimétrico.¹²



Bilirrubina Direta

A bilirrubina direta pode aparecer com valores alterados em situações de colangite, doença de Dubin Jhonson, carcinoma do pâncreas ou da árvore biliar e hepatites.

- **Amostra:** soro
- **Método:** É utilizado o método descrito acima, mas na ausência de cafeína.

¹² A bilirrubina reage com um ácido sulfanílico azotado (o DPD – 3,5-diclorofeniltetrafluoroborato), na presença de cafeína, formando um complexo azoico (azobilirrubina), de cor avermelhada, cuja intensidade é proporcional à concentração de bilirrubina.

▪ Função Gastrointestinal e Pancreática Exócrina

α-Amilase

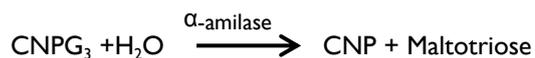
A α-amilase é uma enzima produzida pelo pâncreas e pelas glândulas salivares.

O seu doseamento no soro e na urina é usado para avaliar doenças pancreáticas, parotidite, alcoolismo e insuficiência renal e tumores, podendo a enzima ser também detetada nos líquidos ascítico e pleural.

Desta maneira, o doseamento da α-amilase na urina está indicado na investigação da hiperamilasemia associada com macroamilasemia ou insuficiência renal. Hipoamilasemia pode ser observada em fibrose quística avançada, doença hepática grave após pancreatectomia.

[2][14]

- **Amostra:** Soro, líquidos peritoneal e pleural
- **Método:** Cinético colorimétrico (Olympus AU5400)



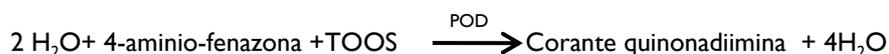
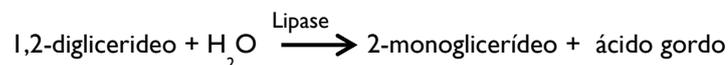
CNPG₃ = 2-cloro4-nitrofenilα-D-maltotriose

CNP = 2-cloro4-nitrofenol

Lipase

A lipase é também uma enzima pancreática, no entanto mais estável e específica que a α-amilase. Por não ser eliminada por via renal, mantém-se mais tempo em circulação. Desta maneira apresenta-se elevada nas patologias já mencionadas acima. [14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Colorimétrico cinético



MGLP - Monogliceril Lipase

GK - Glicerol-kinase

GPO - Glicerol-3-fosfato-oxidase

POD - Peroxidase

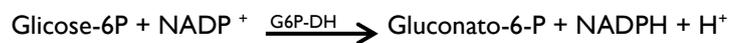
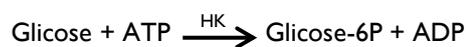
▪ Marcadores de Destruição Celular

Creatina Quinase

A creatina quinase (CK) é uma enzima que catalisa a fosforilação reversível da creatina com consumo de ATP.

A atividade da CK reparte-se, essencialmente, pelo músculo estriado, cérebro e tecido cardíaco. Como tal, esta enzima encontra-se aumentada em diversas situações clínicas tais como: esforço muscular intenso, distrofia muscular progressiva e enfarte do miocárdio (é utilizado como marcador cardíaco). [2][14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Cinético U.V. (Olympus AU5400)

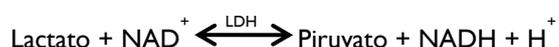


Lactato Desidrogenase

A enzima lactato desidrogenase (LDH) é uma enzima que catalisa a oxidação do L-lactato a piruvato utilizando o NAD^+ como aceitador de hidrogénio.

As alterações séricas da LDH podem ser observadas em hepatopatias, anemias hemolítica e megaloblástica (devido à eritropoiese ineficaz que leva a uma destruição precoce dos eritrócitos e seus precursores e faz com que sejam libertadas grandes quantidades de LDH), tumores abdominais e pulmonares, linfoma de Hodgkin e enfarte do miocárdio. Sendo esta uma enzima intracelular, é utilizada como marcador de situações que possam envolver lesão tecidual. [2][14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Enzimático com leitura fotométrica U.V.



▪ Outras Enzimas

Fosfatase Ácida

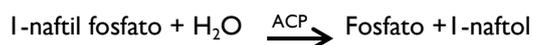
A fosfatase ácida (ACP) é uma enzima que faz parte dos lisossomas celulares. Por isso, se distribui por todo o organismo embora, com atividade mais significativa no baço, fígado, medula óssea, próstata, eritrócitos e plaquetas.

Em tempos, foi muito utilizada no diagnóstico e monitorização do carcinoma da próstata, no entanto o doseamento do PSA (Prostate-Specific Antigen) veio substituí-la.

Uma parte importante da atividade sérica desta enzima prende-se com a atividade osteoclástica, daí ocorrerem aumentos fisiológicos em crianças aquando da fase de crescimento.

Por outro lado, os valores desta enzima aparecem alterados em situações como: o tumor das células gigantes (osteoclastoma), neoplasia osteoclástica e osteoporose, Doença de Paget, hiperparatiróidismo, mieloma múltiplo. Ainda na Doença de Gaucher, uma doença esplénica em que há destruição dos lisossomas, ocorre igualmente alteração dos valores de ACP.¹³ [2][14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Colorimétrico enzimático utilizando como substrato I-naftil fosfato que origina um composto corado azoico



Colinesterases

As enzimas colinesterases são responsáveis pela hidrólise imediata da acetilcolina, libertada nos terminais nervosos através das sinapses. Assim sendo, a degradação da acetilcolina é necessária para a despolarização do nervo de modo a que este seja repolarizado para o próximo processo de condução.

O doseamento das colinesterases é útil na avaliação do funcionamento do fígado, em situações de envenenamento por insecticidas, determinação de doentes com formas atípicas desta enzima.

¹³ A fosfatase ácida prostática é calculada por diferença entre a ACP e NACP, sendo esta última doseada pelo método anterior após inibição da fosfatase ácida prostática pelo tartarato.

Desta forma, estas enzimas apresentam valores diminuídos em situações de doença hepática parenquimatosa (hepatite viral, cirrose, carcinoma metastático e congestão hepática), bem como, em situações de insuficiência cardíaca e abscessos amebianos, má nutrição, infeções agudas, anemias, enfarte do miocárdio e dermatomiose. Por outro lado valores aumentados podem ser verificados na *Diabetes mellitus*, cardiopatia coronária, síndrome de Gilbert, entre outras patologias. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Cinética colorimétrica (Olympus AU5400)

Adenosina Desaminase

A Adenosina Desaminase (ADA) está envolvida na diferenciação e proliferação dos linfócitos. Desta maneira, o seu doseamento no LCR é relevante, sendo este um marcador importante para o diagnóstico de meningite tuberculosa. No entanto, também se torna útil no diagnóstico diferencial de derrames pleurais, pericárdicos e ascites. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro, LCR, outros líquidos
- **Método:** UV cinético (Olympus AU5400)

Enzima de Conversão da Angiotensina

A Enzima de Conversão da Angiotensina (ECA) é a responsável pela conversão da angiotensina I em angiotensina II. A ECA faz parte de sistema renina-angiotensina-aldosterona, muito estudado na hipertensão arterial. Como tal, um importante grupo de fármacos anti-hipertensores são os chamados IECA, ou seja, Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina.

A ECA apresenta-se elevada em muitas patologias, tais como: histoplasmose, sarcoidose, cirrose alcoólica, hipertiroidismo e fibrose pulmonar idiopática. Por outro lado, valores significativamente baixos estão associados a situações de lesão pulmonar aguda.

O doseamento da ECA é usado na avaliação da resposta terapêutica, com corticoides, na sarcoidose. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro, LCR, outros líquidos
- **Método:** Enzimático U.V. Este método utiliza como substrato enzimático o furoilacril-fenil-glicil-glicina.

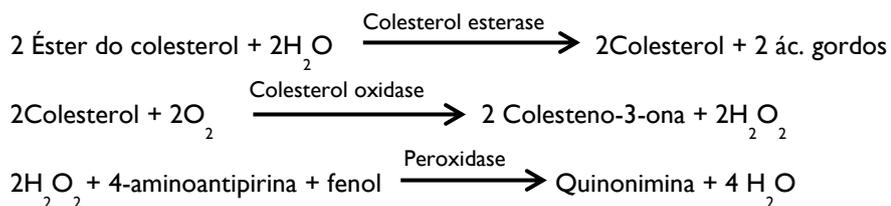
▪ Lípidos

Colesterol Total

O colesterol, no nosso organismo é, na sua maior parte, sintetizado endogenamente pelo fígado e outros tecidos sendo uma pequena parte derivado da dieta. Este é um constituinte essencial das membranas celulares e lipoproteínas, sendo também um precursor para a síntese de hormonas esteroides e ácidos biliares.

O colesterol é sobretudo transportado em duas classes de lipoproteínas (HDL, LDL), as quais desempenham um papel contrário na patogénese das perturbações lipídicas. Desta maneira, a determinação do colesterol total apenas nos dá um valor de base que indica se os estudos do metabolismo das lipoproteínas (HDL, LDL, triglicerídeos) devem ser prosseguidos. [2][14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Enzimático colorimétrico (Olympus AU5400)



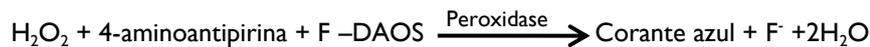
Colesterol HDL

As lipoproteínas de elevada densidade (HDL) são responsáveis por cerca de 25% do transporte do colesterol das células periféricas ao fígado, daí chamar-se o “colesterol bom”. Assim sendo, o colesterol HDL é considerado um protetor cardiovascular.

Desta maneira, dentro do intervalo de referência, valores elevados são considerados benéficos para o organismo, por outro lado, valores baixos são indicadores de risco de doenças coronárias, independentemente do valor do colesterol total. Como tal, o valor de HDL é um indicador do risco de aterosclerose e é também utilizado para monitorização de doentes que estejam a fazer tratamento com medicamentos para redução de lípidos. [2][14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Enzimático colorimétrico – M. da imunoinibição (Olympus AU5400)





F-DAOS: N-etil-N (2-hidroxi3-sulfopropil) -3,5-dimetoxi4fluoranilina

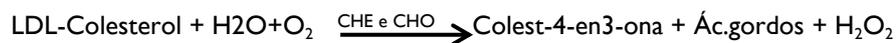
Colesterol LDL

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são formadas através da ação da lipoproteína lípase no VLDL. São portanto, os principais transportadores de ésteres de colesterol do fígado aos tecidos periféricos.

