

Ana Margarida Santos Fernandes Gonçalves

Relatório de Estágio

Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito de Mestrado em Análises Clínicas, orientado pelo Dr. Nelson Tiago
e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2013



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Margarida Santos Fernandes Gonçalves

Relatório de Estágio
Mestrado em Análises Clínicas
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Relatório de Estágio do Mestrado de Análises Clínicas
Desenvolvido no Laboratório Arunce sob a orientação
do Doutor Nelson Tiago, perfazendo 600 horas
compreendidas entre Outubro de 2012 e Agosto de 2013.

Setembro 2013



PARTE I

1. <u>Índice</u>	2
2. <u>Abreviaturas</u>	5
3. <u>Resumo</u>	7
4. <u>Introdução</u>	8
5. <u>Caracterização do laboratório Arunce</u>	9

PARTE II

1. <u>Fase Pré-Analítica</u>	11
-------------------------------------	-----------

PARTE III

1. <u>Fase analítica</u>	16
<u>1.1. Estudo Laboratorial de urinas</u>	16
<u>1.2. Microbiologia/Parasitologia</u>	18
<u>1.3. Hematologia</u>	21
1.3.1. Hemograma e esfregaço sanguíneo	23
1.3.2. Avaliação da série vermelha do sangue	24
1.3.3. Avaliação da série branca do sangue	30
1.3.4. Avaliação das Plaquetas	33
1.3.5. Avaliação e contagem de Reticulócitos	34
1.3.6. Velocidade de Sedimentação	35
1.3.7. Determinação de tipagem ABO/Rh	35
1.3.8. Coagulação e hemostase	36
<u>1.4. Aspectos bioquímicos da Hematologia</u>	39
1.4.1. Metabolismo do ferro e anemias	39
<u>1.5. Setor de Bioquímica, Imunologia e Endocrinologia</u>	41
1.5.1. Equilíbrio Hidroelectrolítico	42
1.5.2. Metabolismo dos Lípidos	44
1.5.3. Risco Cardiovascular	46
1.5.4. Metabolismo dos Hidratos de Carbono	47
1.5.5. Função Renal	51
1.5.6. Função Hepática	55

1.5.7. Função Pancreática	58
---------------------------	----

PARTE IV

<u>1. Fase Pós Analítica</u>	60
<u>2. Conclusão</u>	61
<u>3. Referências Bibliográficas</u>	62

ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS

TABELA 1. Fatores que podem afetar exames laboratoriais.	12
TABELA 2. O que os autoanalisadores não veem.	24
FIGURA 1. Veias mais usadas para punção venosa.	14
FIGURA 2. Percurso da urina desde a formação à excreção.	16
FIGURA 3. Modelo do Sistema Hematopoiético.	22
FIGURA 4. Alteração morfológica dos eritrócitos.	25
FIGURA 5. Inclusões eritrocitárias.	26
FIGURA 6. Metabolismo do ferro.	29
FIGURA 7. Células características da Anomalia de Pelger-Hüett.	31
FIGURA 8. Modelo da Cascata da Coagulação.	38

AGRADECIMENTOS

É com muita satisfação que expresso o mais profundo agradecimento a todos os que tornaram a realização deste trabalho possível.

Gostaria antes de mais de agradecer ao Doutor Nelson Tiago, orientador de estágio e desta dissertação, pela amizade, apoio, incentivo e disponibilidade demonstrada em todas as fases que levaram à concretização deste trabalho.

Gostaria ainda de agradecer:

À Professora Doutora Leonor Almeida pela presença constante, incentivos e dedicação total a este mestrado.

Ao Professor Doutor João Laranjinha pela disponibilidade e apoio.

Ao Professor Doutor João Poiães da Silva por ter acreditado no meu projeto e pela disponibilidade dispensada na realização desta dissertação.

Aos profissionais do Laboratório Arunce, nomeadamente Doutora Anabela, Marli, Gabriela, Sandra, Isabel e Leonor por terem colaborado ativamente no meu estágio, contribuindo para a minha formação e fazendo-me sentir acarinhada.

Aos meus pais pela formação que me deram, por permitirem que isto fosse possível e pelo apoio e amor incondicionais.

Ao António por ser quem é, pelo apoio incondicional e por nunca me ter deixado desistir, sempre acreditando que chegaria ao fim desta difícil mas gratificante etapa.

Obrigado,
Ana Margarida Gonçalves

2. Abreviaturas

ACTH – Hormona adrenocorticotrofina
ADH – Hormona Anti-Diurética
ADP – Adenosina difosfato
ALT – Adenosina trifosfato
aPTT – Tempo de tromboplastina parcial ativada
ARN – Ácido Ribonucleico
AST – Aspartato aminotransferase
ATP – Adenosina Trifosfato
CK – Creatina Cinase
Ct – Colesterol
CE – Células Êstaminais
DNA – Ácido Desoxiribonucleico
DGS – Direção Geral de Saúde
ECG – Eletrocardiograma
FA – Fosfatase Alcalina
GFR – Taxa de Filtração Glomerular
GGT – Gama-glutamil transpeptidase
HCT – Hematócrito
HDL – Lipoproteínas de Alta Densidade
Hb – Hemoglobina
HbA1c – Hemoglobina A1c
INR – *International Normalised Ratio*
ITU – Infecção Trato Urinário
LDH – Lactato Desidrogenase
LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade
LCAT – Lecitina – colesterol Aciltransferase
MCH – Hemoglobina Corpuscular Média
MCHC – Concentração média de Hb corpuscular média
OMS – Organização Mundial de Saúde
PCR – Proteína c reativa
PTGO – Prova de Tolerância à Glicose Oral
RDW – Distribuição do Diâmetro dos Eritrócitos
Rh – Rhesus
SO₄²⁻ – ião Sulfato
TSAC – Técnico Superior de Análises Clínicas
TSA – Teste Sensibilidade a Antibióticos
TP – Tempo de Protrombina
UFC – Unidades Formadoras de Colônia

3. Resumo

Este relatório de estágio tem como finalidade descrever a minha experiência no Laboratório Arunce, na Lousã, desenvolvendo, de um modo geral, todas as valências de um laboratório de análises clínicas, nomeadamente Microbiologia/Parasitologia, Endocrinologia, Imunologia mas destacando e aprofundando as áreas de Hematologia e Bioquímica.

Apesar dos inúmeros parâmetros determinados neste laboratório, não são abordados todos, sendo referidos apenas os que são determinados com mais frequência na rotina. Em particular, são discutidos os mais relacionados com as áreas aprofundadas.

A componente analítica subjacente aos estudos quantitativos realizados é devidamente descrita em termos das metodologias e fundamentos das técnicas utilizadas na determinação de parâmetros, bem como fundamentação teórica fundamental para a interpretação de resultados.

3.1. Abstract

This internship report aims to describe my experience at Laboratory Arunce, developing, in general, all areas such as Microbiology/Parasitology, Endocrinology, Immunology but highlighting and focusing on Haematology and Biochemistry.

Despite the numerous analytical parameters determined in this laboratory, not all of them are referred, addressing those that are more frequently determined in routine and that are related with the areas most focused in this report.

Methodologies and the fundamentals of the techniques used were described as well as the theoretical basis that is essential for the interpretation of results.

4. Introdução

As análises clínicas são um componente essencial do sistema e cuidados de saúde modernos. De facto, a adequada seleção de exames complementares de diagnóstico que cada vez se apresentam com maior especificidade e sensibilidade em relação ao próprio exame físico, são fundamentais para a realização de uma boa história clínica. Estes estão cada vez mais presentes nas relações médico-paciente e contribuem significativamente para a seleção de procedimentos diagnósticos adicionais bem como para diagnóstico e tratamento.

Este relatório tem como objetivo descrever o meu percurso de aprendizagem durante o estágio que realizei no Laboratório de Análises Clínicas Arunce. Descreve não só a consolidação de conhecimentos teóricos apreendidos durante o curso e sua aplicação na vertente prática e caracter profissional, mas sobretudo o desenvolvimento de competências analíticas e interpretativas de modo a contribuir para a prevenção, o diagnóstico e o tratamento da doença; tem, ainda, como finalidade enquadrar os conhecimentos adquiridos na vida real de um profissional, com os condicionantes e dificuldades que desta advêm.

O meu plano de estágio no laboratório permitiu-me adquirir e aplicar conhecimentos nas diversas valências no âmbito das Análises Clínicas, tendo participado em todo o processo, desde a receção do utente e colheita de amostra (fase Pré-analítica) e a fase Analítica em si, nomeadamente nos sectores existentes neste laboratório que são:

Hematologia

Estudos da coagulação e hemostase

Bioquímica

Microbiologia/Parasitologia

Endocrinologia

Imunologia.

Em suma, tive a oportunidade de assistir, participar e de colocar em prática conhecimentos teórico-práticos que me foram ministrados durante o Mestrado em Análises Clínicas, sempre acompanhada por Especialistas e Técnicos de Análises Clínicas. Este apoio permitiu-me evoluir em todas as valências praticadas no laboratório Arunce, conforme abordo na Parte III deste Relatório, tendo aprofundado duas áreas específicas – a Hematologia e a Bioquímica.

5. Caracterização do Laboratório Arunce

O Laboratório Arunce, cujo nome está relacionado com a lenda do Rei Arunce e Princesa Peralta é um laboratório privado e de proximidade, de Análises Clínicas localizado na Lousã e que iniciou funções em 1973. A sua principal missão foi prestar um serviço de qualidade à Lousã e população vigente, que, atualmente, comporta cerca de 17000 pessoas. Neste momento, para além do laboratório principal, o Arunce conta com quatro unidades de colheita, em locais onde não existem laboratórios, com o propósito de estar mais perto das pessoas que confiam nos seus serviços.

O laboratório é constituído por sala de espera, receção e casa de banho de utentes, dois gabinetes de colheita de amostras biológicas, duas salas de trabalho maiores onde se desenrolam as atividades das diversas áreas que abrange, uma sala mais pequena adaptada ao diagnóstico microbiológico, na qual se levam a efeito também testes imunológicos de gravidez, pesquisa de sangue oculto em fezes, bem como uma sala contígua onde se processa o tratamento de urinas bem como procedimentos de lavagem e descontaminação dos mais diversos materiais e um escritório/sala de reuniões.

As salas de trabalho estão organizadas de forma a realizar em tempo útil e com qualidade as análises solicitadas, facilitando o funcionamento das atividades desenvolvidas. Para que tal aconteça o laboratório está munido de alguns equipamentos e tecnologia que passo a enumerar:

Bioquímica de Urinas – ARKRAY AuctionMax (Urina tipoll);

Hematologia – SYSMEX XT-1800i (hemogramas), DIESSE VesMatic20 (velocidade de sedimentação), STAGO STArt (estudo da coagulação);

Bioquímica, Endocrinologia, Imunologia – Sistema ROCHE Cobas 6000 (parâmetros bioquímicos, endócrinos e imunológicos), BIO MERIEUX Vidas (Imunologia e Endocrinologia), INTERLAB Genio Electrophoresis (proteinogramas).

O bom funcionamento destes equipamentos é garantido pelas manutenções programadas dos mesmos, nomeadamente as realizadas pelos técnicos das marcas e semanalmente/diariamente pelos Técnicos Superiores de Análises Clínicas (TSAC) bem

como pelas calibrações frequentes dos mesmos e controlos de qualidade internos e externos, assegurando assim a qualidade e fiabilidade dos resultados

As amostras colhidas são etiquetadas com o respetivo nome e número de utente e um código de barras de forma que possam ser lidas pelos equipamentos e associadas àquele utente, a nível informático. Praticamente todos os equipamentos têm um leitor de código de barras incorporado, o que facilita a transmissão da informação, e no final do processamento de cada amostra os resultados ficam disponíveis nos computadores do laboratório (software Syslab), de modo a serem validados, tendo sempre em consideração o histórico e informação clínica do utente.

Quando existem alterações dos resultados significativas para o estado de saúde do utente, este é contactado para voltar ao laboratório no sentido de repetir a análise ou de ser encaminhado para o médico.

Relativamente ao Controlo de Qualidade, o laboratório realiza controlo de qualidade interno regido pelos critérios estabelecidos pela Direção Técnica, sendo as amostras de controlo analisadas por rotina pelos técnicos, usando os mesmos métodos que os usados nas amostras dos utentes. O Laboratório Arunce participa ainda de ensaios inter-laboratoriais, para Avaliação Externa de Qualidade, organizados por organismos independentes como a AEFA (Associação Espanhola de Farmacêuticos Analistas) ou por fabricantes de equipamentos, como a Sysmex. Estes ensaios permitem comparar resultados destes laboratórios com os de outros laboratórios nacionais e estrangeiros. Os resultados destes ensaios externos são enviados à entidade organizadora, recebendo posteriormente um relatório com a análise dos resultados.

No Laboratório Arunce, sendo um laboratório de proximidade, processam-se maioritariamente análises de rotina ou preventivas, numa perspetiva de Cuidados de Saúde Primários em sintonia com o Centro de Saúde da Lousã, apesar de aparecerem todo o tipo de situações, porém, com menor frequência.

PARTE II

I. Fase Pré-Analítica

A fase pré-analítica consiste em todas as etapas que decorrem até que se inicia o processamento da amostra pelo TSAC ou especialista. As fases extra analíticas – Pré-analítica e Pós analítica – foram um pouco negligenciadas ao longo dos anos, do ponto de vista do controlo da qualidade, sabendo-se que esta primeira etapa é decisiva, no sentido de que pode afetar ou destruir os componentes ou propriedades a analisar, invalidando uma correta interpretação de resultados. ⁽¹⁾

É fundamental o respeito e cuidados para com as atividades relativas à fase Pré-Analítica no sentido de que para obter resultados ótimos é necessário partirmos de uma amostra de boa qualidade. Sendo as Análises Clínicas um dos mais importantes meios complementares de diagnóstico clínico, é fundamental que se determinem resultados fiáveis e precisos daí a necessidade de existir uma amostra colhida, preservada e transportada de acordo com requisitos adequados.

No atual paradigma financeiro, onde impera a redução de custos e corte de despesas já implementadas há tanto tempo, decorre simultaneamente um aumento de exigências ao nível da qualidade, um aumento da pressão no sentido das instituições adotarem cada vez mais medidas de segurança e certificação. No entanto, segundo Piqueras (1998), se houver uma melhoria da qualidade, todos os erros, defeitos e repetição de trabalho, ou seja, tudo o que é considerado “desperdício” também diminui, levado assim a um incremento na produtividade. ⁽²⁾

O processo que corresponde à fase pré analítica decorre desde que o clínico faz uma requisição de exame laboratorial, a informação que é transmitida ao laboratório, a preparação do utente, a identificação, colheita, manipulação, transporte e conservação de amostras, a rejeição de amostras que não se encontram de acordo com os requisitos, o envio de amostras para laboratórios subcontratados, entre outros.

- **Requisições de análises**

Como já referimos anteriormente, a Fase Pré Analítica começa com a prescrição do exame laboratorial em questão que deve ser clara e mostrar que o médico tem a noção dos serviços realizados num laboratório, daí a vantagem de haver uma estreita colaboração entre os laboratórios e o prescritor, o que nem sempre, infelizmente, acontece.

- **Preparação do utente**

Esta etapa tem como objetivo principal evitar fatores externos que influenciem os parâmetros a realizar, pelo que o utente deve estar bem informado do exame que vai fazer e instruído no sentido de cumprir os requisitos necessários ao mesmo. Se necessário o laboratório deve ter e fornecer impressos ou folhetos com instruções variadas para o utente, de acordo com a situação. Deve também haver no laboratório literatura que compile todos estes fatores passíveis de alterarem as amostras e que possam ser consultadas por todos os trabalhadores.