As LDL são conhecidas como o “mau colesterol”, pois estão implicadas na formação das placas de ateroma e consequente Doença Cardiovascular.

A avaliação do colesterol LDL dá a indicação prematura do risco de aterosclerose e pode dar a indicação da resposta à terapia com drogas redutoras de lípidos.¹⁴ [2][14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Enzimático colorimétrico



CHE: Colesterol Esterase, **CHO:** Colesterol Oxidase

Triglicerídeos

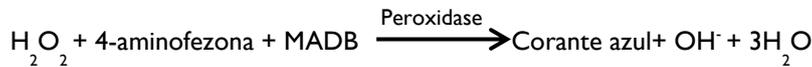
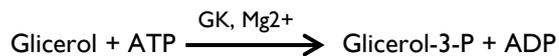
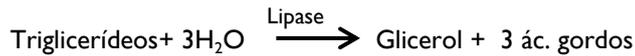
Os triglicerídeos são ésteres de glicerol, sendo uma parte obtida na dieta diária e outra sintetizada no fígado.

A avaliação dos triglicerídeos deve ser feita em conjunto com o colesterol e as outras lipoproteínas pois, é a integração de todos estes parâmetros que se torna importante no diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares. Existem ainda doenças genéticas, como a hipertrigliceridémia familiar, em que os triglicerídeos chegam a atingir cerca de 10x o seu valor normal e que por isso, devem ser monitorizadas frequentemente.^{[2][14]}

- **Amostra:** Soro

¹⁴ Até valores de triglicerídeos de 500mg/dL, o colesterol LDL pode ser calculado a partir da seguinte fórmula: [Colesterol Total] – ([Colesterol HDL] + ([Triglicerídeos]/5)).

- **Método:** Enzimático colorimétrico



MADB: N-bis(4-sufobutil)-3,5-dimetilanilina

▪ Inflamação e Infecção

Proteína C-Reativa

A proteína C-reativa (PCR) é uma das principais proteínas de fase aguda nos processos inflamatórios sendo produzida no fígado. Desta maneira, pode encontrar-se elevada em processos infecciosos, inflamatórios e neoplasias. Por esta razão é monitorizada em situações de infecção, doenças auto-imunes e também pode ser utilizada para avaliação do risco coronário. [2][14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Imunoturbidimetria (Olympus AU5400)

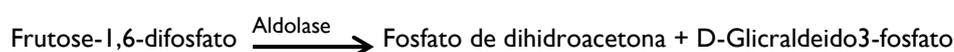
▪ Patologia Músculo-Esquelética

Aldolase Sérica

A aldolase sérica é uma enzima usada no estudo das doenças do músculo-esquelético em que há perda muscular progressiva como por exemplo: nas distrofias musculares, na dermatomiosite e polimiosite.

A aldolase não é muito específica havendo, atualmente, outras enzimas como a AST, a LDH e a CK, que fornecem informações mais precisas sobre a lesão muscular e por isso são preferidas como auxiliares de diagnóstico. [2][14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** UV cinético (Olympus AU5400)



▪ **Metais**

Lítio (Monitorização terapêutica)

O lítio é utilizado sob a forma de carbonato de lítio no tratamento de doentes com quadros depressivos, sendo assim a sua monitorização torna-se importante no ajuste da dose terapêutica destes doentes. [2]

- **Amostra:** Soro ou plasma colhido pelo menos 12 horas após a toma da última dose do fármaco.
- **Método:** Espectrofotometria de absorção atómica (AAAnalyst)

Zinco

O zinco é um dos componentes essenciais de muitas enzimas tais como álcool desidrogenase, anidrase carbónica, fosfatase alcalina, entre outras. Desta maneira, níveis baixos de zinco estão relacionados, embora de uma maneira não específica, com algumas patologias como, cirrose alcoólica, anemia falciforme, carcinoma do pulmão, enfarte do miocárdio agudo, insuficiência renal crónica, queimaduras cutâneas, terapia com corticoides. Assim, sendo este um nutriente, o seu doseamento é também importante nos doentes em que é administrada alimentação parenteral. [2]

- **Amostra:** soro
- **Método:** Espectrofotometria de absorção atómica (AAAnalyst)

Cobre

O doseamento do cobre tem especial importância no diagnóstico e acompanhamento da Doença de Wilson. Nesta patologia não existe a enzima que, a nível hepático, liga o cobre à ceruloplasmina (proteína transportadora de cobre) e consequentemente, formam-se depósitos deste metal no fígado, cérebro e à volta da córnea (anéis de Kayser-Fleischer). É característico aparecerem concentrações séricas baixas e urinárias elevadas. [2]

- **Amostra:** Soro e urina
- **Método:** Espectrofotometria de absorção atómica (AAAnalyst)

Alumínio

O alumínio é dos elementos que existe em maior quantidade na crosta terrestre. Como tal, as principais formas de contaminação são a ingestão e entrada por via parenteral. Sob condições fisiológicas normais o alumínio é praticamente todo excretado pela filtração

glomerular. Desta maneira, pessoas com a função renal comprometida têm graves problemas de acumulação deste elemento podendo levar a intoxicações graves. [8]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Espectrometria de absorção atômica (AAAnalyst)

▪ **Catecolaminas**

Adrenalina (Epinefrina) / Noradrenalina (Norepinefrina) / Dopamina

A adrenalina, noradrelanina e dopamina são catecolaminas, apenas se diferenciando pelo local de produção e modo de ação.

A adrenalina é produzida essencialmente na medula adrenal, possuindo uma atividade fisiológica hormonal e neurotransmissora.

A noradrenalina, por seu turno, é produzida na medula adrenal e no sistema nervoso simpático, atuando como neuromodelador do sistema nervoso central, periférico e simpático.

Por fim, a dopamina é produzida na medula adrenal e sistema nervoso central, tendo uma atividade agonista dos recetores dopaminérgicos.

Desta maneira, são utilizadas no diagnóstico ou monitorização de feocromocitomas, neuroblastomas ou outros tumores neuroendócrinos, onde apresentam valores elevados. Por outro lado, a deficiência da enzima MAO-A pode também ser responsável por valores elevados destas catecolaminas. Assim sendo, valores moderadamente elevados podem ocorrer em situações de hipertensão essencial, ansiedade, atividade física intensa e ainda devido a terapêutica. [2]

- **Amostra:** Plasma (Sangue total)
- **Metodologia:** ELISA (Triturus)

▪ **Química Hematológica**

Glicose 6-Fosfato-Desidrogenase

A Glicose 6-Fosfato-Desidrogenase (G6PD) catalisa a primeira reação do shunt das pentoses, oxidando a glicose-6-fosfato a 6-fosfogluconato com produção de NADPH, sendo fundamental na proteção dos danos oxidativos e manutenção fundamental dos eritrócitos. Desta maneira, a sua deficiência resulta na lise celular dos glóbulos vermelhos após exposição a agentes oxidantes, medicamentos, químicos ou alimentos.

A deficiência genética da G6PDH é a deficiência enzimática mais comum no mundo inteiro e o favismo a patologia mais severa.

Por tudo isto, este doseamento é utilizado na avaliação e diagnóstico de anemia hemolítica intermitente e anemia hemolítica do recém-nascido. ^{[2][14]}

- **Amostra:** Sangue total
- **Método:** Cinética colorimétrica (Olympus AU5400)

Lisozima Sérica

A lisozima é a enzima que catalisa a hidrólise das ligações β - glicosídicas dos polissacarídeos presentes na membrana celular de algumas células hematopoiéticas. Este doseamento é importante para a avaliação dos estados de proliferação granulocítica ou monocítica (leucemias, síndromes mieloproliferativas). No entanto, podem também aparecer valores elevados em patologias como sarcoidose, tuberculose, doença de Crohn e infeções agudas.

[1]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Turbidimetria

▪ **Estudo do Ferro**

Ferritina

A ferritina é a proteína de reserva do ferro, havendo uma relação direta entre o nível de ferro sérico e o armazenado, uma vez que os níveis de ferritina refletem a quantidade de ferro armazenada na medula óssea. Por isso, este doseamento é utilizado para avaliação dos níveis séricos do ferro.

Desta forma, valores diminuídos podem observar-se em situações de deficiência de ferro, ainda antes de aparecer anemia. Por outro lado, valores elevados podem ocorrer em doenças crónicas (estados inflamatórios, doenças cardíacas, linfomas e leucemias), bem como doenças de armazenamento/sobrecarga de ferro. ^{[1][2][14]}

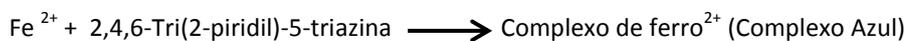
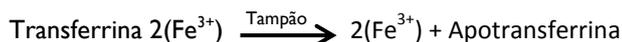
- **Amostra:** Soro
- **Método:** Imunoturbidimetria (Olympus AU5400)

Ferro

O ferro é um importante componente do organismo uma vez que participa numa variedade de processos vitais. É componente da hemoglobina, mioglobina e também de várias enzimas como o citocromo oxidase e peroxidases, entre outras.

Este é um doseamento importante na avaliação de anemias por insuficiência de ferro, de estados inflamatórios agudos ou crónicos, e estados hemorrágicos. Por outro lado, valores diminuídos podem também ocorrer em situações de tratamento específico para anemias ou outras causas (ex: tratamento de anemia perniciosa com Vit. B₁₂). Ao contrário, valores séricos elevados aparecem em situações de sobrecarga de ferro, como hemocromatose e envenenamento agudo por ferro, por via oral ou parenteral. Níveis elevados também podem ser observados em casos de leucemia aguda, hepatite aguda, talassemia ou envenenamento por chumbo. ^{[1][2][14]}

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Colorimetria (Olympus AU5400)



Capacidade de fixação do ferro disponível / Capacidade total de fixação do ferro

A capacidade de fixação do ferro disponível (UBIC) tem que ver com os locais de ligação do ferro disponíveis na transferrina, uma vez que apenas um terço dos locais de ligação da transferrina são ocupados com o ferro.

Assim, os doseamentos do UIBC permitem determinar a capacidade total de fixação do ferro (TIBC), que corresponde à quantidade de ferro que a transferrina é capaz de fixar. Como tal, o TIBC é obtido pela seguinte fórmula: [Ferro sérico] + UIBC.

Desta forma, estes doseamentos são utilizados em situações de anemias por deficiência de ferro, onde estão elevados. Por outro lado, valores baixos ou normais aparecem em situações de doença crónica, doença renal, talassemias e toxicidade pelo ferro. ^[14]

- **Amostra:** Soro
- **Método:** Nitroso-PSAP – (UICB) Colorimetria (Olympus AU5400)

Cálculo – (TIBC) - Fórmula: [Ferro serico] + UIBC

Saturação da transferrina

- **Método:** Cálculo – Fórmula: [Ferro]/TIBC

▪ Bioquímica Urinária

✚ Glicose	✚ Cálcio	✚ Cloro	✚ Amilase
✚ Azoto ureico	✚ Sódio	✚ Magnésio	✚ Uratos
✚ Creatinina	✚ Potássio	✚ Fósforo	

Proteínas Urinárias

A determinação de proteínas urinárias é útil em casos de patologias renais crónicas, na avaliação da lesão renal e diminuição da função renal. Embora seja raro, podem aparecer valores elevados noutras situações, como a de exercício físico intenso ou febre. ^[14]

- **Amostra:** Urina
- **Método:** Colorimétrico com Vermelho de Pirogalol / Molibdato (Olympus AU5400)¹⁵

Sumária De Urina (Urina Tipo 2) ^[6]

Características físicas: cor e aspeto

Avaliação bioquímica:

✚ **Densidade**

✚ **pH**

✚ **Proteínas** – Podem surgir valores anormais em situações de febre, esforço físico intenso, insuficiência cardíaca congestiva e lesão renal.

✚ **Glicose** – Surge quando a quantidade filtrada é superior à capacidade de reabsorção tubular.

✚ **Hemoglobina** – Pode surgir em situações de algaliamento traumático ou pode significar hematúria.

✚ **Corpos Cetónicos** - Metabolismo incompleto dos lípidos, surgem normalmente em casos de acidose metabólica ou diabetes descompensada.

✚ **Bilirrubina** - Bilirrubina direta, pode surgir em situações de pré-icterícia e pode indicar doença hepática ou obstrução biliar.

¹⁵ O Vermelho de Pirogalol liga-se ao molibdato formando um complexo vermelho que em presença de proteínas, forma outro complexo, de cor azul púrpura

- ✚ **Urobilinogénio** - Produto final do metabolismo da bilirrubina, pode surgir em situações de doença hepática incapacidade dos hepatócitos de reabsorver ou excretar este metabolito.
- ✚ **Nitritos** – Resultado da redução de nitratos a nitritos por parte de bactérias gram-negativas. Indicador de bacteriúria.
- ✚ **Leucócitos** – Pode ocorrer em situações de infecção.
 - **Amostra:** Primeira urina da manhã, que deverá ser colhida para um recipiente limpo e ser processada o mais rapidamente possível a fim de evitar a sua alteração.
 - **Método:** Espectrofotometria (por fita-teste) (Aution Max)

Sedimento Urinário

A análise é feita de forma automática por citometria de fluxo no equipamento Sysmex UF – 100. O analisador utiliza a citometria de fluxo (incidência de um laser de Árgon) e a impedância para a contagem dos elementos celulares, cilindros, e cristais.

A avaliação qualitativa e semiquantitativa dos elementos celulares (células epiteliais, células redondas, leucócitos, eritrócitos), cilindros, fungos e cristais é feita por observação microscópica do sedimento urinário, sempre que a contagem no aparelho, acima mencionado, nos deixe dúvidas. ^{[3][4][6]}

- **Amostra:** Urina
- **Método:** Citometria de fluxo e impedância elétrica (Sysmex UF1000i)

Quadro 10 - Elementos do sedimento urinário.

Cilindros	Formados por gel dos túbulos renais e matriz proteica. Podem indicar lesões parenquimatosas renais.
Linfócitos	Podem indicar inflamação renal ou do trato urinário em contagens muito elevadas.
Agregados Linfocitários	Pode indicar resposta inflamatória grave.
Cristais	Podem ser encontrados vários tipos de cristais como oxalato de cálcio, fosfato de cálcio, e ácido úrico, estes sem grande significado clínico. Cristais de cistina podem ser indicativos de cistinúria.
Eritrócitos	Podem indicar hematuria quando em valor elevado.
Células leveduriformes	<i>Candida albicans</i> é a mais frequente.
Bactérias	Podem indicar infeção urinária.
Células descamação	Células de descamação que cobrem a vagina e uretra. Aparecem frequentemente em pequena quantidade.
Células do trato urinário superior	Células pouco frequentes que, quando em grande número, podem indicar lesão do trato urinário superior.

Osmolalidade Urinária

A osmolalidade urinária avalia-se por crioscopia no Osmomat 030.

Pode, também, usar-se uma tabela que faz corresponder a densidade urinária à osmolalidade.

[6]

- **Amostra:** Urina
- **Método:** Crioscopia (Osmomat)

Quadro II - Correspondência entre densidade urinária e osmolalidade.

Densidade	1.006	1.012	1.018	1.024	1.030	1.036
mosm/l	200	400	600	800	1000	1200

pH

O pH urinário normalmente reflete, em situações não patológicas, o tipo de alimentação adotada. Assim, em alimentações ricas em proteínas apresentam, tendencialmente, pH mais ácido, que em alimentações predominantemente vegetarianas. No entanto, a alteração de pH também pode estar relacionado com algumas patologias como, por exemplo, infeções bacterianas, sendo que um pH alcalino é patológico. [6]

- **Amostra:** Urina, outros líquidos
- **Método:** pHmetria (PHM 210)

Densidade

A determinação da densidade na urina é utilizada para avaliar a capacidade de concentração pelos rins. Esta determinação não é mais do que a avaliação da quantidade de partículas dissolvidas na urina.

Desta forma, a presença de proteínas, glicose, manitol, contraste radiológico podem elevar a densidade da urina. Por outro lado, densidades baixas podem indicar uma elevada ingestão de líquidos. [6]

- **Amostra:** Urina, outros líquidos
- **Método:** Refratometria

▪ Litíase Renal

Cistina

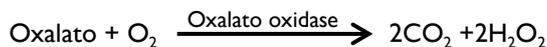
A cistinúria é a patologia mais comum relativamente a defeitos no transporte de aminoácidos. Em condições normais, a cistina é filtrada pela glomérulo renal e depois reabsorvida no túbulo renal proximal por enzimas transportadoras específicas. Estas estão ausentes na cistinúria, fazendo com que a cistina seja excretada na urina. Este aminoácido surge elevado na insuficiência renal (por obstrução) ou infeções urinárias.¹⁶

- **Amostra:** Urina das 24 horas
- **Método:** Colorimétrico

Oxalatos

A determinação de oxalatos é utilizada para o estudo do risco de litíase renal. A sua presença em valores elevados está relacionada com uma alimentação rica em oxalatos ou percursos dos mesmos, hiperoxalúria primária e má absorção intestinal.

- **Amostra:** Urina das 24 horas
- **Método:** Enzimático e colorimétrico



Análise química do cálculo renal

Esta é uma análise semiquantitativa, que pretende determinar os constituintes (em percentagem) do cálculo (Oxalato de cálcio, Amónia, Fosfato, Magnésio, Ácido úrico e Cistina) utilizando métodos colorimétricos.

▪ Metabolismo de Neurotransmissores

Metanefrinas / Ácido Vanilmandélico

As metanefrinas e o ácido vanilmandélico são metabolitos das catecolaminas (epinefrina e norepinefrina). Nos doentes com hipertensão grave, faz-se o doseamento destes analitos

¹⁶ A cistina forma um composto azul com o ácido fosfotúngstico que posteriormente é lido no espectrofotómetro a 600nm. (Este composto é muito instável, pelo que a leitura deve ser feita imediatamente após a adição do ác. fosfotúngstico).

para despiste de tumores das células cromafins: feocromocitoma, paragangliomas e neuroblastomas. [1]

- **Amostra:** Urina de 24h colhida para frasco com HCl 6N.
- **Método:** ELISA (Triturus)

Serotonina e Hidroxitriptofano / Ácido 5-hidroxi-indol acético

A desaminação oxidativa da serotonina, pela Monoamino-oxidase (MAO), leva à formação de ác. 5-hidroxi indolacético que é excretado na urina, sob a forma livre.

A serotonina é um derivado do triptofano, que funciona como um vasoconstritor e potente estimulante do músculo liso. Nos casos de tumor carcinoide existe uma formação exagerada de serotonina que, conseqüentemente, sofre ação da MAO e conduz a um aumento de excreção de 5 – HIAA. [1]

- **Amostra:** Urina de 24h colhida para frasco com HCl6N.
- **Método:** Cromatográfico – espectrofotométrico

▪ **Bioquímica Noutros Produtos**

Líquido Cefalorraquídeo

- ✚ Adenosina desaminase
- ✚ Enzima de conversão da angiotensina

Outros Líquidos

- | | | | |
|----------------|---------------------|-----------|------------------|
| ✚ Glicose | ✚ Albumina | ✚ Amilase | ✚ Triglicerídeos |
| ✚ Azoto Ureico | ✚ Sódio | ✚ LDH | ✚ pH |
| ✚ Creatinina | ✚ Potássio | ✚ ADA | ✚ Osmolalidade |
| ✚ Proteínas | ✚ Bilirrubina Total | ✚ ECA | ✚ Densidade |

4.3. Serologia

A serologia é uma área da imunologia que tem como objetivo determinar e quantificar a presença de antígenos e anticorpos, bem como estudar a interação entre eles, a partir de imunoenaios. [1]

Como tal, a serologia é a área de estudo a partir da qual, se pode estabelecer um diagnóstico, determinar o estado de imunidade, avaliar a cinética dos anticorpos e determinar o tipo de anticorpos presentes na amostra. Por conseguinte, a partir do estudo da cinética dos anticorpos podem-se inferir inúmeras situações tais como: se existe evidência serológica de infeção, em caso afirmativo, se esta infeção se trata de infeção aguda, crónica, reinfeção ou seroconversão; se o tratamento está a ser eficaz; verificar o estado evolutivo da patologia. Assim sendo, e para que o estudo seja conclusivo, devem ser avaliadas mais que uma amostra com intervalo de duas a três semanas (tempo para produção de anticorpos) entre elas.