FATORES DO UTENTE	
INERENTES E NÃO MODIFICAVEIS	PASSIVEIS DE MODIFICAÇÃO
<ul style="list-style-type: none"> - Idade - Sexo - Faixa etária - Ciclo menstrual - Gravidez 	<ul style="list-style-type: none"> - Stresse - Exercício físico - Dieta - Postura - Medicação - Tabaco/álcool

TABELA I. Fatores que podem afetar exames laboratoriais.

○ stresse estimula o aumento da concentração plasmática de hormonas como o cortisol e aldosterona, pelo que o utente deve estar num ambiente relaxante e agradável durante a colheita. ○ exercício físico intenso nos dias prévios altera parâmetros como a

creatininase (CK), desidrogenase láctica (LDH), potássio (K⁺), bem como o garrote demasiado apertado e por demasiado tempo também alteram estes metabolitos.

A dieta é preponderante em inúmeros exames. Por exemplo, uma ingestão importante de determinados alimentos tais como gorduras e hidratos de carbono nos dias anteriores, determina uma turbidez acentuada do soro que invalida determinadas técnicas. A ingestão de álcool acentuada indubitavelmente altera parâmetros como as enzimas hepáticas, glicose, ácido úrico e o consumo de tabaco pode alterar lípase, amílase, colesterol e glicose.

É igualmente importante ter em conta o ritmo circadiano do indivíduo, aplicando-o na interpretação de alguns resultados, nomeadamente em parâmetros como a hormona adrenocorticotrofina (ACTH) e corticosteroides no geral que alteram consoante o momento do dia. O sexo da pessoa é também um fator bem conhecido de alteração nos parâmetros, sendo alguns mais elevados no sexo feminino (transferrina e amílase) e outros mais elevados no sexo masculino, como o ácido úrico, CK ou transaminases. O ciclo menstrual e a gravidez são também dois fatores que predisõem alteração de valores em alguns parâmetros, bem como a ingestão de medicação e as alterações posturais aquando da colheita. ⁽¹⁾

Em suma, de modo a minimizar o mais possível a alteração dos parâmetros por estes fatores deve garantir-se que a colheita seja feita tendo em conta alguns requisitos, nomeadamente um jejum de 14 horas (incluindo tabaco e álcool), evitar o exercício físico intenso pelo menos até 48 horas antes e dormir uma boa noite de sono.

- **Colheita de amostras**

Conforme já referido anteriormente, deve-se confirmar o nome do utente e se este se encontra nas condições adequadas para a colheita. Este deve aguardar na sala de espera pelo menos durante 15 minutos para que repouse um pouco antes de entrar no gabinete de colheita.

No Laboratório Arunce tive a oportunidade de assistir e participar em colheitas de exsudados vaginais, zaragatoas vaginais e perineais (*streptococcus agalactiae*), exsudados nasofaríngeos, fragmentos de unhas, urina em bebés e tive a oportunidade de assistir e participar, inicialmente sob orientação e mais tarde autonomamente, na colheita de sangue venoso, a amostra biológica mais comum neste laboratório.

A colheita de exsudados no laboratório central é feita com zaragatoas, sem meios de transporte, uma vez que as colheitas são realizadas no local onde serão analisadas. Caso contrário haveria possibilidade de necessitarem de meios de transporte ou de conservação. O intervalo entre a colheita da amostra e o seu processamento deve ser o mais curto possível⁽¹⁾, o que acontece no laboratório Arunce pois as amostras são colhidas no laboratório principal. As realizadas nas unidades de colheita são levadas ao laboratório central a meio da manhã, devidamente acondicionadas e centrifugadas se necessário, de forma que não se coloque em risco as amostras.

A colheita de sangue deve ser feita de acordo com uma técnica de flebotomia específica, tendo em conta alguns cuidados e requisitos importantes, correndo o risco de invalidar a interpretação de resultados se esta não for feita adequadamente.

O local mais comum para a punção é a fossa ante cubital do braço, sendo puncionadas mais frequentemente as veias cefálica ou basílica. (Figura 1) A garrotagem deve ser feita com firmeza sem, no entanto, causar desconforto no utente e não se deve prolongar mais de um minuto, sob o risco de hemolisar a amostra ou fazer hemoconcentração.

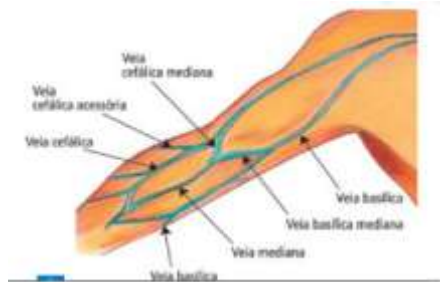


Figura 1. Veias do antebraço mais usadas para colheita de sangue

Fonte: Sítio da Internet

Deve aspirar-se suavemente para que o bisel da agulha não cole na parede da veia, e após a punção deve pedir-se ao utente que auxilie no sentido de pressionar o local com um algodão por tempo suficiente até estancar, normalmente 1 ou 2 minutos. Deve haver um especial cuidado relativamente aos doentes que fazem terapêutica anticoagulante, no sentido em que demoram mais tempo até que se ative a cascata de coagulação.

Após descartar a agulha da seringa para um contentor adequado, deve distribuir-se o sangue pelos tubos de acordo com a ordem recomendada pelo CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute* (enumero apenas os tubos usados no laboratório Arunce):

- 1º Tubos sem preparação;
- 2º Tubos com citrato de sódio;
- 3º Tubos para soro – ativador de coágulos;
- 4º Tubos com heparina;
- 5º Tubos com EDTA.

Esta ordem específica minimiza o risco de contaminação da seringa e por conseguinte dos outros tubos, uma vez que o ativador de coágulos altera os resultados da coagulação e o EDTA altera parâmetros como o cálcio e o potássio. A homogeneização dos tubos no final da distribuição deve ser imediata e feita de forma suave.

Nos casos em que é o próprio doente a colher a amostra, como urina ou fezes, é validado com o utente o modo como a efetuou e se não tiver sido nas condições ideais esta deve ser rejeitada e feito novo ensino para uma nova colheita. Contudo, este tipo de colheitas, sempre que possível, deve ser realizado no próprio laboratório com a ajuda de pessoal técnico.

PARTE III

I. Fase Analítica

A fase analítica contempla os diversos passos do tratamento da amostra em si, desde simples observações macroscópicas e microscópicas até determinações quantitativas e qualitativas. Esta etapa é a que pode acarretar menor número de erros em todo o processo laboratorial desde que se respeitem determinadas regras de atuação. Segundo a literatura, os procedimentos analíticos devem seguir determinados parâmetros e especificações de modo a garantir um bom nível de qualidade. Verificou-se que nos últimos anos os erros inerentes a esta fase têm diminuído bastante devido aos avanços da tecnologia mas fundamentalmente devido à implementação de sistemas de gestão da qualidade. Entre outros fatores, enumero alguns dos que podem afetar a fase analítica, que podem variar de uns laboratórios para outros:

- Calibração do material e dispositivos de medição, como pipetas;
- Estabilidade da corrente;
- Temperaturas de frigoríficos, congeladores e estufas;
- Velocidade das centrífugas;
- Manutenção e controlos dos equipamentos analíticos. ⁽³⁾

I.1. Setor de Estudo Laboratorial de urinas

A formação de urina depende dos complexos processos de filtração do sangue, reabsorção de moléculas essenciais, tais como água, e secreção tubular de algumas substâncias. Após a sua formação no rim, passa pelo ureter até atingir a bexiga onde fica reservada temporariamente até ser excretada através da uretra e meato urinário. ⁽³⁾



Figura 2. Percurso da urina, desde a sua formação até excreção.

Fonte: sítio de Internet

A expressão urianálise de rotina inclui uma serie de exames seletivos e de detecção que permitem despistar ou diagnosticar uma panóplia de alterações do trato génito urinário e mesmo sistémicas, uma vez que o estudo das propriedades físicas e químicas da urina constituem importantes indicadores do estado de saúde de um individuo.

Neste setor do Laboratório Arunce as amostras são analisadas relativamente às suas características físicas e químicas, nomeadamente, cor, densidade, pH, turbidez, bem como é realizado o exame microscópico do sedimento urinário, correspondendo ambos ao que chamamos de Sumária de Urina ou Urina tipoll. Se for pedida a pesquisa e identificação de bactérias na urina e respetivos testes de sensibilidade, ou seja, uma Urocultura a urina é processada no setor de Microbiologia. Para a quantificação de alguns metabolitos ou proteínas, são usadas alíquotas da Urina de 24horas, sendo esta análise realizada no setor de Bioquímica.

Neste setor são processadas as amostras deixadas ou colhidas no laboratório principal e a meio da manhã chegam as urinas provenientes das unidades de colheita que vêm acondicionadas em malas térmicas para não sofrerem alterações de temperatura.

Segundo Graff (1983) o ideal seria analisar a urina o mais rápido possível ou no caso de não ser possível de todo, refrigerá-la. As amostras à temperatura ambiente rapidamente iniciam um processo de decomposição devido a bactérias que degradam a ureia em amoníaco, o que aumenta o pH da urina. Urinas alcalinas tendem a promover a dissolução de determinadas estruturas como cilindros. As bactérias usam a glicose como fonte de energia podendo também gerar falsos negativos para glicosúria. ⁽⁴⁾

A enganosa facilidade na colheita de urina pode levar a erros na fase pré analítica do processamento da urianálise, desenvolvendo resultados incorretos e levando a que a amostra seja subestimada pelo analista. ⁽¹⁾ Deste modo, é de eximia importância que o utente faça uma correta colheita e manuseamento da amostra, sendo que para tal, o laboratório

deve ter um papel pró-ativo no sentido de que isso aconteça, nomeadamente reforçando ensinamentos e até disponibilizando folhetos e figuras de uma correta colheita. A amostra ideal deve ser logo a primeira da manhã, uma vez que está mais concentrada e deve ser feita num frasco estéril e descartável, cedido pelo laboratório. A colheita deve ser feita após a higiene matinal e deve apenas aproveitar-se o jato médio.

Para ser considerada normal, a urina deve ser amarela (devido ao urocromo) e pode variar desde mais clara a mais escura consoante a concentração da urina, deve ser sempre límpida, podendo apresentar, no entanto, uma ligeira turvação devido à precipitação de uratos amorfos ou à presença de muco e células epiteliais. A alteração nestes parâmetros pode remeter para diversificadas alterações patológicas no utente. ⁽⁵⁾

No Laboratório Arunce, para o estudo de Sumária de Urina é utilizado um equipamento denominado de Aution Max da ARKRAY que testa parâmetros como glicose, proteínas, sangue, bilirrubina, pH, cetonas, nitritos, coloração, turbidez, densidade, entre outros. O equipamento dispensa e mergulha as tiras UriFlet, tiras de reagentes para a determinação de parâmetros, fazendo depois a leitura colorimétrica das mesmas e compara essa leitura com a tabela de valores predefinida pelo fabricante, traduzindo os resultados em valores quantitativos. Existem alguns parâmetros que ao serem detetados pelas tiras são então quantificados com mais precisão no setor de bioquímica, mais propriamente no Cobas6000, nomeadamente a glicose. Quando as amostras de urina saem do Aution Max, são colocadas a centrifugar durante 7 minutos, decantadas, é colocada uma gota de urina entre lâmina e lamela. O sedimento é então visualizado a fresco, microscopicamente, pelo Especialista ou TSAC.

Num sedimento de urina normal aparecem diversos elementos, tais como células epiteliais, cristais e cilindros variados, fibras, entre outros, podendo mesmo aparecer um pequeno número de componentes como hemácias ou leucócitos, ou até mesmo interferências, como bolhas de ar. Estes últimos aspetos referidos podem confundir um técnico inexperiente, devendo este aprender a confiar nas suas observações, após observar e fazer contagens nos campos recomendados. ⁽⁵⁾

Durante o estágio, o setor de Estudo Laboratorial de urinas foi o setor onde pude desenvolver maior autonomia em primeiro lugar, e para além do exame físico e químico da urina, houve durante todo o estágio a oportunidade de observar lâminas de sedimento urinário, sempre com a ajuda de um especialista ou TSAC, de modo a validar as minhas

observações. Neste contexto não posso deixar de manifestar alguns aspetos que tive a oportunidade de observar como eritrócitos crenados relacionados com urina hipertónica;; pH elevado e densidade baixa implicou a lise de eritrócitos; nas urinas hipotónicas destacaram-se leucócitos com grânulos designados por “glitter cells”.

1.2. Setor de Microbiologia/Parasitologia

Na falta de câmara de fluxo laminar, este setor processa-se numa sala pequena mas arejada, e com um ambiente limpo e ordenado, conforme deve ser um laboratório de Microbiologia. Conta com a presença de autoclave, estufa, bico de Bunsen, ansas calibradas, meios de cultura, reagentes e corantes.

Para trabalhar com segurança num laboratório de Microbiologia, o TSAC ou TAC deve estar calmo e concentrado, usar sempre bata, manter o seu espaço limpo e ordenado e não manusear objetos pessoais. Deve sempre trabalhar-se em redor da chama do bico de Bunsen, mantendo um ambiente assético, e ter as precauções necessárias e próprias da utilização deste tipo de molécula, o gás. ⁽⁶⁾ Todas as amostras devem ser tratadas como sendo potencialmente patogénicas, nunca se deve subestimar a amostra e o laboratório deve estar preparado para qualquer acidente que aconteça, como é o caso do Arunce, que possui um manual de atuação em caso de acidentes, extintores, chuveiros de descontaminação e material de primeiros socorros.

Recebemos uma grande variedade de amostras tais como urina, fezes, exsudados vaginais, exsudados nasofaríngeos, sangue, esperma, unhas, entre outros. As amostras mais frequentes são urina, para exame cultural, identificação e teste de sensibilidade, bem como as fezes para exame bacteriológico e parasitológico, sendo este último, no entanto, cada vez menos frequente, uma vez que os padrões sanitários e higiénicos das sociedades estão a aumentar. Relativamente a amostra de urina, é sempre analisado o sedimento, microscopicamente, para que se comparem, após 24 horas, os resultados da cultura efetuada em CPS3, meio cromogénico usado para contagem de microorganismos e identificação direta de *Escherichia Coli*, *Enterococcus* e *Proteus*. Inocula-se o meio pela técnica de esgotamento do

produto à superfície do meio sólido, com ansa calibrada, incuba a 37° e no dia seguinte o TSAC procede à interpretação da cultura:

Se $<10^2$ Unidades formadoras de Colónias (UFC), considera-se negativo;

Se entre 10^2 e 10^4 UFC, comparar com os valores do exame microscópico do sedimento e se houver um número elevado de leucócitos ou/e eritrócitos deve verificar-se as informações clínicas do utente, nomeadamente se existe sintomatologia ou se iniciou toma de antibióticos, e se for justificado convém proceder-se a identificação e Teste de Susceptibilidade a Antibióticos (TSA);

Se $>10^5$ UFC, com colónias puras, então considerar sempre positivo, identificar e fazer TSA. Quando se verifica a presença de 3 tipos de colónias considera-se que houve contaminação, pedindo a realização de uma nova colheita.

A identificação é realizada com a ajuda de testes comerciais da BioMerieux, nomeadamente os API^R, que consistem numa galeria de microtubos com substratos desidratados que quando inoculados com a suspensão bacteriana, reconstituem e produzem reações durante a incubação que provocam alterações de cor espontâneas, ou não, consoante o resultado dos testes químicos. Após o tempo adequado de incubação existem grelhas e tabelas de leitura para se proceder à identificação precisa do microorganismo. Estes API^R podem ser específicos para a identificação de microorganismos Gram negativos, Gram positivos, Anaeróbios, entre outros.