Normalmente o estudo dos anticorpos mais frequente é o estudo das IgGs, IgMs e/ou IgAs, uma vez que estas imunoglobulinas possuem características que nos permitem estudar e avaliar o tipo e estado de infeção.

Assim sendo:

- **IgMs** – são as primeiras a aparecer após o contacto com o agente patogénico e são as primeiras a desaparecer (infeção aguda).
- **IgGs** – aparecem normalmente após o aparecimento das IgMs e podem persistir para toda a vida (infeção passada).
- **IgA** – aparecem normalmente ao mesmo tempo que as IgMs no entanto persistem mais tempo que estas (infeção recente).

Normalmente em situações de reinfeção/ seroconversão as IgGs aumentam o seu título e IgMs podem não aparecer. Esta situação também se pode verificar em infeções congénitas em que não se detetam IgMs nem IgAs. Assim sendo, é difícil determinar a ocorrência ou não de infeção congénita uma vez que só se detetam IgGs que poderão ser de origem materna. Desta forma, o recém-nascido deve ser monitorizado ao longo do tempo para avaliar a cinética dos anticorpos (diminuição de IgGs até negativar – ausência de infeção congénita, aumento de IgGs e presença de IgMs - Infeção Congénita.)

4.3.1. Metodologias utilizadas

▪ **ELFA – Enzyme-Linked Fluorescence Assay**

ELFA é uma metodologia de doseamento de anticorpos composto por duas etapas em que uma reação imunoenzimática é seguida de leitura por fluorescência, o que o distingue do método ELISA.^[18]

Esta metodologia é também utilizada para a determinação do índice de avidéz das IgGs. A determinação do índice de avidéz é um teste complementar à pesquisa das IgG e IgM, que permite excluir uma infeção recente ou passada.

No teste de avidéz é introduzido um agente que cinde as ligações antigénio-anticorpo (Ureia). A ureia tem pouco efeito na ligação antigénio-anticorpo de avidéz forte, mas tem um efeito considerável na ligação dos antigénios-anticorpos de avidéz fraca (Ligações recentes e mais frágeis).^[18]

▪ **ELISA – Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay**

Esta é uma metodologia imunoenzimática em que, na presença de anticorpos na amostra biológica, estes se ligam ao antigénio específico, formando o complexo **antigénio-anticorpo**. Este complexo é detetado com a adição de uma antiglobulina humana (IgM, IgG ou IgA), marcada com uma enzima (peroxidase). A revelação desta reação é feita por uma solução cromogénia incolor (Substrato) que por ação enzimática desenvolve cor. A intensidade da cor desenvolvida é diretamente proporcional à concentração de anticorpos presentes na amostra.^{[1] [2]}

▪ **RPR – Rapid Plasma Reagin**

Neste método o antigénio está agregado a micropartículas de carvão ativado complexadas com cardiolipinas, lecitina e colesterol que vão facilitar a observação dos testes reativos, onde ocorre aglutinação das partículas, que é visível a olho nu. É útil para a deteção de anticorpos anti -*Treponema pallidum*.^[1]

▪ **Rosa de Bengala**

O teste de Rosa bengala baseia-se numa reação de aglutinação em placa, entre brucelas inativadas e coradas pelo corante Rosa de Bengala, e o soro em estudo. A aglutinação é visível a olho nu.^[1]

▪ **Reação de Wright**

A Reação de Wright é uma prova de aglutinação em tubo que permite quantificar a proporção de anticorpos aglutinantes no soro do doente, na presença de uma suspensão padronizada de *Brucella abortus* inativada. A reação de aglutinação é visível a olho nu.^[1]

Uma reação de Wright com título superior ou igual a 1:80 é considerada positiva, podendo presumir-se o diagnóstico de Brucelose em doentes com manifestações clínicas e história epidemiológica compatível.

▪ **Treponema Passive Particle Agglutination**

O *Treponema Passive Particle Agglutination* (TPPA) TPPA é um ensaio de aglutinação de partículas passivas *in vitro* para a deteção de anticorpos anti - *Treponema pallidum* em amostras de soro.

Este teste utiliza partículas de gelatina sensibilizadas com o agente patogénico purificado, *Treponema pallidum*.^[1] É efetuado em placas de 96 poços de fundo em U, titulando-se os anticorpos por via de diluições geométricas sucessivas do soro (1:80, 1:160, 1:320, 1:640, etc.) até à negatividade da reação de aglutinação dos anticorpos com as partículas sensibilizadas. O controlo interno deste teste é efetuado em cada amostra pela reação com partículas não sensibilizadas.

▪ **Fluorescent Treponemal Antibody-Absorbance test**

O teste *Fluorescent Treponemal Antibody-Absorbance* (FTA – Abs) é uma técnica bastante específica, treponémica, eficaz para soro e LCR, que se baseia numa reação de imunofluorescência em lâmina previamente coberta com treponemas mortos, e em que a ligação dos anticorpos testados emite fluorescência que é medida por comparação com um padrão positivo. O tratamento paralelo com um *sorbent* contendo treponema de Reiter permite eliminar reações não específicas.^[1]

▪ **Imunofluorescência Indireta**

O método de Imunofluorescência Indireta (IFI) é baseado na reação de anticorpos de uma amostra, quando testados com o antigénio adsorvido numa superfície de uma lâmina.

Os anticorpos específicos presentes na amostra ligam-se ao antigénio e os anticorpos não ligados ao antigénio são removidos por lavagem. A deteção do complexo Ag-Ac é efectuada

pela adição de uma imunoglobulina anti-humana marcada com fluoresceína. A detecção de fluorescência é feita visualizando a preparação num microscópio de fluorescência.^[2]

▪ **Chemoluminescence Immuno Assay**

O ensaio chemoluminescence immuno assay (CLIA) Trata-se de um método baseado no princípio da quimioluminescência. São usados antigénios recombinantes específicos para revestir partículas magnéticas constituindo a fase sólida. Um anticorpo monoclonal de ratinho é ligado a um derivado do isoluminol, constituindo o conjugado (antigénio-isoluminol). Durante a incubação os anticorpos presentes nas amostras em estudo ligam-se tanto à fase sólida como ao conjugado. Depois da incubação o material não ligado é removido mediante um ciclo de lavagem. De seguida, adicionam-se os reagentes iniciadores que induzem uma reação de quimioluminescência. O sinal luminoso e assim a quantidade de conjugado antigénio-isoluminol, é medido recorrendo a um fotomultiplicador, em unidades relativas de luz (RLU, relative light units) e indica a concentração de anticorpos totais presente na amostra em estudo.^{[1][2]}

4.3.2. A Serologia no Diagnóstico de Infecções

▪ **Toxoplasmose**

O *Toxoplasma gondii* é um parasita intracelular, que infeta, o homem e animais domésticos e selvagens. A toxoplasmose é contraída principalmente pela ingestão de carne mal cozinhada, infetada com oocistos e da mãe para o feto, por via transplacentária. Existem, ainda, relatos de transmissão associada ao transplante de órgãos e após transfusões de sangue, embora o risco pós-transfusional seja extremamente baixo.

A infeção por *Toxoplasma gondii* em indivíduos saudáveis, é geralmente assintomática. No entanto, alguns dos doentes com infeção aguda podem desenvolver linfadenopatia. Por outro lado, podem ocorrer infeções graves em doentes com SIDA e em adultos imunodeprimidos, as quais podem ser fatais, ou envolver o sistema nervoso central.

A infeção primária, durante a gravidez, pode levar à transmissão transplacentária do parasita resultando em infeção congénita. As manifestações clínicas comuns de infeção congénita incluem coriorretinite, calcificações intracranianas, e hidrocefalia. No entanto, a maioria das crianças infetadas, numa fase avançada da gravidez, são assintomáticas à nascença, aparecendo sequelas num período posterior da vida.

Podem ser utilizados testes serológicos para identificar mulheres seronegativas que deverão, ser monitorizadas durante a gravidez. ^{[1] [12]}

- **Metodologia:** CMIA /ELFA – Architect /Vidas

a) Cinética dos anticorpos

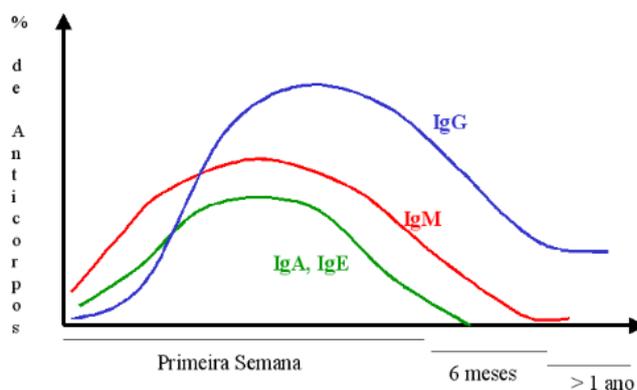


Figura 1 - Cinética dos anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*.¹⁴

b) Quadro Interpretativo ^{[12][17] [18]}

Quadro 12 - Interpretação dos testes serológicos para *Toxoplasma gondii*.

IgG	IgM	Interpretação
Negativo	Negativo	Sem evidência serológica de infecção ou de período de incubação. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Infeção passada ou reação cruzada. ²⁾
Positivo	Negativo	Infeção passada. Imune.
Negativo	Equívoco	Possível infecção aguda ou falso-positivo. ²⁾
Equívoco	Equívoco	Indefinido. ²⁾
Positivo	Equívoco	Possível infecção passada ou falso-positivo (IgM). ²⁾
Negativo	Positivo	Infeção aguda.
Equívoco	Positivo	Possível infecção aguda. ²⁾
Positivo	Positivo	Infeção recente. Infecção por <i>T. gondii</i> com evolução inferior a 4 meses.

- 1) Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infecção pelo *T. gondii*, solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.
- 2) Solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira para melhor esclarecer a cinética dos anticorpos.

a) Quadro Interpretativo ^[18]**Quadro 13** - Interpretação do teste da avidéz das IgGs anti - *Toxoplasma gondii*.

Avidéz das IgGs	Interpretação
Baixa	Infeção por <i>T. gondii</i> com evolução inferior a 4 meses.
Intermédia	Indefinido. Solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira para melhor esclarecer a cinética dos anticorpos.
Alta	Infeção por <i>T. gondii</i> com evolução igual ou superior a 4 meses.

▪ Rubéola

A infeção primária pós-natal pelo vírus da rubéola é geralmente uma doença ligeira, autolimitada, caracterizada por um exantema maculopapular, febre, mal-estar e linfadenopatias.

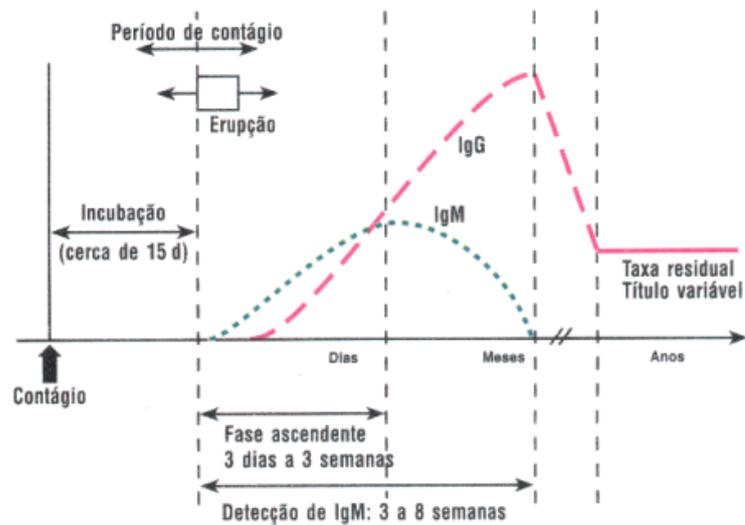
Em contraste, infeções congénitas podem ter efeitos devastadores podendo causar lesões graves ao feto, principalmente se a infeção ocorrer durante os primeiros quatro meses de gestação.

Assim sendo, uma criança com infecção congénita pode exibir malformações conhecidas como Síndrome da Rubéola Congénita (SRC) manifestando-se como: baixo peso à nascença, cataratas, surdez, doenças cardíacas congénitas, e atraso mental.

A persistência de anticorpos anti-IgG associada a uma IgM negativa são evidência serológica de imunidade adquirida quer por vacinação ou pós infeção. ^{[12] [18]}

▪ Metodologia: CMIA – Architect

a) Cinética dos anticorpos

Figura 2 - Cinética dos anticorpos anti- vírus da Rubéola.¹⁷b) Quadro Interpretativo ^[17]

Quadro 14 - Interpretação dos testes serológicos para vírus da Rubéola.

IgG	IgM	Interpretação
Negativo	Negativo	Ausência de infecção ou período de incubação. Não Imune. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Infeção passada ou reação cruzada. Um valor borderline não é garantia de imunidade. ²⁾
Positivo	Negativo	Infeção passada. – Imune.
Negativo	Equívoco	Possível infecção recente ou falso positivo. ²⁾
Equívoco	Equívoco	Indefinido. ²⁾
Positivo	Equívoco	Possível infecção passada ou falso-positivo (IgM). ²⁾
Negativo	Positivo	Infeção aguda. ²⁾
Equívoco	Positivo	Possível infecção aguda. ²⁾
Positivo	Positivo	Infeção aguda.

- 1) Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infecção pelo vírus da Rubéola solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.
- 2) Solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira para melhor esclarecer a cinética dos anticorpos.

¹⁷ Disponível em: <http://www.labmed.pt/NotasTecnicas07.asp> acessado online a 18 de maio de 2013

Quadro 15 - Interpretação do teste da avidéz das IgGs anti- vírus da Rubéola.

Avidéz das IgGs	Interpretação
Baixa	Infeção por vírus de rubéola com evolução inferior a 4 meses
Intermédia	Indefinido. 1)
Alta	Infeção por vírus da Rubéola com evolução igual ou superior a 4 meses

1) *Solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira para melhor esclarecer a cinética dos anticorpos.*

▪ **Infeção por Citomegalovirus**

As infeções por citomegalovírus (CMV), são comuns no ser humano e provocam geralmente infeções ligeiras e assintomáticas. No entanto, as infeções por CMV em grávidas, recém-nascidos e em imunocomprometidos podem representar um risco médio significativo.

Este vírus é geralmente transmitido de pessoa a pessoa, através do contacto direto com fluídos corporais, como urina, saliva ou leite materno, podendo também ser transmitido por relações sexuais, bem como através de transplante de órgãos e transfusões sanguíneas.

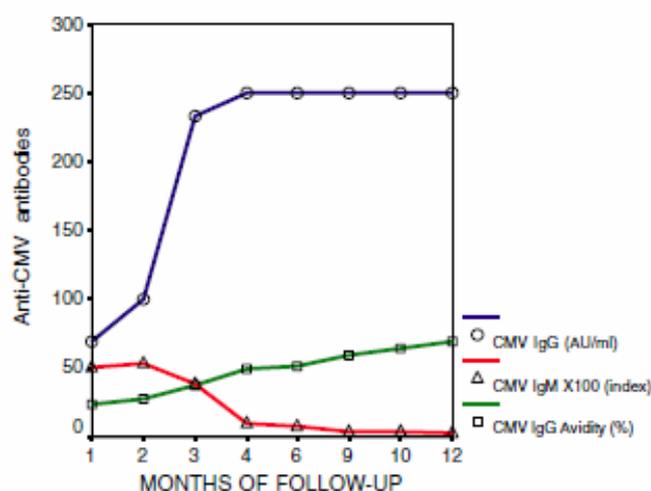
A infeção intra uterina pode provocar sequelas de diversos graus, incluindo atraso mental, coriorretinite, perda de audição e problemas neurológicos. Uma vez que o risco de transmissão intra uterina do vírus e danos no feto é muito superior durante a infeção primária, o reconhecimento fiável de infeções primárias por CMV é muito importante para as grávidas.

O CMV pode ser também causa de infeção severa nos imunodeprimidos (HIV positivos e transplantados). A deteção das IgM anti-CMV é útil no diagnóstico das infeções primárias recentes, especialmente na mulher grávida.

As IgM anti-CMV, presentes em cerca de 70% das primo-infeções, persistem, em geral, 16-20 semanas após a infeção, e podem, novamente aparecer, de forma inconstante, durante reativações. ^{[10] [12] [17] [18]}

▪ **Metodologia:** CMIA /ELFA – Architect /Vidas

a) Cinética dos anticorpos

Figura 3 - Cinética dos anticorpos anti-Citomegalovírus.¹⁸

b) Quadro Interpretativo

Quadro 16 - Interpretação dos testes serológicos para Citomegalovírus.

IgG	IgM	Interpretação
Negativo	Negativo	Sem evidência serológica de infecção ou período de incubação. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Infeção passada ou reação cruzada. ²⁾
Positivo	Negativo	Infeção passada.
Negativo	Equívoco	Possível infecção aguda. ²⁾
Equívoco	Equívoco	Indefinido. ²⁾
Positivo	Equívoco	Possível infecção passada ou falso-positivo (IgM). ²⁾
Negativo	Positivo	Infeção aguda.
Equívoco	Positivo	Possível infecção aguda. ²⁾
Positivo	Positivo	Infeção recente. Infeção por CMV.

Quadro 17 - Interpretação do teste da avididade das IgG anti- Citomegalovírus.

Avididade das IgGs	Interpretação
Baixa	Infeção por CMV com evolução inferior a 3 meses.
Intermédia	Indefinido. ²⁾
Alta	Infeção por CMV com evolução igual ou superior a 3 meses.

¹⁸ Disponível em: http://www.springerimages.com/Images/RSS/I-10.1007_s00467-008-0966-z0 acessado online a 18 de maio de 2013

- 1) Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infecção pelo vírus CMV solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.
- 2) Solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira para melhor esclarecer a cinética dos anticorpos.

▪ Infecção por *Herpes simplex*

O vírus *Herpes simplex* (HSV) é um vírus envelopado, morfológicamente, semelhante aos outros membros da família *Herpesviridae*. Existem dois tipos naturais de HSV-1 e HSV-2, com características epidemiológicas e biológicas diferentes, que podem ser reconhecidos pelas endonucleases de restrição ou análise antigénica.

A transmissão deste vírus ocorre quando um veículo ou secreção contaminada entra em contacto com pequenas lesões da pele ou mucosas do indivíduo suscetível (HSV1) ou contacto sexual (HSV2). Os dois tipos de vírus causam infecções humanas, as quais variam em gravidade desde leves lesões cutâneas a encefalite. ^[10]

As infecções recorrentes verificam-se com frequência apesar da presença de anticorpos antivíricos.

▪ Metodologia: CLIA – Liaison XL

a) Quadro Interpretativo

Quadro 18 - Interpretação dos testes serológicos para *Herpes simplex 1,2*.

IgG <i>Herpes simplex 1</i> IgG <i>Herpes simplex 2</i>	IgM 1,2	Interpretação
Negativo	Negativo	Sem evidência serológica de infecção ou período de incubação. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Infeção passada ou reação cruzada. ²⁾
Positivo	Negativo	Infeção passada.
Negativo	Equívoco	Possível infecção aguda. ²⁾
Equívoco	Equívoco	Indefinido. ²⁾
Positivo	Equívoco	Possível infecção passada ou falso-positivo (IgM). ²⁾
Negativo	Positivo	Infeção aguda.
Equívoco	Positivo	Possível infecção aguda. ²⁾
Positivo	Positivo	Infeção recente.

- 1) Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infecção pelo *Herpes simplex 1,2*, solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.
- 2) Solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira para melhor esclarecer a cinética dos anticorpos.

▪ Sífilis

A sífilis é uma doença causada pela espiroqueta *Treponema pallidum*, transmitida principalmente através de relações sexuais.

Pode também ocorrer a transmissão congênita do *Treponema pallidum* através da passagem transplacentária de mães infetadas e pode ocorrer o contágio através de transfusão de sangue.

A sífilis congênita antes dos quatro meses de gestação é rara e, se tratada neste período, o feto não sofrerá infecção.

A infecção é sistêmica desde o início e a doença caracteriza-se por períodos de latência, frequentemente, superiores a vinte anos. O curso natural da sífilis subdivide-se, convencionalmente, em três fases.

- Após um período de incubação que dura aproximadamente três semanas, aparece uma lesão cutânea não dolorosa (úlcerca venérea), muitas vezes associada com a linfadenopatia regional (estágio primário).