Os TSA, testes de susceptibilidade dos microorganismos aos princípios ativos que constituem os antibióticos, são também processados em galerias comerciais da BioMerieux denominadas ATB^R, contendo cúpulas com antibióticos – uma ou duas concentrações da mesma substância – nas quais é inoculada a suspensão bacteriana, verificando-se após incubação se se efetivou algum crescimento bacteriano – Resistente – ou não – Sensível. A sensibilidade do microorganismo pode ainda ser considerada Intermédia se este apenas for sensível a maiores concentrações de um antibiótico. A técnica de referência de antibiograma é denominada de Bauer-Kirby e consiste num método de difusão em disco (discos impregnados com o principio ativo) que provocam halos de inibição no crescimento bacteriano, na gelose de Mueller Hinton. Esta técnica não é realizada por rotina devido ao grande número de amostras mas é usada em caso de dúvidas. Quando se realiza a leitura dos resultados é importante referir apenas os antibióticos que o TSAC considere relevantes, nomeadamente aqueles que se adequam à patologia em si, ao local onde se encontra o

indivíduo - ambulatório ou não, menores espectros de ação de modo a minimizar resistências bacterianas e tendo em conta a epidemiologia da zona onde se encontra.

As amostras com grande flora bacteriana, como as fezes, implicam uma análise orientada pelo que quando têm indicação para exame cultural são normalmente semeadas em meios seletivos, favorecendo o crescimento de alguns microorganismos em detrimento de outros, como por exemplo o Hektoen (seletivo para *Shigella* e *Salmonella*) e caldos de enriquecimento, tais como o Selenito para repicagens posteriores com o intuito de obter cultura pura. Após isolamento deve igualmente proceder-se a identificação e TSA. As amostras de fezes com indicação de exame parasitológico, são observadas macroscopicamente e microscopicamente, observação a fresco com uma gota de soluto de Lugol, sendo normalmente observado após métodos de concentração de fezes, permitindo uma maior concentração de elementos parasitários num menor volume de amostra, facilitando assim a pesquisa. Quando a requisição pede uma Pesquisa de Sangue Oculto nas fezes é utilizado um *kit* comercial, *ACON Fob^R* que se baseia num teste imunocromatográfico para deteção de hemoglobina nas fezes, mesmo em quantidades mínimas.

As amostras susceptíveis de presença de fungos ou leveduras devem ser cultivadas em meios próprios como a Gelose de Sabouraux, Cloranfenicol, Actidiona e respeitar as suas condições de incubação. Os fungos podem ter um crescimento bastante mais lento que as bactérias pelo que existem amostras que podem demorar semanas e até meses a desenvolver colónias nos respetivos meios de cultura. O exame micológico direto implica a fixação da preparação (raspado de pele ou unhas) com ácido acético e, após secagem, corar com azul de metileno.

Neste setor tive a oportunidade de desenvolver atividades como a cultura das amostras em meios adequados que seleccionei previamente, e incubei nas condições adequadas, bem como preparar esfregaços e proceder à sua coloração de acordo com o microorganismo e de modo a ser observado microscopicamente. Tive, também, a oportunidade de observar esfregaços a fresco de exsudados vaginais e de fezes. Foi-me permitida a identificação de microorganismos com os sistemas comerciais já referidos anteriormente, bem como proceder aos TSA.

1.3. Setor de Hematologia

Podemos dizer, de uma forma muito generalista, que a Hematologia é o estudo do sangue, seja em condições saudáveis ou patológicas.

Ao longo dos tempos o sangue tem sido deificado. Considerado como tendo poderes místicos, sangravam-se os homens para que se curassem dos males. A Hematologia surgiu e desenvolveu-se a partir desse fascínio pelo sangue; atualmente engloba ciência, conhecimento, competências, alguma arte e instinto e acima de tudo, estuda relações, nomeadamente a relação entre a hemoglobina e os eritrócitos, a relação entre o ambiente plasmático e a vida dos eritrócitos, a relação entre a medula óssea e a circulação sistêmica. ⁽⁹⁾

Segundo Turgeon (2005), a hematopoiese consiste na produção, diferenciação e desenvolvimento de células que constituem o sangue. Para que este processo seja possível, têm na base os órgãos hematopoiéticos, nomeadamente o fígado, baço, nódulos linfáticos, timo e principalmente a medula óssea. A autora refere ainda que as células estaminais (CE) são a base de todo o sistema hematopoiético, sendo as primeiras produzidas logo na gestação. As CE totipotentes são as mais versáteis, indiferenciadas, e a partir delas formam-se todas as células que constituem um ser humano adulto; as CE pluripotentes têm a capacidade para se diferenciar em células que derivam das diferentes camadas embrionárias, originando diferentes tipos de tecidos especializados; as CE multipotentes, já limitadas na sua capacidade de diferenciação, apenas originam células da sua linhagem.

São estas CE hematopoiéticas multipotentes, que se encontram “comprometidas” com esta linhagem celular que permitem a produção de células sanguíneas, conforme é perceptível na imagem seguinte:

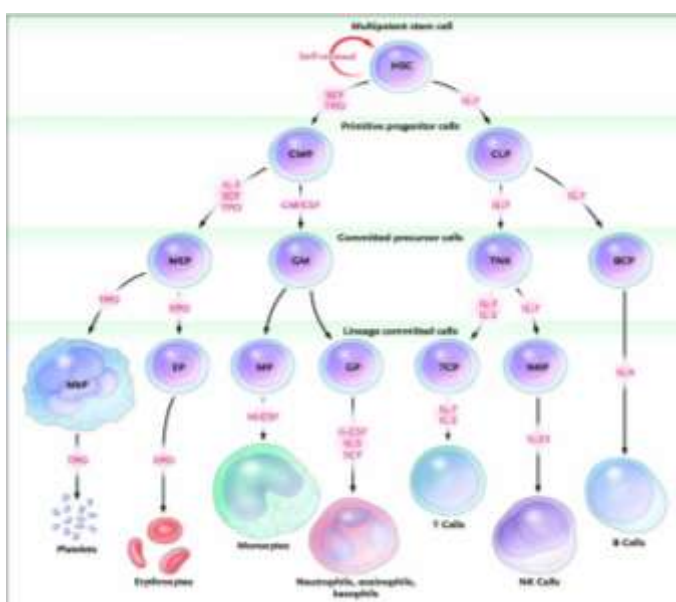


Figura 3. Modelo de sistema hematopoiético.

Fonte: Referência Bibliográfica nº 8

Em suma, todas as células têm um precursor comum, uma célula pluripotente que origina células iguais a si e origina outras células que se vão diferenciar em duas linhagens; a CE de origem linfóide que origina Linfócitos T e B e a CE mieloide que origina cinco linhas evolutivas:

Granulocítica (monócitos e neutrófilos);

Basofílica (basófilos);

Eosinofílica (eosinófilos);

Eritroide (eritrócitos);

Megacariocítica (plaquetas).

Este desenvolvimento processa-se nos órgão hematopoiéticos já referidos e só quando as células estão maduras é que passam para o sangue periférico. A Hematologia dedica-se, então, ao estudo destas células sanguíneas, bem como ao estudo aprofundado das suas alterações patológicas, como anemias, talassémias, leucemias, hemoglobinopatias, entre outras, no entanto, estas patologias ocorrem com mais frequência em ambiente hospitalar.

1.3.1. Hemograma e esfregaços sanguíneo

Podemos afirmar, de acordo com Renato Failace (2009) que o hemograma avalia quantitativa e qualitativamente os componentes celulares do sangue. Este é o exame de rotina e diagnóstico mais requerido nas consultas médicas, fazendo parte de qualquer “*check-up*” ou revisão de saúde.

O autor defende ainda que para além de fundamental na triagem de saúde, é indispensável no diagnóstico e controlo evolutivo de doenças, emergências médicas e cirúrgicas e na monitorização de tratamentos.

Os hemogramas no Laboratório Arunce processam-se num auto-analisador Sysmex^R XT1800i com o qual tive a oportunidade de aprender a trabalhar e assim sendo, quando falar em auto analisador, estarei a falar sobre este equipamento.

O equipamento combina técnicas de citometria de fluxo – leucogramas, métodos de detecção DC ou de impedância – eritrogramas e métodos colorimétricos – hemoglobina, oferecendo a sensibilidade necessária para a contagem e diferenciação de tipos celulares. Permite também alertar para a presença de populações anormais de células, facilitando a observação microscópica de esfregaços sanguíneos.

Apesar de ser bastante sensível e exato, o autonalisador não substitui de todo o “olho humano” de um profissional experiente, pelo que no Laboratório Arunce, são selecionadas e observadas todas as lâminas que suscitam qualquer tipo de alerta no auto-analisador. Existem aspetos que o auto-analisador não observa conforme podemos ver na tabela seguinte:

ERITROGRAMA Pontuado Basófilo Policromatocitose Pecilocitose Inclusões (Jolly ou pontilhados basófilos) Eritroblastos < 5% Efeito de “Rouleaux”
LEUCOGRAMA Desvio à esquerda Anomalia de Pelger Huet Plasmócitos Linfócitos atípicos <i>Hairy cells</i>
PLAQUETOGRAMA Agregação (se discreta) Satelitismo plaquetário

Tabela 2. O que os autoanalisadores não veem.

Os esfregaços sanguíneos são executados no momento da colheita, com sangue direto da seringa pelo que não sofrem alterações provocadas pela presença de EDTA. Após estarem secos, são sujeitos a coloração pela técnica de May-Grünwald-Giemsa e posterior análise microscópica a 40X e 100X (com óleo de imersão). Para além de trabalhar com o auto-analisador pode observar durante todo o estágio esfregaços sanguíneos, sempre com a orientação e validação de um técnico experiente.

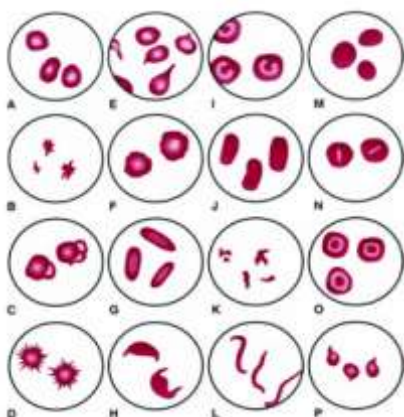
Passo então a descrever os parâmetros dados pelo hemograma.

1.3.2. Avaliação da série vermelha do sangue

1.3.2.1. Eritrócitos

Os eritrócitos ditos normais devem ser discóides, bicôncavos, sem núcleo e o seu tamanho pode variar entre 6,8 até 7,5 μ m - normocíticos. Em estados patológicos os eritrócitos podem apresentar variações na sua forma, tamanho, cor, inclusões e na sua distribuição no esfregaço sanguíneo.

Relativamente a alterações no tamanho, se os eritrócitos forem maiores que o normal consideram-se macrocíticos, ou microcíticos se forem menores. Se num esfregaço aparecerem variados tamanhos de eritrócitos podemos considerar que existe anisocitose, o que é frequente em anemias severas ⁽⁸⁾. Pode também acontecer, após transfusões dois tamanhos de eritrócitos. Normalmente, macrocitose está associada a uma eritropoiese aumentada e deficiências de vitamina B12 e folatos e microcitose está associada, por norma, a um diminuto conteúdo em hemoglobina, por exemplo.



Quando os eritrócitos apresentam uma forma diferente da que é suposta, denomina-se de poiquilocitose, podendo os mesmos assumir diversas formas. A poiquilocitose pode ser uma anormalidade comum, pouco específica, como o caso da altitude que provoca esta anomalia em pacientes hematologicamente

saudáveis, ou pode ter um significado especial em casos de formas específicas.

Figura 4 . Alteração morfológica dos eritrócitos.

A-Morfologia normal, B – Acanócitos; C- *Blister cells*; D-Equinócitos; E- Poiquilócitos; F- Equinócitos; G- Eliptócitos; H- Células em capacete; I- Leptócitos; J- Megalócitos; K – Esquizocitos; L- Células em S ou drepanócitos; M-Esferócitos; N- Estomatócitos; O- Células em alvo; P- Células em lágrima.

Quando existe variação na coloração do eritrócito denomina-se de anisocromia. Este espectro de coloração varia desde a hipocromia até monocromia. Estas alterações correspondem a uma variação em conteúdo de hemoglobina do eritrócito e estão relacionadas com anemias de uma forma geral.

Relativamente a inclusões eritrocitárias que podem ser visualizadas nos esfregaços sanguíneos, estas podem corresponder desde formas parasitárias, como é o caso do *Plasmodium sp* , agente etiológico da malária, até fragmentações de material nuclear. Os corpos de Howell-Jolly correspondem a fragmentos de material nuclear que fragmenta ou devido a mitoses anormais. Estes não deveriam ser vistos no sangue periférico pois são removidos, normalmente, pelo baço, pelo que é frequente em utentes esplenectomizados ou com insuficiências esplênicas. O pontuado basófilo corresponde a inclusões basófilas de ARN, raramente vistas em utentes hematologicamente normais e observadas com frequência em utentes com hemoglobinopatias, talassémias e é característico de deficiência hereditária em pirimidina 5'nucleotidase, uma enzima necessária à degradação de ARN. Os corpos de Pappenheimer correspondem a inclusões basófilas que contêm ferro e formam conglomerados na periferia do eritrócito. Os eritrócitos com estas inclusões passam a ser considerados siderócitos e são característicos das anemias sideroblásticas.

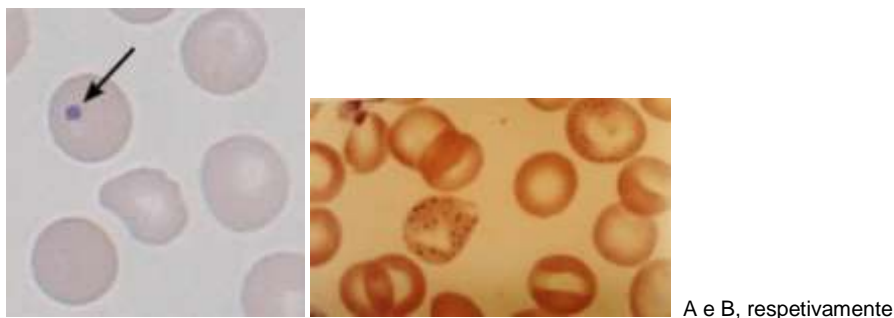


Figura 5. Inclusões eritrocitárias; A – corpo de Howell-Jollie, B – Pontuado basófilo.

Fonte: Sítio da Internet

Os eritrócitos podem agrupar-se em aglomerados irregulares devido à formação de coágulos durante a colheita, denominando-se de aglutinação de eritrócitos. Esta aglutinação pode estar também relacionada com anemias hemolíticas autoimunes onde é característico os eritrócitos estarem revestidos por anticorpos. Na formação de “Rouleaux” existe uma aglutinação mas de forma ordenada, mais propriamente em forma de pilha de moedas. Ocorre quando há elevada concentração de proteínas de alto peso molecular ou quando há aumento de fibrinogénio, como é o caso da gravidez. Este fenómeno está também relacionado com o mieloma múltiplo ou outras condições inflamatórias.

1.3.2.2. Hemoglobina ou Hb

A hemoglobina corresponde ao conteúdo do eritrócito e é normalmente do tipo A, podendo também aparecer tipo A2 e F em indivíduos adultos. Tem como principal função o transporte de oxigénio às células e cada molécula é constituída por quatro cadeias, cada uma com um grupo Hebe ligado a moléculas de ferro.

É doseada no equipamento Syxmex por espectrofotometria, após converter a hemoglobina em laurilsulfato de hemoglobina, de cor estável e com pico de absorvância aos 540 nm.

É importante a interpretação dos valores de Hb tendo em conta as características do utente, uma vez que estes estão dependentes do género da pessoa e idade.

1.3.2.3. Hemoglobina corpuscular média ou MCH

Este parâmetro indica a quantidade média de Hb que cada eritrócito contém, sendo útil na avaliação de anemias.