- A doença evolui para um estágio secundário, disseminado, acompanhado por lesões mucocutâneas e linfadenopatia generalizadas.

Se a infecção por *Treponema pallidum* evolui até à fase tardia, o estágio secundário é seguido por uma infecção subclínica (sífilis latente), que pode ser detetada apenas com testes serológicos, e por um estágio avançado ou terciário, que se observa apenas num pequeno número de doentes, caracterizado pelo avanço da doença. ^[1] ^[10] ^[11]

Diagnóstico: [1]

Testes treponémicos:

Testes treponémicos são testes específicos de deteção de anticorpos dirigidos para antígenos de superfície do *T.pallidum*.

- **Screening de Sífilis (IgG, IgA, IgM) – CLIA** - Determinação semiquantitativa dos anticorpos específicos totais dirigidos contra *Treponema pallidum* em amostras de soro, plasma humano.
- **FTA – abs (IgG) – IFA** - Determinação semiquantitativa dos anticorpos específicos IgG dirigidos contra *Treponema pallidum* em amostras de soro, plasma e LCR.
- **TPPA – Aglutinação em micro placa** - O TPPA é um teste semiquantitativo de aglutinação de partículas passivas *in vitro*, para a deteção de anticorpos anti - *Treponema pallidum* em amostras de soro ou plasma.

Testes não treponémicos:

Os testes não treponémicos são testes não específicos que detetam anticorpos (reaginas) contra antígenos lipídicos das células hospedeiras danificadas.

- **RPR – Aglutinação em placa** – Teste semiquantitativo para determinar a presença de reaginas na amostra soro e LCR. Assim sendo, este teste é uma ajuda para o diagnóstico da Sífilis ativa bem como no controlo da doença.

a) Quadro Interpretativo**Quadro 19** - Interpretação dos testes serológicos para *Treponema pallidum*.

Sífilis Screening (CLIA) /TPPA/FTA-Abs	VDRL/RPR	Interpretação
Negativo	Negativo	Sem evidência serológica de infeção ou período de incubação. ¹⁾
Positivo	Positivo	Sífilis recente ou prévia.
Positivo	Negativo	Sífilis primária ou latente. Previamente tratada ou não tratada.
Negativo	Positivo	Falso positivo. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Indefinido. ¹⁾
Negativo	Não conclusivo	Possível reação cruzada. ¹⁾
Equívoco	Não conclusivo	Indefinido. ¹⁾
Positivo	Não conclusivo	Possível reação passada, reinfeção ou evidência de tratamento. ¹⁾

1) Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infeção pelo T.pallidum, solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.

Controlo:

O RPR é usado para controlo de doentes onde já existe um diagnóstico prévio de sífilis. Estes doentes têm já no seu histórico um ou mais testes treponémicos positivos.

Neste tipo de doentes o RPR pode nunca negatizar mantendo-se em títulos residuais ao longo do tempo.

Uma subida de 4 vezes o título de RPR pode significar uma reinfeção ou reativação.

▪ Varicela

A varicela é uma doença viral aguda, provocada pelo vírus *Varicella zoster* (VZV), ocorrendo a transmissão pessoa a pessoa, pelo contacto direto com gotas ou aerossóis do fluido vesicular das lesões cutâneas, ou secreções do trato respiratório que contenham o vírus.

Esta é uma doença muito contagiosa, caracterizada por exantema papulovesicular difuso, muitas vezes acompanhado por hipertermia. Contudo, apresenta uma evolução em geral benigna durante a infância, no entanto, tende a ser mais grave nos adultos e pode ser fatal, sobretudo nos recém-nascidos e nos indivíduos imunocomprometidos.^[10]

Após a infeção primária, o vírus VZV permanece em estado latente nos gânglios nervosos e, após a reativação, pode causar zona, uma doença que ocorre sobretudo em pessoas idosas e indivíduos imunocomprometidos, caracterizada por dor aguda radicular nevralgica bem localizada e erupção unilateral de lesões vesiculares semelhantes às da varicela.

Em mulheres suscetíveis, se ocorrer infeção durante a gravidez, e se esta acontecer nos primeiros quatro meses de gravidez, pode ser causa de más formações congénitas. Por outro lado, se for contraída a infeção nas proximidades do parto pode ocorrer uma difusão generalizada da doença, com resultado potencialmente fatal.

Embora infeções específicas possam ser prevenidas ou alteradas pela administração de imunoglobulinas anti-VZV ou tratadas com medicamentos antivirais, a varicela pode ser controlada apenas através da vacinação.^{[1][10]}

- **Metodologia:** CLIA – Liaison XL

a) Quadro Interpretativo

Quadro 20 - Interpretação dos testes serológicos para *Varicella zoster*.

IgG	IgM	Interpretação
Negativo	Negativo	Ausência de infeção ou período de incubação. Não Imune. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Infeção passada ou reação cruzada. Um valor borderline não é garantia de Imunidade. ¹⁾
Positivo	Negativo	Infeção passada. – Imune.
Negativo	Equívoco	Possível infeção recente ou falso positivo. ¹⁾
Equívoco	Equívoco	Indefinido. ¹⁾
Positivo	Equívoco	Possível infeção passada ou falso-positivo (IgM). ¹⁾
Negativo	Positivo	Infeção aguda.
Equívoco	Positivo	Possível infeção aguda. ¹⁾
Positivo	Positivo	Infeção aguda ou reativação.

1) *Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infeção pelo Varicella zoster, solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.*

▪ Doença de Lyme

A espiroqueta *Borrelia burgdorferi sensu lato* é o agente etiológico da borreliose de Lyme, doença transmitida por diversas espécies de carrças do género *Ixodes*.

A borreliose de Lyme é uma infeção multissistémica que pode afetar diversos órgãos, tais como a pele, o sistema nervoso, as articulações maiores e o sistema cardiovascular. Apesar de as bactérias agentes da doença de Lyme induzirem uma resposta imunitária vigorosa, as espiroquetas sobrevivem e persistem na circulação dos doentes afetados.

Assim, a borreliose de Lyme evolui, em geral, de maneira semelhante à sífilis através de diferentes fases clínicas, desde infeção precoce à tardia: ^[1]

– Estádio 1: lesão da pele na região da picada da carrça; na ausência de terapia, a infeção precoce com exantema localizado, pode transformar-se em infeção disseminada.

– Estádio 2: afeções neurológicas (neuroborreliose).

– Estádio 3: artrite, que pode ser observada mesmo anos após a infeção.

Desta forma, a semelhança dos sintomas clínicos entre a borreliose de Lyme e outras doenças não correlacionadas cria dificuldades na formulação do diagnóstico por causa da variabilidade das manifestações clínicas envolvidas.

Por conseguinte, o diagnóstico da borreliose pode ser difícil tomando-se como base apenas as observações clínicas, sobretudo na ausência de provas anamnésicas (picada de carrça ou erythema chronicum migrans). Além disso, os testes serológicos para determinação de anticorpos, normalmente utilizados apresentam frequentemente reações cruzadas com anticorpos de outras espiroquetas (*T. pallidum*, *Leptospira sp.*).

Desta maneira, e para que o diagnóstico serológico se torne mais confiável torna-se imperativo, em casos de positividade ou resultados duvidosos, fazerem-se testes confirmatórios por outros métodos mais confiáveis, como a pesquisa de IgG e IgM por Western Blot. ^[7]

▪ Metodologia: CLIA – Liaison XL

a) Quadro Interpretativo

Quadro 21 - Interpretação dos testes serológicos para *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

IgG	IgM	Interpretação
Negativo	Negativo	Sem evidência serológica de infeção. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Infeção passada ou reacção cruzada. ¹⁾
Positivo	Negativo	Provável infeção passada. ¹⁾
Negativo	Positivo	Provável infeção recente. ¹⁾
Equívoco	Positivo	Provável infeção recente. ¹⁾
Positivo	Positivo	Provável infeção recente. ¹⁾
Positivo	Equívoco	Provável infeção passada ou falso-positivo (IgM). ¹⁾
Equívoco	Equívoco	Provável reacção cruzada. ¹⁾
Negativo	Equívoco	Provável infeção recente ou reacção cruzada. ¹⁾

1) Em caso de dúvida clínica (presença de picada de carraça ou de sintomas neurológicos), os doentes devem ser controlados no decorrer do tempo.

▪ Brucelose

A brucelose é uma zoonose, amplamente distribuída por todo o mundo, causada por *Brucella sp.* ^[12]

O homem é um hospedeiro acidental da *Brucella sp.*, sendo que esta zoonose pode afetar todos os animais, tanto domésticos como selvagens. Desta maneira, os animais contaminados excretam a bactéria no leite, urina e placenta, explicando-se assim a contaminação entre os animais e o homem, sendo a via de contágio cutânea – mucosa, digestiva e eventualmente inalatória. ^{[1][10]}

A doença pode apresentar-se de duas formas: aguda, acompanhada com um síndrome febril; ou crónica caracterizada pelo síndrome de “fadiga crónica”. O diagnóstico é baseado em provas bacteriológicas e provas serológicas. ^{[9][12]}

- **Metodologia:** Aglutinação em placa (Rosa de Bengala)/Aglutinação em tubo (Wright)

a) Cinética dos anticorpos

Quadro 22 - Interpretação dos testes serológicos para *Brucella sp.*

Rosa de Bengala	Wright	Interpretação
Negativo	—	Sem evidência serológica de infecção. Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infecção por <i>Brucella abortus</i> , solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.
Positivo	Negativo	Infeção passada.
Positivo	Positivo	Provável infecção aguda.

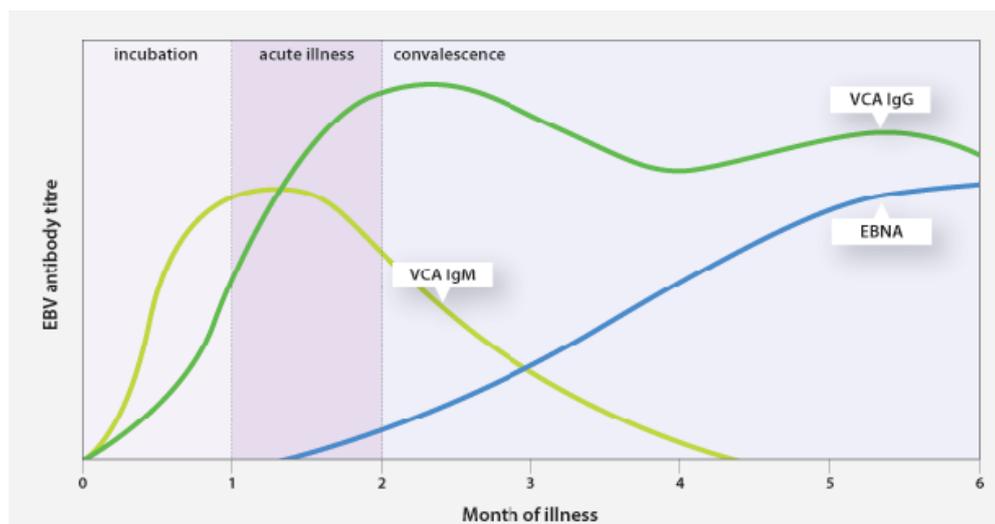
▪ Mononucleose Infeciosa

O vírus de Epstein-Barr (EBV) pertencente à *Familia Herpesviridae*, é o agente etiológico da mononucleose infecciosa. As vias de transmissão mais comuns são: contacto por saliva entre um indivíduo portador do vírus, e um indivíduo suscetível, transfusão sanguínea e transplante de medula e órgãos.

O diagnóstico da mononucleose infecciosa baseia-se na pesquisa de anticorpos específicos anti-EBV, nomeadamente anti-VCA (antígeno da cápside viral) IgG, anti-VCA IgM e anti-EBNA (antígeno nuclear). ^{[1][10][12]}

- **Metodologia:** CLIA – Liaison XL

a) Cinética dos anticorpos

Figura 4 – Cinética dos anticorpos anti - vírus Epstein barr.¹⁹

¹⁹ Disponível em : <http://www.bpac.org.nz/BT/2012/October/glandular.aspx> acessado em 18 de maio de 2013

b) Quadro Interpretativo^[12]Quadro 23 - Interpretação dos testes serológicos para *Epstein barr*.

IgG-EBV	IgM-EBV	IgG-EBNA	Interpretação
Negativo	Negativo	Negativo	Sem evidência serológica de infecção. Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infecção pelo <i>EBV</i> , solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.
Positivo	Negativo	Negativo	Infeção passada.
Positivo	Negativo	Positivo	
Negativo	Positivo	Negativo	Infeção Aguda.
Positivo	Positivo	Positivo	Provável Reinfeção/Infeção crónica.

▪ Febre Q

A febre Q é uma zoonose, provocada pela bactéria *Coxiella burnetii*, podendo esta provocar doença aguda ou crónica.

O homem pode contrair esta doença através do contacto com animais infetados, inalação de poeiras e aerossóis contaminados, ou pelo consumo de leite não pasteurizado.

A doença grave pode caracterizar-se por ocorrência de febre, pneumonia atípica, hepatite granulomatosa ou meningoencefalite. A endocardite é a manifestação associada à doença crónica. ^{[1] [10] [13]}

- **Metodologia:** IFI (IgG) – Mago

a) Quadro Interpretativo

Quadro 24 - Interpretação dos testes serológicos para *Coxiella burnetii*.

IgG	Interpretação
Negativo	Sem evidência serológica de infecção. Em caso de dúvida clínica (presença de sinais ou de sintomas), os doentes devem ser controlados no decorrer do tempo.
Não-conclusivo	Indeterminado. (Possível interferência do processo, infecção passada ou infecção em evolução). <i>Solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira para melhor esclarecer a cinética dos anticorpos.</i>
Positivo	Provável infecção aguda/Infeção crónica/Reinfeção.

▪ Febre Escaro-Nodular

A *Rickettsia conorii* é uma bactéria responsável pela febre escaro-nodular mediterrânica, doença endémica nesta área geográfica.

Esta bactéria é transmitida ao homem através da picada da carraça *Rhipicephalus sanguineus*. A febre escaro-nodular caracteriza-se pelo aparecimento de febre, exantema e de uma mancha negra ou de inoculação no lugar da picada da carraça. ^{[1] [10] [12]}

▪ Metodologia: IFI (IgG) – Mago

a) Quadro Interpretativo

Quadro 25 - Interpretação dos testes serológicos para *Rickettsia conorii*.

IgG	Interpretação
Negativo	Sem evidência serológica de infeção. Em caso de dúvida clínica (presença de sinais ou de sintomas), os doentes devem ser controlados no decorrer do tempo.
Não-conclusivo	Indeterminado. (Possível interferência do processo, infeção passada ou infeção em evolução). Solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira para melhor esclarecer a cinética dos anticorpos.
Positivo	Provável infeção aguda/Infeção crónica/Reinfeção.

▪ Legionelose

A *Legionella pneumophila* é uma bactéria de forma bacilar, pleomórfica fastidiosa. Existem várias espécies de Legionela classificadas, no entanto a *Legionella pneumophila* pertencente ao serogrupo I, tem sido a responsável pela maioria dos casos clínicos relatados.

Esta bactéria pode ser transmitida por inalação de aerossóis que contenham esta bactéria.

A infeção por esta bactéria, pode evoluir para pneumonia (Doença dos legionários ou legionelose) forma mais severa de infeção, com sinal radiológico, podendo evoluir para pneumonia grave. Por outro lado na forma de infeção menos severa, febre de Pontiac (cl clinicamente semelhante a uma virose), não se verifica apontamento radiológico, sendo esta semelhante a uma situação gripal. ^{[1] [9] [12]}

▪ Metodologia: IFI – IgGAM

a) Quadro Interpretativo

Quadro 26 - Interpretação dos testes serológicos para *Legionella pneumophila*.

IgGAM	Interpretação
Negativo	Sem evidência serológica de infecção. Em caso de dúvida clínica (presença de sinais ou de sintomas), os doentes devem ser controlados no decorrer do tempo.
Não-conclusivo	Indeterminado. (Possível interferência do processo, infecção passada ou infecção em evolução). Infecção com <i>Legionella pneumophila</i> / não – <i>pneumophila</i> não pode ser excluída. Repetir serologia dentro de 7 dias.
Positivo	Provável infecção aguda. Indicativo de infecção por <i>Legionella pneumophila</i> / não – <i>pneumophila</i> .

▪ **Infecção por *Chlamydia pneumoniae***

Chlamydia pneumoniae é uma bactéria intracelular obrigatória, é um agente patogénico exclusivamente humano e transmitido por aerossóis.

As infeções provocadas por esta bactéria podem ser assintomáticas ou causarem apenas uma leve dor de garganta. Por outro lado, podem ser caracterizadas por originarem tosse produtiva, dor de cabeça, febre, sinusite, bronquite e pneumonia.

As doenças crónicas associadas a infeção por *C. pneumoniae* são: asma brônquica, doenças coronárias, aterosclerose, bem como doenças mais raras, como a meningoencefalite, miocardite e síndrome de Guillain Barré. ^{[1] [9] [12]}

▪ **Metodologia: ELISA – Analyser**

a) Quadro Interpretativo

Quadro 27 - Interpretação dos testes serológicos para *Chlamydia pneumoniae*.

IgG	IgM	Interpretação
Negativo	Negativo	Ausência de infeção ou período de incubação. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Infeção passada ou reação cruzada. ¹⁾
Positivo	Negativo	Infeção passada.
Negativo	Equívoco	Possível infeção recente ou falso positivo. ¹⁾
Equívoco	Equívoco	Indefinido. ¹⁾
Positivo	Equívoco	Possível infeção passada ou falso-positivo (IgM). ¹⁾
Negativo	Positivo	Infeção aguda.
Equívoco	Positivo	Possível infeção aguda. ¹⁾
Positivo	Positivo	Infeção aguda ou reativação.

1) Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infeção pelo *C. pneumoniae*, solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.

▪ Infecção por *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis é uma bactéria de gram negativa e intracelular.

Esta bactéria é transmitida sexualmente, é então responsável por uretrite (forma mais significativa de manifestação) não gonocócica, linfogranuloma venéreo, tracoma, conjuntivite de inclusão, pneumonia no recém-nascido, bem como síndrome de Reiter's.

Consequentemente, a infecção por esta bactéria poderá ser causa de infertilidade, sendo que existe também uma relação entre infecções agudas no primeiro trimestre de gravidez e aborto. ^{[1] [9] [11] [12]}

- **Metodologia:** ELISA – Analyser

a) Quadro Interpretativo

Quadro 28 - Interpretação dos testes serológicos para *Chlamydia trachomatis*.

IgG	IgA²⁰	Interpretação
Negativo	Negativo	Ausência de infecção ou período de incubação. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Infeção passada ou reação cruzada. ¹⁾
Positivo	Negativo	Infeção passada.
Negativo	Equívoco	Possível infecção recente ou falso positivo. ¹⁾
Equívoco	Equívoco	Indefinido. ¹⁾
Positivo	Equívoco	Possível infecção passada ou falso-positivo (IgM). ¹⁾
Negativo	Positivo	Infeção aguda.
Equívoco	Positivo	Possível infecção aguda. ¹⁾
Positivo	Positivo	Infeção aguda ou reativação.

¹⁾ Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infecção por *C. trachomatis*, solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.

▪ Infecção por *Mycoplasma pneumoniae*

M. pneumoniae são os organismos mais pequenos de vida livre, não possuem parede celular e são exclusivamente patogénicos humanos. Sendo a sua transmissão feita por gotículas respiratórias, este micro-organismo é o principal responsável por pneumonia atípica em adolescentes e adultos.

²⁰ Por método ELISA para determinar a presença de infecção são determinadas os anticorpos IgG e IgA (indicador de fase aguda de infecção) uma vez que IgM nem sempre são produzidas em todas as infecções.

Este agente infeccioso é também responsável por uma considerável percentagem de infeções respiratórias do trato respiratório superior, brônquios e pulmões. Assim, este tipo de infeção é caracterizada por sintomas como tosse persistente, febre e dores de cabeça. ^{[1] [9] [12]}

Metodologia: ELISA – Analyser

a) Quadro Interpretativo

Quadro 29 - Interpretação dos testes serológicos para *Mycoplasma pneumoniae*.