Valores aumentados podem manifestar esferocitose e estão associados a anemias macrocíticas e valores diminuídos correspondem normalmente a anemias microcíticas. É possível calcular este parâmetro com a divisão do valor total de Hb pelo número total de eritrócitos.

$$\text{MCH}(\text{pg}) = \frac{\text{Hb}}{\text{RBC}} \times 10$$

1.3.2.4. Concentração média de hemoglobina corpuscular ou MCHC

Este parâmetro indica a concentração média de hemoglobina em cada eritrócito, tendo em conta o volume dos mesmos e o seu conteúdo. A fórmula em que se baseia é a seguinte.

$$\text{MCHC}(\text{g/dL}) = \frac{\text{Hb}}{\text{Hct}} \times 100$$

Quando há valores de MCHC acima dos valores de referência significa hiperchromia e está relacionado, segundo Failace (2009) com esferocitose, coma hiperesmolar, desidratação de eritrócitos e por vezes hemoglobinopatias. Quando há deficiência em ferro durante a eritropoiese, com um aumento progressivo de anemia, a MCHC diminui lentamente, de forma proporcional aos valores de Hb (hipocromia). Segundo o mesmo autor 95% dos hemogramas com hipocromia devem-se a anemias ferroprivas, mas apenas 20% dos casos de anemia apresenta diminuição de MCHC.

1.3.2.5. Volume corpuscular médio ou VCM

Em 1930 Maxwell Wintrobe difundiu que o volume médio dos eritrócitos correspondia à razão entre o hematócrito e a contagem dos eritrócitos. (Failace,2009)

$$\text{VCM}(\text{fl}) = \frac{\text{Hct}(\%)}{\text{RBC}}$$

Wintrobe provou assim, na época, que as anemias podiam ser caracterizadas tanto por eritrócitos maiores como mais pequenos que o normal, conforme observavam ao microscópio.

1.3.2.6. Hematócrito ou HCT

O hematócrito corresponde à percentagem de eritrócitos no sangue total após centrifugação, representando o volume total ocupado pelos eritrócitos. A determinação automática é feita multiplicando o número de eritrócitos total pelo seu volume médio.

Normalmente, valores baixos de hematócrito estão associados a anemias, hemorragias, insuficiências na eritropoiese, entre outros. Valores elevados estão associados a desidratação, eritrocitose ou policitemia vera.

1.3.2.7. Distribuição do diâmetro dos eritrócitos ou RDW

Este parâmetro mede o grau de heterogeneidade dos eritrócitos medindo a variação do tamanho celular calculado em porcentagem, quanto maior o valor maior a anisocitose.

1.3.2.8. Anemias

O laboratório tem um papel fundamental no sentido de determinar parâmetros importantes que em conjunto com outros fatores permitem ao clínico diagnosticar anemias, bem como definir causas e tratamentos. Segundo Ciesla (2007) um indivíduo desenvolve anemia quando, de alguma forma, os eritrócitos já não conseguem suprir os tecidos com oxigênio. Podem ser classificadas de acordo com a morfologia dos eritrócitos, baseada em parâmetros eritrocitários.

As anemias de uma forma geral podem ser consideradas microcíticas, macrocíticas ou normocíticas, hipocrômicas ou normocrômicas e na sua base podem estar defeitos nutricionais (deficiências em ferro, deficiências em vitamina B12 e folatos), defeitos na membrana do eritrócito (esferocitose), defeitos na hemoglobina (anemia falciforme e talassémias) e hemorragias.

As anemias microcíticas, tais como anemia ferropénica, anemia sideroblástica e talassémia têm como característica eritrócitos pequenos e hipocrômicos devido à deficiência em hemoglobina.

A anemia ferropénica é, segundo a literatura, uma das mais frequentes desordens nutricionais a nível mundial e são vários os fatores que contribuem para alterações no balanço do ferro, nomeadamente a ingestão, a absorção, transporte, armazenamento e hemorragias.⁽¹⁾ Uma vez ingerido, o ferro é absorvido a nível gastro intestinal e transportado pela transferrina, uma proteína do plasma sintetizada pelo fígado, para os eritroblastos na medula óssea. A ferritina, proteína localizada no fígado, é uma proteína de armazenamento do ferro e que se encontra principalmente nas células envolvidas no

metabolismo e reserva do mesmo. A ferritina na circulação reflete o nível de ferro armazenado no organismo, sendo um parâmetro essencial no diagnóstico da doença.

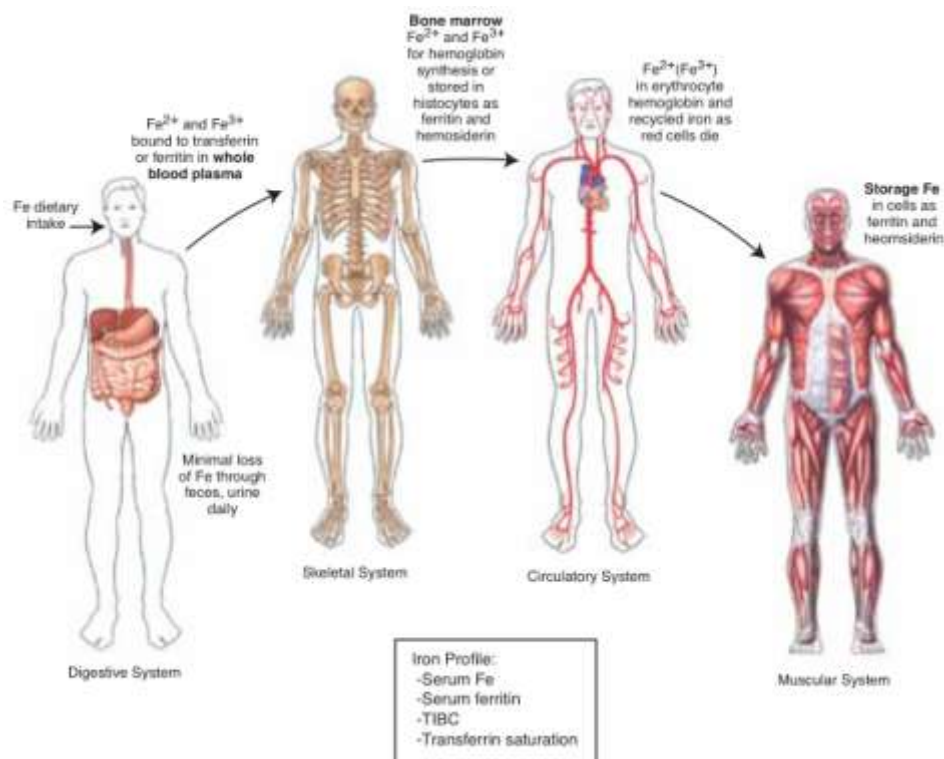


Figura 6. Metabolismo do ferro

Fonte: Sítio da Internet

As anemias relacionadas com o excesso de ferro podem ser adquiridas como a talassemia e anemia falciforme ou hereditárias. O excesso desta molécula nas mitocôndrias leva à presença de depósitos nas células precursoras na medula, em forma de anel, denominados sideroblastos. Um esfregaço sanguíneo relativo a esta patologia demonstra uma anemia microcítica, podendo haver dimorfismo (células microcíticas e normais; hipocromia e normocromia), presença de corpos de Pappenheimer e sideroblastos. A ferritina e ferro séricos estão aumentados.⁽¹¹⁾

As anemias macrocíticas correspondem a anemias em que os parâmetros VCM e HCM estão aumentados e são normalmente normocrômicas. Se na sua etiologia estiver um déficit de vitamina B12 ou ácido fólico trata-se de uma anemia megaloblástica, pois a diminuição destes dois parâmetros resulta na inibição da síntese do DNA durante a

produção de eritrócitos pela medula óssea. Existem algumas causas potenciais para o déficit de vitamina B12 que não são normalmente relacionadas com défices nutricionais como os síndromes de má-absorção ou diminuição de fator intrínseco secundário a gastrectomias, ao contrário dos défices de ácido fólico que estão associados a dieta e ocorrem com frequência em grávidas devido ao aumento das necessidades nutricionais a que estão sujeitas.

As anemias normocíticas e normocrômicas estão normalmente associadas a anomalias na membrana do eritrócito ou bioquímicas, sendo de referir a esferocitose que é, por norma, uma condição hereditária devido a mutações, e anemias hemolíticas provocadas por deficiência em glicose-6-fosfato desidrogenase, uma enzima importante na proteção do eritrócito face ao stresse oxidativo.

1.3.3. Avaliação da série branca do sangue

Os leucócitos que circulam no sangue periférico podem ser polimorfonucleares ou granulócitos – neutrófilos, basófilos, eosinófilos - ou mononucleares ou agranulócitos – monócitos e linfócitos.

Os granulócitos possuem núcleos lobulados polimórficos e grânulos citoplasmáticos proeminentes, cujas características tintoriais diferenciam o tipo de granulócito.

Os mononucleares ou agranulócitos podem também apresentar alguns grânulos sendo, no entanto, quase impercetíveis ou escassos. ⁽⁹⁾

1.3.3.1. Neutrófilos

Mede cerca de 12 a 15 µm de diâmetro sendo o maior polimorfonuclear. O seu citoplasma é acidófilo, apresentando muitos grânulos finos. O seu núcleo divide-se em 2 a 5 lóbulos distintos que tendem a dispor-se em círculo ao redor do centrossoma. Os grânulos espalham-se uniformemente no citoplasma podendo apresentar, no entanto, porções de citoplasma agranular. ⁽⁹⁾

Podem ser vistos no sangue neutrófilos maduros desprovidos de lóbulos nucleares, denominados bastonetes, que se diferenciam dos metamielócitos por apresentarem uma porção apreciável de núcleo e com margens paralelas. Quando ocorre o aumento de neutrófilos bastonetes em relação aos segmentados designa-se por “desvio à esquerda”.

Este, considerado fisiológico na gravidez, normalmente está associado a respostas a infecções, inflamações e administração de alguns fármacos.



A segmentação nuclear reduzida, quando não decorre de estímulos à medula óssea com a produção de bastonetes, surge como uma anomalia hereditária – Anomalia de Pelger-Hüett - ou adquirida – Pseudo anomalia de Pelger – Hüett. Descrito por Pelger em 1928 e reconhecida a sua natureza hereditária por Hüett em 1931, a anomalia de Pelger-Huett é herdada como uma característica autossômica dominante e a sua prevalência difere bastante entre comunidades. A anomalia é bastante visível e variada podendo apresentar neutrófilos com núcleo bastonete; outros núcleos podem ter forma de haltere ou amendoim e uma pequena percentagem pode apresentar núcleos não lobulados de todo distinguindo-se dos mielócitos por demonstrarem uma menor relação núcleo/citoplasma, cromatina nuclear mais condensada e citoplasma mais maduro. ⁽⁹⁾

Figura 7. Células características da Anomalia de Pelger-Hüett

Fonte: Sítio da Internet

As células características desta anomalia são funcionalmente normais, mantendo as funções enzimáticas e fagocíticas dos neutrófilos, possuindo igualmente sobrevividas de um leucócito normal.

É fundamental pesquisar a presença de células Pelger-Hüett em esfregaços sanguíneos de outros membros da família para estabelecer qual a sua origem hereditária. Para um correto diagnóstico de Pelger-Huett é importante pesquisar a anomalia no hemograma de familiares, bem como excluir a possibilidade de um processo infeccioso ou inflamatório no momento da colheita.

Pode ainda existir a anomalia Pseudo Pelger-Hüett, no qual a anomalia pode ser adquirida, normalmente causada por reação a drogas ou síndromes mielodisplásicas ou leucemias mieloide agudas. A grande diferença entre Anomalia Pelger-Huett, Pseudo Pelger-Huett ou o Desvio à Esquerda é que o primeiro é desprovido de significado clínico.

A pertinência em aprofundar um pouco este síndrome prende-se com o razoável número de famílias do concelho da Lousã que apresentam esta anomalia, tornando-se interessante a nível epidemiológico.

A neutrofilia é uma constante nas doenças inflamatórias agudas e é usual nas crónicas, como febre reumática, doença de Crohn ou tromboflebitis extensas. Pode existir também neutrofilia nos indivíduos em pós-operatórios ou com traumas severos. A neutropenia severa é associada a leucemia de células “cabeludas”, Lupus e artrite reumatoide.

1.3.3.2. Eosinófilos

Os eosinófilos são um pouco maiores que os neutrófilos, com diâmetro entre 12 a 17µm. Com núcleo frequentemente bilobulado e citoplasma abundante, levemente basófilos mas coberto de grânulos eosinófilos que coram de laranja-avermelhado.

A sua função é fundamentalmente tecidual, atacando parasitas com enzimas e proteínas citotóxicas contidas nos seus grânulos, aparecendo em pequena quantidade no sangue periférico. Tem uma ação anti-inflamatória, influenciando a ação de basófilos e mastócitos. A eosinofilia está normalmente associada a parasitoses e reações alérgicas.

1.3.3.3. Basófilos

Tem um tamanho semelhante ao neutrófilo, cerca de 10 a 14 µm em diâmetro. O núcleo é geralmente obscurecido por grânulos preto-purpura. É o leucócito que aparece em menor quantidade. Tal como acontece com outras células os basófilos podem ser “recrutados” para os tecidos, onde se diferenciam em mastócitos e se ligam às imunoglobulinas E. Quando há a presença de alérgenos os mastócitos desgranulam e provocam reações de hipersensibilidade, como tal o basófilo está associado a reações de hipersensibilidade ou doenças mieloproliferativas.

1.3.3.4. Linfócitos

Os linfócitos variam entre 10 a 16 µm de diâmetro, no entanto predominam linfócitos pequenos (10 a 12 µm) com citoplasma escasso e núcleo redondo e cromatina condensada. Os linfócitos grandes (10%) tem citoplasma mais abundante e cromatina menos condensada. ⁽⁹⁾ Circulam no sangue periférico linfócitos B cuja principal função é a produção

de imunoglobulinas e os T que eliminam células tumorais e agressores diversos, sendo microscopicamente impossível de os distinguir, tendo que se recorrer a técnicas específicas.

Conforme supracitado é possível visualizar nos esfregaços sanguíneos linfócitos maiores e mais pequenos, sendo bem visíveis as suas diferenças morfológicas.

A linfocitose pode estar relacionada com infecções virais agudas – mononucleose ou hepatites – ou bacterianas e em leucemias linfoides.

A linfopenia, um decréscimo do número de linfócitos, deve-se a uma diminuição de produção ao nível dos órgãos hematopoiéticos ou uso de drogas.

1.3.3.5. Monócitos

Os monócitos são as maiores células circulantes no sangue periférico, com diâmetro compreendido entre 12 a 20 μm . De núcleo irregular e frequentemente bilobulado. O contorno celular é irregular e o citoplasma pode ter vacúolos. Os monócitos são produzidos mais rapidamente e têm uma sobrevivência maior que os neutrófilos.

Os monócitos geralmente evoluem para macrófagos nos tecidos e não existem na circulação sanguínea, podendo ser visualizados pontualmente células circulantes com as características dos macrófagos e que estão associados a vários processos infecciosos ou inflamatórios – endocardites, tuberculose ou parasitoses. São células maiores que os monócitos e multinucleados ⁽⁹⁾

Uma diminuição do número de monócitos pode dever-se a corticoterapia, stresse e leucemias agudas.

1.3.4. Avaliação das plaquetas

As plaquetas não sendo células propriamente ditas, mas sim fragmentos de citoplasma de megacariócitos medem cerca de 1 a 3 μm de diâmetro. Contêm finos grânulos azurófilos.

No sangue anticoagulado com EDTA normalmente as plaquetas permanecem separadas, no entanto, no sangue nativo tendem a agregar-se.

Segundo Bain (2004) os megacariócitos raramente são vistos no sangue periférico de adultos saudáveis. São libertados pela medula óssea e retidos nos capilares pulmonares. No

entanto uma pequena parte vence a barreira pulmonar podendo ser visualizado microscopicamente no sangue.

Segundo a mesma autora o aumento do número de megacariócitos é maior no sangue de recém-nascidos e lactentes, pós-operatórios, pós parto e indivíduos com infecções, inflamações e síndromes mieloproliferativas.

A principal função das plaquetas é a hemostase e coagulação pois os grânulos que as compõe contem fatores de coagulação que protegem a integridade do endotélio vascular e reparam este último em caso de lesões.

A trombocitose ou aumento de plaquetas deve-se a inflamações crônicas, neoplasias, hemorragias e trombocitemia essencial; já a trombocitopenia deve-se a alcoolismo crônico ou infecções virais.

É muito importante despistar a presença de agregados plaquetários pois conduzem a erros significativos nas contagens. Esta aglutinação pode ser devido à punção efetuada ou ser mediada por uma imunoglobulina.

O satelitismo plaquetário é um fenómeno em que as plaquetas aderem aos neutrófilos, rodeando-os e podem mesmo ser fagocitadas. Não tem, normalmente, significado clínico, no entanto pode provocar falsos positivos para alterações plaquetárias diminuindo o número contabilizado.

1.3.5. Reticulócitos

Correspondem a células na última fase de maturação para eritrócitos, contendo ARN no citoplasma. Estes grânulos de ARN coram com o Azul Brilhante de Cresil . Exposto ao corante, o ARN cora de azul, permitindo distinguir os reticulócitos dos eritrócitos maduros num esfregaço sanguíneo.

Um aumento do seu número em circulação normalmente traduz uma maior atividade da medula no sentido de repor a perda de eritrócitos, ou seja, está normalmente associado a situações de hemorragias ou anemias hemolíticas. São contabilizados no Sysmex por técnicas de fluorescência.

O auto-analisador contabiliza e avalia a morfologia celular de todos os leucócitos, alertando os profissionais para valores fora dos valores de referência e possíveis alterações morfológicas. Cabe ao TSAC experiente interpretar os histogramas e valores e validá-los através de um exame microscópico cuidado do esfregaço sanguíneo referente à amostra.

1.3.6. Velocidade de Sedimentação

A velocidade de sedimentação constitui um método útil, porém, não específico, que funciona como um marcador de resposta inflamatória, bem como para determinar um prognóstico ou monitorizar um tratamento a uma doença. ⁽¹⁰⁾

Desde há alguns anos que os sistemas automáticos têm substituído o tradicional método de Westergreen, diminuindo o tempo necessário para que se processe a sedimentação total dos eritrócitos. Neste método tradicional designamos por velocidade de sedimentação a altura da coluna de plasma, até ao limite de separação com os eritrócitos que estão sedimentados. O resultado é então expresso em mm/h.

Este fenómeno de sedimentação depende de uma serie de variáveis, tais como a composição do plasma, concentração de eritrócitos, bem como o seu tamanho e forma., sendo de difícil interpretação. ⁽⁸⁾ Conforme referi acima, o método de Westergreen tem sido substituído por sistemas automáticos que determinam o parâmetro em 30 minutos, ao contrário dos 60 minutos requeridos pelo método tradicional, devido a um tipo de agitação que o aparelho faz ao tubo com a amostra e que potencia a sedimentação.

No laboratório Arunce tive a oportunidade de executar a determinação deste parâmetro quer com o sistema automático ou VesMatic, quer com o método tradicional, de forma a poder comparar ambos os resultados. Assim, não verifiquei alterações significativas no estudo comparativo dos métodos. Durante o dia a dia o sistema automático é aquele que é escolhido para determinar as amostras, por ser menos demorado e não tao trabalhoso, adquirindo autonomia para o fazer sozinha ao longo do tempo.

1.3.7. Grupos sanguíneos

Os eritrócitos possuem antigénios nas suas membranas, definindo os grupos sanguíneos eritrocitários. São conhecidos cerca de quinze sistemas antigénicos que caracterizam outros grupos eritrocitários e estão presentes simultaneamente no mesmo individuo, no entanto os mais importantes na nossa realidade e mais frequentemente pedidos são os sistemas A,B,O e sistema Rhesus (Rh). ⁽¹⁵⁾ Conforme o nome do sistema indica, este caracteriza-se pela presença dos antigénios à superfície, antigénio A (Grupo A), antigénio B

(Grupo B), antígenos A e B (Grupo AB), ou pela ausência de antígenos (Grupo O), permitindo classificar assim todo o sangue humano.

Conforme os antígenos que as hemácias possuem, o soro contém o anticorpo natural, correspondente ao antígeno ausente das suas células, quando os eritrócitos possuem os dois antígenos, não possuem então qualquer anticorpo, sendo positiva para ambos os anticorpos se for tipo O. No laboratório Arunce determina-se o grupo sanguíneo em sangue colhido em EDTA, recorrendo ao método serológico, com soros anti A e anti B, verificando aglutinações sanguíneas.

Normalmente apenas é necessário determinar entre indivíduos Rh positivos e negativos, exprimindo antígenos D sobre as suas hemácias ou não. Apesar do sistema Rhesus ser um sistema complexo, com vários antígenos é importante sabermos que os indivíduos Rh negativos não têm anticorpos séricos anti-D, mas podem desenvolvê-los após contacto com antígeno Rh, seja por uma transfusão ou até gravidez de uma criança Rh positiva. Uma segunda transfusão pode resultar em hemólise e uma nova gravidez nestas condições pode provocar doenças hemolíticas do Recém-nascido. Apenas em casos muito específicos se torna necessário determinar fenótipos exatos de sistema Rhesus de um doente, como em politransfusionados. ⁽¹⁵⁾

1.3.8. Coagulação sanguínea e hemostase

A manutenção da homeostasia circulatória é conseguida através do equilíbrio alcançado entre hemorragia e trombose. A hemostase, ou inibição de hemorragia através da formação de trombo, obstruindo a lesão na parede endotelial, depende de vários componentes. Segundo Turgeon (2012) os quatro principais componentes são o sistema vascular, as plaquetas, os fatores de coagulação e a fibrinólise. Funcionalmente, correspondem a quatro processos importantes que ocorrem durante a hemostase: o espasmo do vaso lesado; a interação entre o vaso, plaquetas e fatores de coagulação; a formação de um *plug* hemostático; remoção do excesso de material hemostático de modo a restabelecer a integridade vascular. ⁽⁹⁾

De acordo com Ciesla (2007), a coagulação divide-se em dois sistemas: primário, mediado pela ação das plaquetas e pela vasoconstrição; secundário, envolvendo fatores de coagulação e reações enzimáticas. Assim que os fatores se envolvem neste processo é produzida fibrina reforçando assim a formação do coágulo plaquetário até à cicatrização

total. Segundo a mesma autora, através da “cascata” da coagulação é convertido fibrinogénio solúvel em insolúvel, sendo este processo acompanhado pela ação de um poderoso coagulante, a trombina, cujo precursor é a protrombina.

Hemostase Primária – As plaquetas

As plaquetas, já descritas anteriormente, são pequenos fragmentos discoides, sintetizados pela medula óssea, estimulados pela trombopoietina e visíveis na circulação sanguínea. Os seus precursores são os megacariócitos, grandes células (80 a 150µm) e que podem ser encontrados na medula óssea. As plaquetas têm um papel fundamental tanto na formação do *plug* primário bem como na cascata da coagulação. A formação desse coágulo torna-se uma primeira barreira mecânica e existem quatro fases importantes neste processo:

Adesão, onde plaquetas aderem ao colagénio e alteram a sua forma de maneira a aderirem com mais eficácia. Esta agregação é reversível;

Agregação, mediada por agentes químicos levando à agregação de um número cada vez maior de plaquetas;

Libertação, as plaquetas libertam o conteúdo dos seus grânulos densos. Esta fase constitui uma agregação que é irreversível;

Estabilização do *plug*, as reações desta fase são responsáveis pela formação de trombos. As plaquetas libertam fatores V e III de modo a acelerar a cascata de coagulação.

Hemostase secundária – Fatores de coagulação

Esta fase envolve uma serie de reações de proteínas do sangue que funcionam em modelo de cascata e que terminam com a formação do coágulo de fibrina. Este sistema envolve múltiplas enzimas, cofatores, bem como inibidores que mantêm o sistema em equilíbrio. O modelo convencional para explicação da fisiologia da coagulação é conhecido como “cascata” e está representado na seguinte imagem.

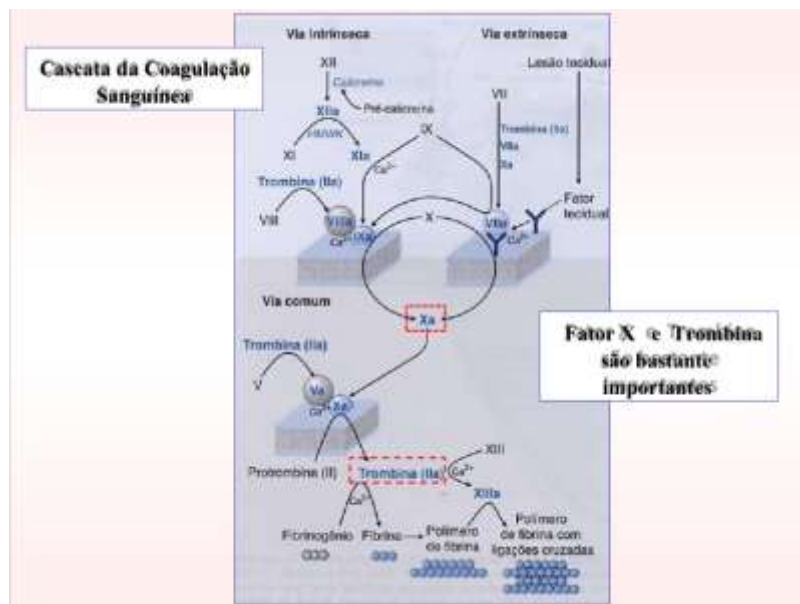


Figura 8. Modelo da Cascata da Coagulação

Fonte: Sítio da Internet

No laboratório Arunce são colhidas amostras com citrato, permitindo assim manter a estabilidade de alguns fatores. É muito importante que se mantenha a proporção adequada de anticoagulante para sangue total de modo a manter a fiabilidade dos resultados. Após a colheita centrifugam-se as amostras a 4000rpm durante 12 minutos após a qual a amostra é analisada no equipamento Stagus^R pelo TSAC. De uma forma geral, no Laboratório Arunce as análises mais pedidas são o Tempo de Protrombina (TP) e Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (aPTT). Tive a oportunidade de fazer as colheitas mais adequadas e de acompanhar e participar na determinação destes parâmetros, tendo posteriormente assistido e participado na interpretação e validação de resultados. Em determinadas situações de resultados muito divergentes da normalidade existe a preocupação do TSAC em contactar o utente em questão para que contacte o seu médico com alguma celeridade.

TP e International Normalised Ratio (INR)

Calcular o TP é muito útil na monitorização e controlo de terapêuticas anticoagulantes orais se estes valores forem associados a valores de INR.

É útil, por si só, no sentido de detetar deficiências de um ou mais fatores de coagulação, nomeadamente fatores I, II, VII e X, característicos da via extrínseca de

coagulação, devido a défices hereditários ou adquiridos, défices de vitamina K, doenças hepáticas entre outros.

O TP representa o tempo que passa entre a adição de tromboplastina tecidual e cálcio ao plasma anticoagulado com citrato até à formação de trombina e fibrina.

O INR é um meio de standardizar os valores de TP na monitorização da terapêutica anticoagulante. Trata-se da razão entre os valores de TP de um doente e os valores normais de referência de acordo com a OMS, independentemente do equipamento e reagentes usados nos laboratórios.

Tempo de tromboplastina parcial ativada – aPTT

Calcular a aPTT é importante para monitorizar terapias com heparina ou despistar determinadas deficiências em fatores de coagulação característicos desta via intrínseca da coagulação. Torna-se importante no sentido de detetar inibidores específicos da coagulação tais como o anticoagulante específico do Lúpus. Este parâmetro visa medir o tempo necessário à formação de trombina e fibrina através desta via de coagulação. ⁽⁸⁾

1.4. Aspetos bioquímicos da Hematologia

1.4.1. Metabolismo do Ferro e anemias

O ferro, segundo Tietz (2001), é um dos mais importantes elementos vestigiais. O seu défice ou desordens no seu metabolismo despoletam um apreciável número de doenças, nomeadamente as anemias.

1.4.1.1. Ferro

O ferro ingerido é normalmente absorvido sob a forma de Fe^{2+} a nível do duodeno e jejuno, ligando-se a substâncias de transporte. Antes de passar para o plasma, este deve ser oxidado pela ceruloplasmina para Fe^{3+} , ligando-se assim, quase na totalidade, à transferrina.

Este parâmetro é determinado no Cobas 6000^R, baseando-se num método colorimétrico em que a intensidade da cor do complexo corado formado corresponde à concentração de ferro sendo determinada fotometricamente.

A determinação deste parâmetro é importante para o diagnóstico e monitorização de anemias microcíticas, macrocíticas e normocíticas, anemias hemolíticas, hemoglobinopatias e alterações da medula óssea.

1.4.1.2. Transferrina

A transferrina é a proteína transportadora do ferro, daí a importância da sua determinação no estudo do metabolismo do mesmo. Quando se verifica deficiência em ferro, o grau de saturação da transferrina é um indicador bastante sensível da depleção funcional deste elemento.

O aumento da transferrina no soro pode indicar uma deficiência em ferro, apontando para uma anemia ferropénica, enquanto níveis séricos diminuídos podem ser devido a danos hepáticos ou inflamações agudas e crónicas. Neste caso, o transporte de ferro fica comprometido levando ao desenvolvimento de anemias.

O seu valor é determinado no Cobas por técnicas imunoturbidimétricas, formando um precipitado/ aglutinação com um antissoro específico que é determinado turbidimetricamente.

1.4.1.3. Ferritina

A principal proteína de armazenamento de ferro no organismo. Os seus níveis séricos refletem com exatidão os níveis de ferro armazenado sendo útil no diagnóstico diferencial de anemias, monitorização de terapêutica e avaliação de reservas em grupos de risco. O teste automatizado realizado no Cobas baseia-se num princípio de aglutinação imunológica, em que a ferritina humana aglutina com partículas de látex revestidas com anticorpos anti-ferritina. O precipitado é então determinado turbidimetricamente a 570nm.

1.4.1.4. Vitamina B12

A vitamina B12 ou cobalamina está presente em alguns alimentos de origem animal e é uma vitamina essencial à síntese de DNA, maturação de eritrócitos e manutenção da bainha de mielina. É armazenada no fígado e libertada conforme as necessidades do organismo, sendo reabsorvida no íleo, após ter-se conjugado com o fator intrínseco

secretado pelas células gástricas. Neste processo são também importantes as transcobalaminas que transportam a vitamina B12 para o sangue e tecidos. ⁽¹⁵⁾

A diminuição nos seus níveis séricos pode ser a causa de anemias megaloblásticas, onde os precursores das hemácias são maiores que o normal e a maturação núcleo/citoplasma é anormal. Uma vez que a diminuição de ácido fólico é também causadora desta patologia é importante a determinação destes parâmetros para um diagnóstico diferencial.

A anemia perniciosa está associada ao déficit de vitamina B12 mas devido à inexistência de Fator intrínseco, impedindo assim a absorção da mesma.

1.4.1.5. Ácido Fólico

Os folatos ou ácido fólico designam uma família de compostos que funcionam como coenzimas na síntese de DNA, RNA e aminoácidos. Aproximadamente 20% dos folatos absorvidos diariamente derivam de fontes alimentares, sendo o resto sintetizado pela flora normal do intestino.