IgG	IgM	Interpretação
Negativo	Negativo	Ausência de infeção ou período de incubação. ¹⁾
Equívoco	Negativo	Infeção passada ou reação cruzada. ¹⁾
Positivo	Negativo	Infeção passada.
Negativo	Equívoco	Possível infeção recente ou falso positivo. ¹⁾
Equívoco	Equívoco	Indefinido. ¹⁾
Positivo	Equívoco	Possível infeção passada ou falso-positivo (IgM). ¹⁾
Negativo	Positivo	Infeção aguda.
Equívoco	Positivo	Possível infeção aguda. ¹⁾
Positivo	Positivo	Infeção aguda ou reativação.

¹⁾ Em caso de suspeita clínica e/ou epidemiológica de infeção pelo *M. pneumoniae*, solicitar nova colheita com um intervalo de tempo de 3 semanas da primeira.

5. CONCLUSÃO

O mestrado em análises clínicas foi, sem dúvidas, um complemento fundamental para o meu percurso laboral.

Tendo como formação de base Biologia, este mestrado veio colmatar algumas lacunas que se fizeram notar com o decorrer do tempo, enquanto técnica superior de saúde no Serviço de Patologia Clínica dos HUC.

Desta forma, foi também despertado o sentido de curiosidade e vontade de aprofundar algumas áreas adicionais do vasto mundo das Análises Clínicas; bem como, aprofundar conhecimentos relativos à questão do Controlo de Qualidade.

Com este mestrado foi possível conciliar a teoria com a prática, tornando-se desta forma, uma mais-valia para a atividade desempenhada atualmente neste serviço.

Assim, foi possível adquirir uma maior capacidade de análise com sentido crítico e interpretação dos resultados, correlacionando as diferentes áreas; tendo consciência que estes conhecimentos são essenciais para uma otimização da análise e validação dos resultados.

Relativamente ao local do estágio, trata-se de um local de excelência por abranger uma vasta gama de áreas de conhecimentos e técnicas laboratoriais. Este local destaca-se, também, pela qualidade de serviços prestados e colaboradores, onde todos trabalham em equipa e em prol do doente.

Sendo as Análises Clínicas encaradas como um método de diagnóstico auxiliar e por vezes o ponto fundamental para desvendar o “enigma”, não nos podemos abstrair que a questão humana e a formação são deveras importantes, uma vez que o “enigma” só será desvendado em conjunto com o trabalho e conhecimento de todos. Inevitavelmente, por detrás desse enigma estará uma pessoa da qual poderá depender o resultado do mesmo.

As Análises Clínicas são essenciais para uma prestação de cuidados de saúde assertivos e com qualidade. É pois, fundamental que a qualidade de serviços esteja em todos os processos das Análises Clínicas, desde a colheita da amostra até ao resultado final.

Relativamente a área de melhoria para a componente letiva do mestrado em Análises Clínicas, sugiro um conteúdo programático mais aprofundado no que respeita a técnicas de instrumentação, bem como uma maior discussão de casos clínicos. Relativamente à componente prática, seria importante a comunicação mais precocemente do orientador na faculdade para uma orientação mais prematura na elaboração do relatório.

6. BIBLIOGRAFIA

1. HENRY, JOHN BERNARD – **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. 19ª Edição, Brasil, Editora Manole LTDA. ISBN 85-204-0826-5.
2. TIETZ – **Fundamentals of Clinical Chemistry**. Six edition, USA, Saunders Elsevier, 2008. ISBN 978-0-7216-3865-2.
3. G. B. FOGAZZI, C. PONTICELLI AND E. RITZ – **The urinary sediment: an integrated view**. Second edition, Milano, Masson S.p.A, 2002. Codice: 27679.
4. GIOVANNI B. FOGAZZI, G. GARIGALI – **The Urinary Sediment by sediMAX: a new approach to urinary sediment examination**. Milano, Elsevier SRL, October 2012. Codice: 43470.
5. RENÉ CAQUET – **Guia Prático de Análises Clínicas**. 1ª Edição, Lisboa-Portugal: Climepsi Editores, fevereiro de 2004. ISBN 972-796-024-3.
6. RICARDO M. XAVIER, GALTON DE C. ALBUQUERQUE, ELVINO BARROS – **Laboratório: Na Prática Clínica**, São Paulo: Artmed Editora S.A., 2005. SAC 0800 703-3444.
7. RONALD A. SACHER, RICHARD A. MCPHERSON – **Widmann: Interpretação Clínica dos exames laboratoriais**. 11ª Edição, Brazil: Editora Manole Ltda, 2002. ISBN 85-204- 1231-9.
8. SOLANGE JERÓNIMO, APARECIDA, H.Y. FUJIMURA – **Dosagem de alumínio no soro de indivíduos sadios e em pacientes com insuficiência renal crónica mantidos ou não em tratamento diálítico**, 20(2), 1998, 144-150.
9. ROBERT. R. RICH et al – **Clinical Immunology: Principles and Practice**. Thirth Edition, Philadelphia: Mosby Elsevier, 2008. ISBN 978-0-323-04404-2.
10. A. MELIÇO SILVESTRE, J. G. SARAIVA DA CUNHA – **Doenças Infeciosas: O Desafio da Clínica, Temas de Infecioçogia**. Coimbra: Edições MinervaCoimbra, 2003. ISBN 972-798-062-7.

11. ESTADOS UNIDOS DA AMERICA – **Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention, Morbidity and Mortality Weekly Report - Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines.** Atlanta CDC, 2010.
12. <http://www.cdc.gov/> – acedido *online* a 25 de Abril de 2013
13. ESTADOS UNIDOS DA AMERICA – **Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention, Morbidity and Mortality Weekly Report - Diagnosis and Management of Q Fever - Recommendations from CDC and the Q Fever Working Group – United States,** 2013.
14. Analisador Olympus – **Guia de utilização de reagentes, química clínica;** Beckman Coulter, OS00006 PT.

7. ANEXOS

▪ **Da Pré-analítica à Pós-analítica**

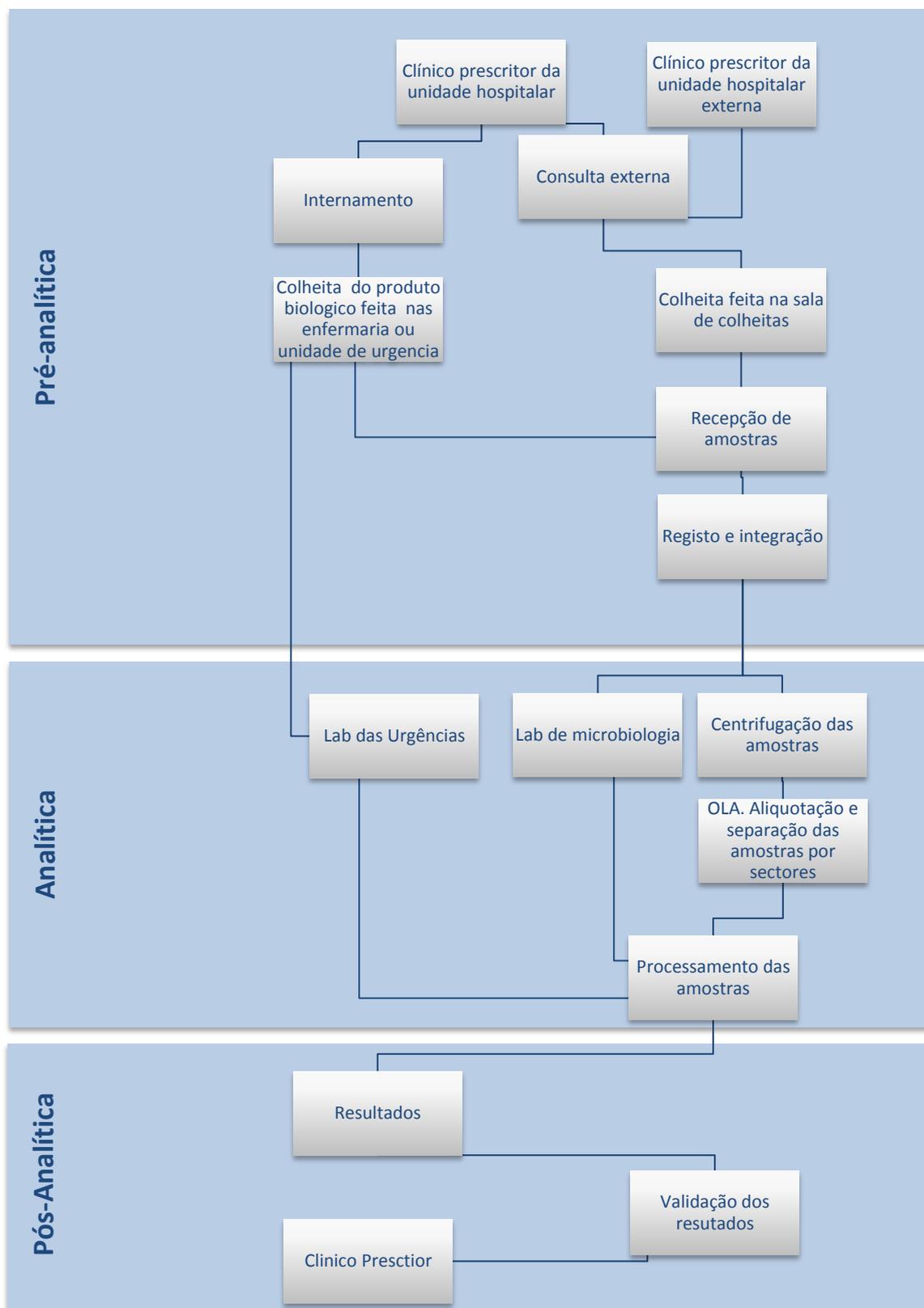


Diagrama I - Diagrama representativo de todo o processo analítico.

▪ **Estatística das análises efetuadas em 2012**

Quadro 30 - Anexo II - Dados estatísticos das análises efetuadas em 2012.

Secção do laboratório	Total de análises	Total de doentes por secção	Análises por doente
Urgência	2610921	244209	10.70
Bioquímica	1807503	173164	10.45
Hematologia	655784	301986	2.71
Microbiologia	70760	65438	1.08
Imunologia	99618	35734	2.79
Autoimunidade	39809	7700	5.17
Serologia	49819	12621	3,75
Hormonologia	139252	52364	2.65
Serologia - Exterior	669	494	1.35
Virologia	6092	5127	1.19
Total	5480227	898839	—————