Os défices em folato estão caracteristicamente associados a macrocitose e anemias megaloblásticas, caracterizadas pela maturação anormal das hemácias na medula óssea, com presença de megaloblastos e células com uma menor semivida. Este déficit pode estar associado a ausência da flora normal intestinal, fraca absorção pelo intestino, insuficiente captação da dieta e alguns fármacos. ⁽¹²⁾

1.5. Setores de Bioquímica, Endocrinologia e Imunologia

No laboratório Arunce as áreas de Bioquímica e Endocrinologia estão interligadas e determinam-se par a par, estando este facto relacionado com o uso de um equipamento comum, o Cobas6000^R, bem como a amostra comum, o soro, o que torna desnecessária a separação prévia do soro em alíquotas.

O Cobas6000^R funciona como um auto analisador modular, direcionado para as áreas da bioquímica e da endocrinologia.

Após a realização de colheitas tive a oportunidade de encaminhar as amostras, organizá-las e submetê-las a centrifugação a 4000rpm durante 18 a 20 minutos. Pude, também, fazer aprendizagens na programação do aparelho, apesar da sua complexidade, bem

como participar na sua manutenção e execução de controlos. Assisti à validação analítica de resultados, tarefa ao cuidado dos TSAC.

Neste setor procedem-se também a algumas determinações de Imunologia, reações de aglutinação que são efetuadas no sentido de verificar presença de anticorpo/antígenos no soro como Reação de Waller Rose para a artrite reumatoide, apesar de ser determinado o Fator Reumatóide no Cobas6000^R; Reação de Widal para pesquisa de salmoneloses; Pesquisa de antígenos tumorais no VIDAS^R, entre outros. Procede-se igualmente a Imunohematologia, nomeadamente determinações de grupos sanguíneos e testes de Coombs.

Endocrinologia segundo Tietz (2001) trata-se do estudo da comunicação intracelular e extracelular através de mensageiros designados por hormonas. Atualmente sabe-se que as hormonas são mais do que uma substância química produzida por uma glândula específica e transportada pela corrente sanguínea até um órgão distante onde desencadeia a sua ação. Sabemos que podem ser secretadas por tecidos não glandulares, produzidas em vários locais do organismo e transportadas por outros mecanismos que não o sistema circulatório. Têm funções regulatórias ou de homeostasia, de morfogénese (ex. características sexuais) e uma ação integrativa, no sentido em que operam em associação umas com as outras, bem como com outras estruturas no sentido do corpo humano poder trabalhar como uma orquestra, em consonância.

Bioquímica de acordo com a literatura corresponde à ciência que estuda os processos químicos que ocorrem nos organismos vivos. Estuda a estrutura e função metabólica de componentes celulares como proteínas, enzimas, hidratos de carbono, lípidos entre outros.

1.5.1. Equilíbrio Hidroelectrolítico

A manutenção do equilíbrio hidroelectrolítico é fundamental para a vida de todos os organismos. Nos mamíferos esta manutenção da pressão osmótica e distribuição de água nos vários compartimentos corporais é assegurada pelos quatro eletrólitos mais importantes, sendo eles Sódio (Na^+), Cloreto (Cl^-), Potássio (K^+) e Bicarbonato (HCO_3^-). Para além do seu fundamental papel na homeostasia do indivíduo tem um papel igualmente importante na manutenção de valores de pH, regulação do coração e função muscular e

servem de cofatores às enzimas. É fundamental o estudo destes íões no sentido em que estes tanto podem ser causa ou consequência de uma serie de desordens.

Os ionogramas são determinados por potenciometria no Cobas6000^R, em que um eletrodo seletivo de íões usa as propriedades únicas de materiais membranosos para desenvolver um potencial elétrico de modo a medir íões em solução.

Segundo Tietz (2001) o hiato aniônico foi originalmente descrito como uma regra de controlo de qualidade . Respondendo pela fórmula ($\text{Na}^+ - [\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-]$), um hiato normal corresponde a 12mmol/L em indivíduos saudáveis. Este hiato corresponde normalmente a aniões que não são mensuráveis como proteínas e moléculas de SO_4^{2-} que estão presentes no plasma. Quando os valores do hiato aniônico estão aumentados, normalmente, trata-se de acidoses metabólicas, sendo que este está diminuído em casos de erros na medição do bicarbonato ou natremia, intoxicações de lítio ou hipoalbuminémias.

1.5.5.1. Sódio (Na^+)

A sua pesquisa é importante de modo a verificar o equilíbrio ácido-base e balanço hídrico de um organismo. O Na^+ é um catião extracelular e é responsável por quase metade da osmolalidade do plasma o que explica o seu papel fundamental na manutenção do equilíbrio hídrico e respetiva pressão osmótica nos compartimentos extracelulares. Podemos associar, sucintamente, que a quantidade deste catião presente no organismo é o balanço entre o que ingerimos e o que perdemos. Hiponatremia ou valores de sódio abaixo dos valores de referência pode ser uma consequência previsível para um baixo consumo deste eletrólito ou então consequência de uma grande depleção como acontece em casos de vômitos ou diarreia. Esta hiponatremia pode também corresponder a deficiências em aldosterona e outros mineralocorticoides e pode mesmo manifestar-se desde fraqueza, até convulsões, coma e morte. A hipernatremia está associada a hipercalcémia e hipocaliémia e acontece em doenças hepáticas, falência cardíaca, gravidez e diurese osmótica. Outras causas podem passar por uma diminuição da produção de hormona anti-diurética(ADH) ou uma sensibilidade tubular diminuída. Os sintomas podem incluir sede, confusão, irritabilidade, convulsões, como e morte. ⁽¹²⁾

1.5.1.2. Potássio (K^+)

Trata-se do maior catião intracelular. Quando sofre alterações na sua homeostasia pode provocar consequências nefastas. O seu doseamento é muito importante para avaliar balanço hídrico, arritmias cardíacas, fraquezas musculares, encefalopatias hepáticas e falência renal. Os valores do potássio devem sempre ser monitorizados em determinadas doenças e durante administrações de fluidos que influenciem preenchimentos vasculares.

A hipocaliémia é comum nos estados de desidratação, sejam vômitos e diarreia, alcoolismo e deficiência em ácido fólico, manifestando-se normalmente por fraqueza muscular, irritabilidade e eventuais paralisias. Taquicardias, anomalias elétricas cardíacas visíveis em eletrocardiograma (ECG) são também possíveis. A hiperkaliémia é comum em falências renais, hemólise, doença de Addison, acidoses metabólicas e infusões rápidas endovenosas de Cloreto de Potássio. Normalmente provoca sintomas de confusão mental, fraqueza dos músculos respiratórios, bradicardias e mesmo paragens cardíacas.

1.5.1.3. Cloreto (Cl^-)

Trata-se do maior anião no espaço extracelular. Fisiologicamente, a sua função é manter uma adequada distribuição de água no corpo humano, pressão osmótica e um equilíbrio elétrico nos compartimentos extracelulares.

Pode haver hiperclorémia em desidratações, acidoses tubulares, falência renal aguda, diabetes insipida ou excesso de ingestão de sal. Este está diminuído, relativamente aos valores de referência, em casos de acidose respiratória crónica, alcalose metabólica, insuficiências cardíacas congestivas, aldosteronismo ou condições associadas a um aumento do volume dos fluidos extracelulares. Num indivíduo normal o Cl^- tem poucas variações, exceto um ligeiro decréscimo após as refeições devido ao papel que tem na produção de sucos gástricos.

1.5.1.4. Cálcio (Ca^{2+})

O cálcio total corresponde a 2% do peso corporal de um adulto. Deste, 99% está presente nos ossos sob a forma de hidroxapatite e apenas 1% é extra ósseo.

O cálcio afeta a contratilidade do coração e musculatura no geral sendo essencial para o funcionamento do sistema nervoso. É também fundamental para os processos de

hemostase e mineralização do osso. A monitorização do cálcio total é importante para o diagnóstico de uma série de desordens, bem como desordens proteicas, de vitamina D, doenças ósseas, renais, da paratiroide e trato gastro intestinal.

Cerca de 50% do cálcio total encontra-se na sua forma fisiologicamente ativa ou seja, ionizado. ⁽¹²⁾

1.5.2. Metabolismo dos lípidos

Os lípidos, de acordo com Tietz (2001), têm um papel fundamental na vida biológica do individuo, funcionando tanto como hormonas ou seus precursores, colaborando com o sistema digestivo, providenciando armazenamento energético e reservas metabólicas, componentes estruturais e funcionais de biomembranas e atuando no sentido de manter a temperatura corporal.

Foi durante as últimas décadas que se estabeleceram definitivamente as relações entre lípidos plasmáticos, lipoproteínas e aterosclerose resultando assim no desenvolvimento de inúmeros programas de saúde publica que visam detetar, avaliar e tratar indivíduos com desordens lipídicas.

Os lípidos de uma forma geral são solúveis em solventes orgânicos e praticamente insolúveis em água. No entanto, estruturalmente ligam-se a outros componentes conferindo-lhes propriedades diferentes como por exemplo a afinidade não só para solventes como para a água. Este jogo de afinidades é importante na formação de membranas biológicas.

De acordo com a sua estrutura química os lípidos podem ser divididos em cinco grupos dos quais destaco apenas dois, sendo os mais relevantes para este trabalho. Os esteróis – Colesterol total, HDL e LDL – e os ésteres glicericóis – Triglicerídeos. ⁽¹³⁾

1.5.2.1. Colesterol total (Ct)

Um esteroide sintetizado principalmente no fígado e na parede intestinal. Cerca de 75% é sintetizado de novo enquanto 25% é originário da nossa dieta. Cerca de 50 a 75% do colesterol plasmático é transportado por Lipoproteínas de Baixa Densidade (LDL) e uma outra parte é transportado por Lipoproteínas de Alta Densidade (HDL).A determinação do colesterol total funciona como um marcador de risco cardiovascular, no entanto é redutor

avaliar este parâmetro sem ter em conta o índice entre os valores de colesterol LDL e HDL, que definem um índice aterogénico.

Este parâmetro é determinado no Cobas6000^R através de técnicas colorimétricas, cujo composto tem um pico de absorvância aos 540nm e deve ter-se em conta que as amostras que se apresentam lipémicas a “olho nu”, nomeadamente quando apresentam um soro leitoso, podem falsear resultados pois interferem com as técnicas utilizadas pelo que cabe ao TSAC tomar uma decisão face aos resultados obtidos.

1.5.2.2. Colesterol HDL

Secretados pelo fígado ou intestino como partículas que se constituem por fosfolípidos e apoA1. O colesterol é esterificado pela ação da LCAT – enzima lecitina colesterol aciltransferase – e o tamanho da partícula depende dos ésteres acumulados e da atividade enzimática. O colesterol HDL é recolhido dos tecidos e volta a ser “entregue” ao fígado e outros locais através de alguns mecanismos específicos. ⁽¹³⁾ Esta “devolução” de colesterol aos tecidos após a qual vai ser reutilizado, convertido em sais biliares ou metabolizado novamente denomina-se de mecanismo reverso do transporte de colesterol e permitiu que estas moléculas de colesterol HDL sejam conhecidas, no senso comum, por colesterol “bom”.

Quando existem valores de colesterol HDL que são considerados como desejáveis pode considerar-se que o individuo tem um baixo risco cardiovascular, sendo este parâmetro considerado como tendo um efeito protetor do organismo. Quando os valores obtidos não correspondem aos valores de referência, pode inferir-se um maior risco cardiovascular.

1.5.1.3. Colesterol LDL

Estas lipoproteínas de baixa densidade são muito ricas em ésteres de colesterol e contêm apoB100 como a sua principal apolipoproteína, transportando e depositando assim o colesterol para os tecidos que têm recetores para esta apolipoproteína. Estes recetores ajudam e incrementam ainda mais o *uptake* de colesterol pelos tecidos.

Valores elevados estão associados a um aumento do risco de desenvolver doença cardíaca, nomeadamente aterosclerose coronária. ⁽¹⁴⁾

1.5.1.4. Triglicéridos

Ésteres do glicerol, os triglicerídeos podem ter uma origem endógena, sintetizadas pelo fígado e exógena, através da ingestão de gorduras alimentares.

O método mais frequentemente usado consiste em hidrólises enzimáticas através de lípases e esterases, seguida do doseamento do glicerol libertado através de técnicas colorimétricas. É importante que o utente apresente um jejum de 14 horas.

Importante na determinação de hipertrigliceridémias primárias, no entanto, no Arunce o mais frequente é que a determinação de triglicerídeos seja mais útil ao nível da avaliação de risco cardiovascular, associada com os valores de colesterol.

1.5.3. Risco cardiovascular

A maior causa de doença cardiovascular, segundo Tietz (2001) é a aterosclerose. Trata-se de um processo que forma placa ou ateroma em grandes e médios vasos, não comprometendo o lúmen do vaso numa fase inicial, no entanto, há medida que o tempo passa este ateroma acumula estreitando muitas vezes o lúmen. Esta placa é composta por lípidos, fragmentos celulares, células musculares lisas, colagénio e muitas vezes cálcio. Conforme já referido anteriormente, valores elevados de colesterol e triglicéridos participam silenciosamente na formação de ateroma que segundo o autor, pensa tratar-se de uma determinada resposta inflamatória a lesões do endotélio vascular. Fatores como a idade, sexo masculino, herança genética, tabagismo, diabetes e hipertensão, hiperlipidémias e homocisteína elevada no plasma são incrementadoras deste risco cardiovascular. Existe igualmente associação com valores elevados de PCR – Proteína C reativa – devido aos processos inflamatórios que estão na base da doença e que alteram os valores deste parâmetro.

Durante o estágio e voltando a referir o fato de que o laboratório Arunce processa acima de tudo análises de rotina, e não só, requeridas por médicos de Medicina Geral e Familiar, tendo por isso uma grande vertente profilática e pedagógica junto do utente, é importante referir a importância do nosso papel no sentido de promover alteração de hábitos na população. Tive a oportunidade, durante as colheitas, de ter um papel pró-ativo no sentido de alertar os utentes para fatores preventivos da aterosclerose, nomeadamente, a importância de fazerem análises com regularidade, controlarem glicémias, parar/diminuir

tabagismo e bebidas alcoólicas, importância do exercício físico tendo em vista o aumento do colesterol HDL e a vantagem de perderem algum peso e diminuir excessos alimentares.

1.5.3.1. Creatina Cinase (CK)

A creatina quinase ou fosfoquinase (CK) segundo René ⁽¹⁵⁾, catalisa no músculo, a transferência de um grupo fosfato da creatina fosfato para o ADP, permitindo reconstituir reservas de ATP. É muito abundante a nível muscular, seja esquelético ou cardíaco, e no cérebro. A molécula de CK é um dímero cujas subunidades M (muscular), B (cérebro) originam três isoenzimas: CK-MM (musculo esquelética), CK-BB (cerebral) e CK-MB (miocárdio).

São doseadas através de técnicas colorimétricas de uma forma geral e devem evitar-se amostras hemolisadas que devido à libertação de ATP, falseiam o doseamento. É um parâmetro não muito específico e que pode aparecer alterado até pela simples prática do exercício físico (desgaste muscular), no entanto, em casos de enfarte agudo do miocárdio é importante no seu diagnóstico, aparecendo marcada e precocemente em 95% dos casos. Nestes casos deve ser pedida preferencialmente a CK-MB, de modo a que esta seja um pouco mais específica. ⁽¹⁵⁾

1.5.3.2. Proteína C reativa ou PCR

Esta proteína é uma das moléculas mais reativas em fase aguda, aumentando os seus níveis no plasma imediatamente a seguir a traumas severos, infeções bacterianas, inflamações, cirurgia ou proliferações neoplásicas, sendo importante no sentido de monitorizar alguma destas situações, principalmente no rastreio de eventos cardiovasculares e campanhas preventivas. ⁽¹⁵⁾

Existem alguns marcadores que são bons indicadores do risco de lesões miocárdicas, como a homocisteína e troponinas, no entanto não são pedidas com muita frequência, pelos clínicos locais.

1.5.4. Metabolismo dos hidratos de carbono

A glicose é a principal fonte de energia do corpo humano. Após ser absorvida, o seu metabolismo resulta em produção de energia, armazenamento como glicogénio a nível do fígado ou triglicerídeos no tecido adiposo e dá-se a conversão em ácidos cetónicos, aminoácidos e proteínas. ⁽¹³⁾

Conforme sabemos é impossível dissociar este metabolismo do metabolismo lipídico ou proteico, devendo os parâmetros ser analisados tendo em conta todos os outros que são pertinentes. Vou, no entanto, abordar neste capítulo, os dois parâmetros mais específicos deste metabolismo e que são pedidos com grande frequência no laboratório Arunce: a Glicemia, Glicosúria e a Hemoglobina Glicosilada ou HbA1C.

1.5.4.1. Glicemia

A concentração de glicemia é regulada por um complexo número de vias metabólicas e mediada por uma série de hormonas. Nomeadamente, a glicogénese é o nome atribuído à conversão de glicose em glicogénio, o polissacarídeo mais importante que fica armazenado no nosso fígado e músculos. O processo inverso, ou seja, a transformação de glicogénio em glicose, nomeadamente, quando existem situações de hipoglicémia ou jejuns prolongados, é denominada de glicogenólise. Quando os jejuns são extremamente prolongados apenas a gluconeogénese consegue produzir a glicose em falta, ou seja produz glicose a partir de outros compostos como aminoácidos, glicerol e lactatos. A glicose pode ainda ser convertida em lactatos e piruvatos, água e dióxido de carbono pelo ciclo de Krebs e ATP pelas mitocôndrias.

Se não existirem variações demasiado grandes na necessidade de glicose pelo indivíduo, a sua glicémia consegue ser mantida dentro de um intervalo de valores estreito e estável, devido a um leque de hormonas que têm esta função, nomeadamente a insulina, que diminui a glicemia no sangue e as hormonas contraregulatórias, como o glucagon, a epinefrina, cortisol e hormona do crescimento que aumentam a glicose na corrente sanguínea. Estas hormonas, com ações opostas às da insulina, são catabólicas e aumentam a produção hepática de glicose, inicialmente por promoverem a glicogenólise e mais tarde por estimularem nova produção de glicose, através da gluconeogénese. Esta ação, mais imediata é promovida pelo glucagon e epinefrina, enquanto o cortisol e hormona do crescimento

acumam mais tardiamente, permitindo a mobilização de mais glicose e reduzindo o uso de glicose pelo organismo. ⁽¹²⁾

Um indivíduo com valores de glicemia normais, deve-o também à capacidade do pâncreas para secretar insulina, à capacidade desta de promover o *uptake* de glicose pelos tecidos e à capacidade da insulina em suprimir a produção de glicose no fígado.

A doença relativa a este metabolismo com maior prevalência é a Diabetes Mellitus, constituindo-se como um grupo de anomalias metabólicas nas quais a glicose não é utilizada, conduzindo a situações de hiperglicemia. Com o desenvolvimento da doença, o indivíduo tem um risco aumentado de desenvolver complicações como retinopatias, falências renais, neuropatias e aterosclerose, entre outras.

Segundo a Direção Geral de Saúde (DGS), em norma emitida em Janeiro 2011, diagnostica-se a diabetes se o indivíduo apresentar um de quatro fatores :

- i. Glicemia em jejum superior a 126mg/dl;
- ii. Sintomatologia e glicemia ocasional superior a 200mg/dl;
- iii. Glicemia superior a 200mg/dl às 2horas na Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO) com 75gr glicose;
- iv. HbA1c superior a 6,5%.

Considera-se ainda o diagnóstico de hiperglicemia intermédia ou risco aumentado para diabetes se fatores i e iii se verificarem, com valores de, respetivamente, ≥ 110 mg/dl e < 126 mg/dl e ≥ 140 mg/dl e < 200 mg/dl.

Segundo a mesma entidade a diabetes tipo 2 é a forma mais frequente de diabetes resultando de uma exposição crónica das células à glicose em excesso, provocando uma insulinopenia relativa com maior ou menor grau de insulinorresistência. Corresponde a 90% dos casos e está também associada a dislipidémias, hipertensão e obesidade. A diabetes tipo I resulta da destruição de células Beta dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, com insulinopenia absoluta, passando a ser necessária a administração desta para sobrevivência. Normalmente deve-se a mecanismos autoimunes, ou então é idiopática.

A glicemia é determinada no Cobas6000^R, baseando-se num método enzimático que consiste na medição a 340nm de formação de 6-fosfogluconato a partir da glicose e esperam-se valores entre os 75 e os 110mg/dl.

A PTGO tem como objetivo a avaliação da metabolização da glicose e neste laboratório realiza-se com frequência no despiste da Diabetes Mellitus gestacional em

grávidas ou Diabetes Mellitus em utentes com valores de glicemia altos em jejum. A prova consiste na determinação da glicémia em jejum, seguida da ingestão de 75gr de glicose oral, realizando-se novas determinações da glicémia 1 hora e 2 horas após a ingestão.

Podem verificar-se casos de hipoglicemias acentuadas, sendo considerada situação de emergência pois valores de glicose abaixo dos 40-50mg/dl podem causar distúrbios ao nível do sistema nervoso central, uma vez que o nosso cérebro utiliza a glicose como principal fonte de energia. Os sintomas de hipoglicémia, segundo Tietz (2001) variam de acordo com o individuo, no entanto, podem incluir tremores, suores, náusea, taquicardia, fome e desconforto epigástrico.

1.5.4.2. Glicosúria

Quando a glicemia excede a capacidade de reabsorção de glicose nos túbulos renais, o excesso ao invés de ser novamente reabsorvido, é excretado pelos rins, aparecendo na urina.

Quando há glicosúria o TSAC deve confirmar os valores de glicemia do utente, caso tenha efetuado esse parâmetro e se este estiver aumentado, a causa provável é Diabetes Mellitus. Se por outro lado a glicémia estiver normal, pode haver alterações nos mecanismos de reabsorção a nível tubular, remetendo para uma disfunção renal, que deve ser investigada.

1.5.4.3. Hemoglobina A1c (HbA1c)

Esta determinação apesar de ser considerado um parâmetro bioquímico é realizada em amostras anticoaguladas com EDTA como outras determinações hematológicas. É determinada com a ajuda de um equipamento automático, nomeadamente o Arkray Adams A1c HÁ-8160^R

A determinação deste parâmetro, segundo Tietz (2001), permite a monitorização a longo-termo dos valores da glicemia num individuo com diabetes Mellitus. Providencia um índice retrospectivo dos valores da glicose plasmática ao longo do tempo e sem a interferência das flutuações a que este parâmetro se encontra sujeito se determinado pontualmente. Não invalida uma determinação frequente dos valores de glicemia, mesmo realizados pelo utente, mas torna-se um complemento indispensável para o controlo da

doença, sendo também, por si só, já considerado como requisito para diagnóstico da doença.⁽¹²⁾

Para Caquet(2004) durante os 120 dias de vida média de um eritrócito, a hemoglobina fixa a glicose de forma irreversível. Esta glicação realiza-se proporcionalmente aos períodos de hiperglicemia, assim as hemoglobinas glicadas são tanto maiores quanto mais frequentes tenham sido os períodos de hiperglicemia durante os últimos meses.⁽¹⁵⁾

O equipamento automatizado utiliza uma técnica de cromatografia, por troca de iões, no entanto, qualquer que seja a técnica utilizada as hemoglobinas anormais podem interferir e gerar erros. É de salientar também que quando há diminuição da vida dos eritrócitos por qualquer razão diminui a taxa de hemoglobina glicada.

Num diabético, conforme já referido, o doseamento de HbA1c constitui um bom critério de equilíbrio da doença, sendo o objetivo ficar o mais próximo possível do valor de referência para um adulto normal, abaixo de 6%.

1.5.5. Função renal

Os rins têm um papel crucial nos mecanismos homeostáticos do corpo humano, sendo que uma função renal diminuída está associada a um aumento da morbidade e mortalidade.

As suas funções principais são de excreção (ureia, creatinina, ácido úrico), regulação e função endócrina. Ao produzir e excretar urina permite ao corpo humano descartar os produtos do variados metabolismos e o excesso de substâncias inorgânicas que ingerimos. Os mecanismos de reabsorção e secreção ao longo dos túbulos são os eretores da regulação. Estes mecanismos operam de acordo com um complexo sistema do qual fazem parte fatores extra e intra renais. Relativamente à sua função endócrina, os rins sintetizam hormonas como a eritropoietina, renina, prostaglandinas, tromboxanos e vitamina D e são alvo de algumas que são produzidas noutros locais, são ainda o local de degradação de algumas hormonas como a insulina e a aldosterona.⁽¹²⁾

As lesões renais podem ocorrer ao nível glomerular ou tubular, deste modo as alterações glomerulares podem ser determinadas avaliando a capacidade de filtração e síntese do rim, podendo normalmente avaliar-se parâmetros como a creatinina e clearance, ureia, ácido úrico, microalbuminúria e proteinúria; as alterações tubulares podem ser

detetadas pela sumária de urina ou urina tipo II, pela determinação da sua densidade e glicosúria.

As determinações bioquímicas, tanto de rotina como mais específicas são fundamentais como ferramentas de diagnóstico. No laboratório Arunce processamos acima de tudo parâmetros de rotina, que passo a descrever mais detalhadamente.

1.5.5.1. Creatinina e Clearance

A creatinina é um catabolito da creatina e creatina fosfato, ao nível do metabolismo muscular, sendo exclusivamente eliminada pelo rim por filtração glomerular, não sendo reabsorvida pelos túbulos durante o processo. Pode refletir no indivíduo a sua massa muscular global, e a sua velocidade de produção e eliminação é normalmente constante em condições fisiológicas estáveis devido à correlação que existe entre a sua concentração no plasma e o débito de filtração glomerular, logo, a creatinina é considerada uma das melhores substâncias endógenas na avaliação da clearance do rim ou taxa de filtração glomerular. ⁽¹⁵⁾

Segundo a literatura, a clearance da creatinina e a GFR (taxa de filtração glomerular) não podem ser interpretadas através de um valor isolado de creatinina plasmática, uma vez que a idade, o sexo ou a raça podem provocar flutuações na produção deste catabolito, ⁽¹²⁾ sendo para isso importante testar a clearance com outro composto, como por exemplo a inulina, que apesar de ser exógeno é totalmente filtrado pelo rim ou com valores de creatinúria, sendo que a clearance da creatinina como marcador de GFR obtêm-se pela seguinte fórmula:

Clearance(ml/min)= [creatinúria(mg/dl)/creatinémia(mg/dl)]x Volume urina (ml/min), avaliando-se assim a velocidade à qual uma substância é excretada pelo rim comparando com a sua concentração no plasma.

Este parâmetro é essencial para, em conjunto com outras determinações, o tratamento e monitorização de falências renais agudas ou crónicas, monitorização terapêutica, monitorização de transplantes renais e usada para cálculo de GFR. ⁽¹²⁾

É normalmente detetada por cromatografia líquida de alta diferenciação, após colheita em tubo de gel.

1.5.5.2. Ureia

Produto final da degradação de proteínas e aminoácidos. A amônia formada durante este processo catabólico de desaminação proteica é transformada em ureia no fígado, no chamado ciclo da ureia. Em pouca quantidade a ureia não é tóxica e é excretada pelo rim, não sendo tão importante na determinação de GFR pois esta depende da dieta e débito urinário do indivíduo. A sua determinação torna-se importante se avaliada juntamente com outros parâmetros, nomeadamente na monitorização de insuficiências renais e outras patologias renais. ⁽¹²⁾

1.5.5.3. Ácido úrico

O ácido úrico é um produto final do metabolismo das purinas, estas, compostos vitais dos ácidos nucleicos e coenzimas, podem ser sintetizadas ou ingeridas na dieta através de alimentos ricos em material nucleico como fígados. Apesar da maior parte ser excretada pela urina, o remanescente é secretado para o trato gastro intestinal onde acaba por ser degradado.

As principais causas de hiperuricemia são um aumento da síntese de purinas, desordens de ordem metabólica, excesso de ingestão de alimentos ricos em purinas, malignidades, fármacos citotóxicos ou então estar a sua eliminação diminuída, devido a falências renais. A hipouricemia é já uma condição pouco frequente, sendo secundário a doenças hepatocelulares severas ou sobredosagem de alopurinol no tratamento da hiperuricemia. ⁽¹²⁾

1.5.5.4. Proteinúria

A presença de proteínas do plasma na urina tem um grande valor semiológico, no sentido em que é de bastante utilidade no diagnóstico de alterações renais importantes.

Mesmo quando a proteinúria, especificamente, não é requisitada esta é determinada no Arkray^R Aution Max Ax4280, quando se processa uma Sumária de Urina, através das suas tiras reativas impregnadas em azul de bromofenol o aparelho faz uma pesquisa qualitativa de proteínas. Esta técnica é no entanto susceptível de emitir falsos positivos e negativos, por exemplo, respetivamente, quando a urina é muito alcalina e quando a tira não deteta cadeias leves de imunoglobulinas (Bence-Jones). Quando é requisitada a determinação do parâmetro

Proteinúria, este é determinado numa amostra de urina de 24 horas, sendo realizado o doseamento da proteinúria no Cobas6000^R através de técnicas de nefelometria e expressos os resultados em mg/24 horas de modo a eliminar os erros ligados à concentração ou diluição da urina.⁽¹⁵⁾

Segundo o mesmo autor, Caquet (2004), existe uma proteinúria dita fisiológica que nunca excede os 100mg em 24 horas e comporta cerca de 30% albumina e 70% de globulinas séricas e glicoproteínas tubulares como a Tamm-Horfsall. Podem ocorrer proteinúrias intermitentes, nomeadamente relacionadas com estados febris, esforço físico ou ortostáticas, sendo importante este despiste. As proteinúrias permanentes traduzem lesões do parênquima renal, refletindo lesões glomerulares ou tubulares podendo ajudar no diagnóstico se houver leucocitúrias ou hematúrias.

As proteinúrias glomerulares caracterizam-se normalmente por abundância em proteínas, proteinúria superior a 3g em 24 horas e normalmente acompanhada de hipoalbuminemia. As tubulares caracterizam-se pela presença de proteínas de baixo peso molecular, como a beta-2-microglobulina ou cadeias leves de imunoglobulinas.⁽¹⁵⁾

1.5.5.5. Albumina de Baixa Concentração

Efetuada a partir das recolhas de urina de 24 horas, esta determinação é realizada no Cobas6000^R, tendo por base uma reação imunoquímica, em que a albumina reage com anticorpos específicos formando um complexo que emite um feixe de luz cuja intensidade é medida. A presença de pequenas quantidades de albumina na urina, inferiores ao considerado proteinúria (300mg/min) mas superiores às da proteinúria fisiológica (30gr/min), torna-se um bom marcador de nefropatia precoce, muito importante nos indivíduos com Diabetes Mellitus.⁽¹⁵⁾

Podem ocorrer pequenos aumentos associados a infeções do trato urinário (ITU), exercício físico, menstruação e febres, daí que um primeiro resultado positivo deva ser sempre confirmado.

1.5.5.6. Densidade

A densidade constituiu um índice da concentração dos componentes da urina, dependendo do número de partículas mas também do peso das mesmas. Este parâmetro é

usado para medir o poder de concentração e diluição do rim o que valida o seu esforço em manter a homeostasia do organismo. A capacidade de concentração do rim é uma das primeiras capacidades que se perdem como consequência de lesões tubulares. A densidade normal situa-se entre os 1,010 e 1,025mOsm/Kg podendo atingir os 1,003 e 1,035 consoante o estado de hidratação do indivíduo e tendo em conta que a densidade da água é 1.000. Como a densidade varia ao longo do dia – se não houver variação da densidade significa que o rim perdeu a sua capacidade de concentrar/diluir - está em falência – é importante que se faça a mesma determinação em mais do que uma amostra.

Como a densidade é afetada pela presença de moléculas de elevado peso, tais como proteínas ou glicose, alguns autores defendem que deve fazer-se um ajuste ou correção de resultados ou então não os validar pois uma densidade aumentada a par com glicosúria e proteinúria, não permitem ter noção de os mecanismos de concentração/diluição funcionarem corretamente. ⁽⁴⁾

1.5.6. Função hepática

O fígado protagoniza uma série de ações baseadas nas suas funções que são essenciais à vida humana. Ele recebe, processa e armazena aminoácidos, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas e minerais. Sintetiza albumina, alfa e beta globulinas, fatores de coagulação e desintoxica o organismo de compostos tóxicos exógenos como drogas ou outros tóxicos.

Uma outra função vital do organismo é a conjugação da bilirrubina com o ácido glucorónico, ficando esta apta a ser excretada para a biliar. Sintetiza também ácidos biliares a partir de colesterol, regulando assim o metabolismo do colesterol e facilitando a absorção da nossa ingestão lipídica diária.

Estas funções do fígado, nomeadamente de excreção, produção de enzimas e síntese podem ser monitorizadas através de determinações laboratoriais, respetivamente, Bilirrubina, Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST), Gamaglutamil Transferase (GGT), Fosfatase alcalina (FA), Proteínas totais e Albumina.

1.5.6.1. Bilirrubina

Pigmento oriundo da destruição da hemoglobina no citoplasma de macrófagos. Uma vez que é insolúvel no plasma esta é transportada até ao fígado, ligada à albumina onde é

conjugada e excretada via vias biliares. Faz-se o doseamento da bilirrubina no Cobas6000^R, através de métodos colorimétricos, em que a intensidade da cor do corante vermelho formado é diretamente proporcional à bilirrubina total, sendo determinada fotometricamente. Existe alguma bilirrubinemia normal devido a hemólise fisiológica, sendo bilirrubina livre. A bilirrubina que está na forma conjugada é inteiramente eliminada pela biliar tendo valores séricos praticamente nulos.⁽¹⁵⁾

Os doseamentos de bilirrubina total são úteis no sentido de diagnosticar e tratar não só patologias hepáticas mas também patologias de ordem hematológica e metabólica, incluindo anemias hemolíticas e patologias da vesícula biliar.

A hiperbilirrubinemia confere ao indivíduo uma cor amarelada denominada de icterícia, sendo que este parâmetro permite a monitorização desta condição de doença, sendo importante diferenciar se é bilirrubina livre ou conjugada de modo a definir a causa. Segundo Caquet (2004) a hiperbilirrubinemia diz-se não conjugada se for constituída por cerca de 80% de bilirrubina livre e pode ser devida a uma produção excessiva de bilirrubina quer devido a hemólises hereditárias ou adquiridas, talassémias, reabsorção de hematomas volumosos, entre outros, quer devido a um defeito no processo de conjugação, denominado de doença de Gilbert, cuja característica é o déficit de glicuronil-transferase e traduzindo-se numa icterícia crónica mas benigna.⁽¹⁵⁾

A hiperbilirrubinemia diz-se conjugada se a maior parte da bilirrubina for conjugada ou direta e se houver bilirrubinúria, pois apenas esta é filtrada pelo glomérulo renal. Normalmente está associada a colestase, que pode ser extra hepática – neoplasia do pâncreas, vias biliares ou litíase – ou intra hepática – hepatites virais ou alcoólicas, colestases medicamentosas ou cirroses biliares primárias.⁽¹⁵⁾

1.5.6.2. Alanina Aminotransferase e Aspartato Aminotransferase (ALT e AST)

Estas aminotransferases catalisam a transferência do grupo amina de um aminoácido para um ácido alfa-cetónico daí a sua denominação. Passam para o soro em casos de hemólise hepática ou muscular. A ALT tem as suas atividades principalmente no fígado enquanto a AST, para além do fígado, pode também ser encontrada no coração, músculo esquelético e rins. Normalmente verifica-se um maior aumento de ALT face aos valores de AST, exceto em situações muito pontuais, como hepatite alcoólica. No entanto existe um aumento de ambas e este está intimamente relacionado, sendo usado para monitorização e

diagnóstico de doença hepática, nomeadamente ao nível do parênquima hepático, como hepatites (FA e GGT estarão também muito aumentadas), cirroses, hepatocarcinomas. Nos casos de patologias que provocam maiores alterações nas outras duas enzimas, FA e GGT, as transaminases encontram-se igualmente elevadas mas não em tão grandes proporções como nestas doenças do parênquima hepático.⁽¹⁵⁾

1.5.6.3. Gamaglutamil Transferase (GGT)

Esta glicoproteína membranar catalisa a transferência de resíduos gama-glutamil do glutatião para recetores peptídicos. Encontra-se nos rins, pâncreas, baço, intestino e em menor quantidade no fígado e cérebro. O álcool estimula a sua síntese, daí o seu doseamento ser tao importante no diagnóstico de doenças por ele provocadas, como a cirrose alcoólica. Segundo o autor, Caquet (2004), ainda que a presença da enzima no plasma seja à partida por causas hepáticas, o seu aumento não é específico apenas das doenças hépato-biliares. A amostra é processada no Cobas6000^R a partir de métodos colorimétricos.

O seu aumento está associado a obstruções biliares extra-hepáticas, sendo a enzima mais sensível à colestase, estando também elevada em carcinomas hepáticos e metástases. É um marcador de consumo de álcool excessivo, permitindo monitorizar regimes sem álcool e respetivas recaídas. Medicamentos indutores enzimáticos como os antiepiléticos, antidepressivos, hipnóticos ou rifampicina provocam também um aumento significativo desta enzima, sendo importante controla-los para que se mantenham estáveis para que não seja necessária a interrupção da medicação.⁽¹⁵⁾

1.5.6.4. Fosfatase Alcalina (FA)

Esta monosterase hidrolisa os ésteres fosfóricos orgânicos em pH ótimo de 8,5 e encontra-se em órgãos como os rins, fígado, ossos, pulmões, placenta e glóbulos vermelhos. No entanto, as isoenzimas de origem hepática e óssea representam cerca de 80% da sua atividade. É importante referir que a hemólise da amostra pode falsear os resultados devido às fosfatasas alcalinas eritrocitárias que são libertadas.

Fisiologicamente, as taxas mais elevadas encontram-se nas crianças devido ao crescimento ósseo e nas grávidas devido ao aparecimento de AP na placenta. Medicação como cefalosporinas e beta-bloqueantes podem induzir um aumento desta enzima.

A elevação da AP é um bom marcador de colestase, quer seja intra ou extra hepática, apresentando maiores valores para causas extra hepáticas, sendo nestes casos acompanhada de um aumento da GGT, o que não acontece se o aumento for devido a uma doença óssea. Pode também ser acompanhada por um aumento ligeiro de ALT e AST. ⁽¹⁵⁾

1.5.6.5. Proteínas totais e Albumina

O fígado sintetiza cerca de 90% das proteínas séricas, havendo diminuição das mesmas quando há uma lesão neste órgão.

As proteínas totais só alteram em insuficiências hepáticas graves e podem ser determinadas através da metodologia da reação ao biureto, na qual são expostas ao ião cobre que reage com as ligações peptídicas da proteína em meio alcalino, formando um complexo que tem o seu pico de absorvância aos 540nm. ⁽¹³⁾

A albumina é a proteína que circula em maior quantidade no plasma, sintetizada exclusivamente pelo fígado e a sua função é transportar moléculas para outros locais do organismo como cálcio, ácidos gordos, hormonas ou fármacos, sendo também importante na manutenção da homeostasia do organismo. ⁽¹³⁾

No laboratório Arunce realiza-se também a Eletroforese de Proteínas, útil na avaliação de doença, uma vez que as alterações no perfil de cada proteína orientam para uma determinada doença. No perfil de um adulto normal existe um pico que corresponde à albumina; se esse pico ocorrer nas frações gama e beta pode ser sugestivo de cirrose e um pico que “una” as frações gama e beta pode ser sugestivo de infeções crónicas.

1.5.7. Função Pancreática

O pâncreas é um órgão essencial à digestão, produzindo diversas enzimas digestivas que são conduzidas para o intestino atuando na metabolização dos alimentos e sua absorção – Função exócrina. Produz também nos Ilhéus de Langerhans hormonas como a insulina, glucagon e somatostatina – Função endócrina.

A avaliação da função pancreática exócrina conta com vários testes, de entre os quais exame microscópico de fezes, determinação de produtos de digestão e determinação de enzimas e outros parâmetros analíticos no soro. Neste contexto, a determinação de amilase e lipase são os mais requisitados pelos clínicos.

1.5.7.1. Amilase

As amilases são um grupo de hidrólases que degradam hidratos de carbono complexos. Estas são produzidas pelo pâncreas exócrino e secretadas no intestino. São também produzidas pelas glândulas salivares, fígado e ovários. Um aumento do seu valor está essencialmente relacionado com pancreatite aguda mas pode ser originado por outras doenças, uma vez que é produzida por diversos órgãos, pelo que não é um indicador específico da função hepática, devendo sempre ser associada a outros parâmetros. Através de técnicas específicas é possível diferenciar as isoenzimas pancreática e salivar.

É determinada pelo Cobas através de métodos colorimétricos enzimáticos, sendo a intensidade da cor do produto final da reação diretamente proporcional à atividade da amilase.

1.5.7.2. Lipase

O pâncreas é a principal fonte desta enzima pelo que é mais específica no diagnóstico de doenças deste órgão permitindo, então, diferenciar se uma hiperamilasemia é pancreática ou salivar. Nas pancreatites eleva-se de forma igual à amilase, no entanto, permanece elevada durante mais tempo. Por esta razão ambas as enzimas se complementam num correto diagnóstico.⁽¹²⁾

Este parâmetro é determinado no Cobas6000 através de métodos colorimétricos enzimáticos em que a intensidade da cor do corante formado é diretamente proporcional à atividade da lipase, podendo ser determinada fotometricamente.

PARTE IV

I. Fase Pós-Analítica

Consideram-se na fase pós-analítica todos os procedimentos e atividades que se seguem ao ato analítico. Inclui a revisão sistemática, interpretação de informação de acordo com o utente em questão, transmissão da mesma e comunicação com o clínico ou utente no caso de alterações importantes nos parâmetros e armazenamento/eliminação de amostras de acordo com a política do laboratório.

De acordo com a literatura, para que haja um sistema de qualidade num laboratório, este deve contar com todos os meios e processos que garantam que cada resultado é interpretado de acordo com o utente em questão, que haja um documento/relatório de resultados que seja perceptível, útil e verdadeiro, que haja um adequado registo e arquivo de amostras e de documentos de modo a melhorar a rastreabilidade e que este esteja acessível para que se consiga uma consulta fácil e eficaz. ⁽¹⁶⁾

No laboratório Arunce todos colaboram para a fase pós-analítica, nomeadamente no armazenamento e gestão de amostras e documentação, bem como no empenho nas fases que lhe precedem. No entanto, os especialistas é que são responsáveis pela interpretação, validação e transmissão de resultados, funções que requerem inúmeros conhecimentos e perspicácia. Todos os resultados alterados requerem algum cuidado e confirmação, não implicando a repetição da análise se se conseguirem esclarecimentos de outra forma, nomeadamente a consulta de análises anteriores do mesmo utente no arquivo de documentos, comunicação com o utente ou médico via telefone, devendo, no entanto, haver algum cuidado na comunicação com o doente de forma a não o alertar e preocupar em vão.

Em casos de valores muito alterados e que constituam perigo para o utente e/ou outros deve haver notificação imediata do utente ou médico prescritor da análise, devendo estas comunicações e notificações ficar registadas.

2. Conclusão

A realização deste estágio constituiu-se como uma mais-valia para a minha formação académica e profissional, bem como a nível de evolução pessoal, ao integrar-me numa equipa de trabalho competente que se dedicou a transmitir-me todos os conhecimentos que possuíam, bem como tive oportunidade de, por um lado, consolidar conhecimentos que adquiri durante este mestrado, aplicando-os à prática laboratorial e, por outro, desenvolver competências analíticas e de interpretação dos respetivos resultados laboratoriais.

Durante a introdução deste trabalho propus-me a desenvolver sucintamente todas as áreas em que desenvolvi atividades e a aprofundar duas delas, a Hematologia e a Bioquímica, o que fiz, aliando a teoria, a prática e ainda a tecnologia usada no laboratório, tendo obtido grande satisfação da minha aprendizagem. Tive também a possibilidade de apreender fatores como a importância da relação com os utentes num contexto de laboratório privado, de proximidade, em que os utentes optam por este laboratório, sendo a sua escolha baseada na interação que desenvolvem com o TSAC na sala de colheitas, bem como a importância de uma relação de confiança e confidencialidade entre o TSAC e o utente num contexto de localidade pequena em que ambos podem eventualmente conhecer-se ou conhecer pessoas comuns, e também pela qualidade do serviço que lhes é prestado.

Em suma, o desenvolvimento deste estágio permitiu-me aliar toda a teoria apreendida durante o mestrado à prática laboratorial, permitiu-me a integração numa equipa de trabalho na sua totalidade, desenvolvendo capacidades de trabalho em equipa, gestão de conflitos internos e dificuldades relacionadas com a dicotomia qualidade-custos que nos é imposta devido ao “estado da arte” em que vive o país. Todo este trabalho foi desenvolvido com força de vontade, empenho e muita persistência, no entanto com muita compensação no sentido em que obtive uma ótima preparação para a vida profissional.

3. Referências Bibliográficas

- 1) BERNINI, E.G.; ALEGRE, P. - Fase pré-analítica in Gestion de la Calidad en el Laboratorio Clinico. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana, 2005
- 2) PIQUERAS, R.; RODERAS, S.. - Asseguramiento de la calidad en la preparacion del paciente in Análisis Clínicos. AEFTA, num91, Tomo XXIII, 1998
- 3) GUERRI, M.L.; FINK, N.E.; GONZALEZ, S. - Fase Analitica in Gestion de la Calidad en el Laboratorio Clinico. Buenos Aires: Editorial Panamericana, 2005
- 4) GRAFF, Laurine – Análisis de Orina: Atlas Color. Editorial Panamericana, 1983
- 5) STRASINGER, Susan; DI LOURENZO, Marjorie – Urinalisys and Body Fluids. 5ª Edição. Philadelphia : F.A. Davis Company, 2008.
- 6) DIAZ, R. ; GAMAZO, C ; LOPEZ, I. – Manual Pratico de Microbiologia. Masson, 2002
- 7) FAILACE, Renato; FERNANDES, F. – Hemograma: Manual de Interpretação. Porto Alegre: ARTMED 2009
- 8) TURGEON, M. – Clinical Haematology: Theory and Procedures. 5ªEdição. Lippincott Williams & Williams.2012
- 9) BAIN, Barbara – Células Sanguineas: Um guia Prático. Porto Alegre: ARTMED, 2004
- 10) BENITO, A; BENITO, P. – Comparation de los dos sistemas automáticos para determinación de la velocidade de sedimentacion globular in Análisis Clínicos, nº91 Abril Maio Junho. Tomo XXIII, 1998
- 11) CIESLA, Betty – Haematology in Practise. Philadelphia : F.A. Davis Company. 2007
- 12) Medical Lab Tests. Version 2.1. Medicon Applications. 2011
- 13) BURTIS, Carl ; ASHWOOD,Edward – Tietz Fundamental of Clinical Chemistry. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 2001
- 14) NELSON, D ; COX, M ; LEHNINGER, M. – Principles of Biochemistry. Nova Iorque : Freeman and Company. 2008
- 15) CAQUET, René – Guia Prático de Análises Clínicas. Climepsi, 2004

- 16) PENEDOS, C.; MASELLI, A. – Fase Pós Analítica in Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico. Medical Panamericana, 2005.