



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Elinda Valdemira Kapenda Martinho

## Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em  
Análises Clínicas, orientado pelo Dr. Mário João Gonçalves Roque  
e apresentado a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Outubro de 2021



UNIVERSIDADE DE  
COIMBRA

Elinda Valdemira Kapenda Martinho

# RELATÓRIO DE ESTÁGIO

## Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas,  
orientado pelo Dr. Mário João Gonçalves Roque e apresentado a  
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Estágio realizado no Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Saúde Militar de  
Coimbra, entre outubro de 2020 a fevereiro de 2021, nas valências de  
Hematologia e Imunologia.

Outubro de 2021



## Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Jobino Martinho de feliz memória e a Matilde dos Anjos Kapenda em especial do fundo do meu coração que sempre me apoiou incondicionalmente dando-me forças para continuar face às adversidades que passei, a seguir sempre em frente sem nunca desistir perante os obstáculos com que me fui deparando. Foi sempre o meu porto seguro na guarda das minhas filhas, para poder proporcionar mais um momento académico, sendo merecedora e honrada a atribuição deste título.

Um agradecimento especial ao meu esposo, Paulo Silva Xavier às minhas filhas, Kelvin Pedraulia e Matilde Xavier, por compreenderem e aprenderem a viver com a minha ausência durante o período do meu mestrado, aos meus irmãos que muito fizeram pela guarda e estabilidade emocional das minhas filhas e, também pela enorme paciência e apoio com que me acompanharam durante este percurso. À minha prima Cândida Almeida e seu esposo pela atenção, carinho e acolhimento na sua residência em período de férias, na localidade de Olhão (Algarve).

À Professora Doutora Leonor Almeida, pela aceitação e o apoio á minha candidatura para frequentar este mestrado pela confiança depositada nas minhas capacidades para aprender e desenvolver competências na área das Análises Clínicas.

Ao meu orientador externo Dr. Mário Roque pela sua disponibilidade e por me ter aceito, dando-me ao mesmo tempo a orientação e oportunidade para aprender e realizar o meu estágio.

À Professora Doutora Ana Miguel Matos, Coordenadora do Curso de Mestrado em Análises Clínicas da Universidade de Coimbra, pela disponibilidade dispensada no contributo para a estruturação e correção deste relatório.

À Professora Doutora Maria do Céu Sousa e a Professora Doutora Helena Manuel Sá, agradeço tudo o que tem feito por mim.

A Todos os professores, deixo a minha gratidão por terem contribuído grandemente para a minha aquisição de conhecimentos ao longo deste mestrado.

Aos colaboradores de toda a equipa do Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Saúde Militar de Coimbra, pela simpatia e recetividade. Em especial, Luísa Maria Roque, Ana Andrade, Marina Murta, Mónica Barbosa e Manuel Simões Ferraz pela hospitalidade,

afeto, acompanhamento e orientação, que me facilitou na aprendizagem e a sentir-me como membro da mesma família, para continuamente realizar o melhor trabalho, contribuindo o mesmo para a aquisição de competências para poder retomar ao mercado de trabalho nesta área no meu País.

A todas as minhas amigas e colegas de mestrado, pelo apoio e integração durante a minha estadia na cidade de Coimbra, Amélia Vueba, Vera Pires, Debora Cerqueira, que sempre me ajudaram e motivaram para seguir em frente na concretização deste árduo objetivo académico.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente me incentivaram, aconselharam e apoiaram nos momentos mais difíceis. Ao CLAIM- Centro Local Apoio á Integração de Migrantes - em Coimbra, nas pessoas Dr. Bruno Miguel Fernandes Mateus e Dra. Vera Mónica Carvalho Fernandes e Senhoras, Maria do Ceu Cruz e Ana Joaquina Esteves que permitiram que fosse possível continuar a efetuar o meu mestrado, motivando-me para alcançar este objetivo até ao fim.

**Muito obrigada!**

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer”

Mahatma Gandhi.

“Os grandes feitos são conseguidos não pela força, mas pela perseverança”

Samuel Johnson.

## ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	3
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ÍNDICE DE TABELAS.....	8
ABREVIATURAS.....	9
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
1. Introdução.....	15
2. Caracterização do Laboratório de Estágio.....	16
Espaço Físico.....	16
Recursos Humanos.....	16
Fluxo das Amostras.....	16
Atividades Desenvolvidas.....	17
Sistema Informático.....	17
3. Fase Pré-Analítica.....	17
4. Fase Analítica.....	19
5. Fase Pós-Analítica.....	20
6. Controlo de Qualidade.....	20
Controlo Interno de Qualidade.....	21
Controlo Externo de Qualidade.....	21
7. Hematologia Clínica e Metodologia.....	22
Hematologia Clínica.....	22
Cell-Dyn Ruby da Abbott® Laboratories.....	22
Determinação da Concentração de Hemoglobina.....	24
8. Hematopoiese.....	25
9. Hemograma.....	26
Avaliação do Eritrograma.....	26
Contagem de Eritrócitos.....	26
Concentração de Hemoglobina (HB).....	26
Hematócrito (HCT).....	27
Índices Eritrocitário.....	27
Volume Corpuscular Médio.....	27
Hemoglobina Corpuscular Média.....	28
Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM).....	28
Distribuição do Diâmetro dos Eritrócitos (RDW).....	28
Reticulócitos.....	29
10. Leucograma.....	30
Contagem Total de Leucócitos.....	30
Contagem Diferencial de Leucócitos.....	30
11. Plaquetograma.....	31
Contagem Total de Plaquetas.....	31
Volume Plaquetar Médio (VPM).....	32
Índice de Distribuição do Tamanho das Plaquetas.....	32
12. Esfregaço de Sangue Periférico.....	32

<b>13. Avaliação Morfológica da Série Eritrocitária.....</b>	<b>33</b>
Inclusões Eritrocitárias.....	37
Alterações na Distribuição Eritrocitária.....	37
<b>14. Avaliação Morfológica da Série Leucocitária.....</b>	<b>38</b>
<b>15. Avaliação Morfológica da Série Plaquetar.....</b>	<b>42</b>
<b>16. Hemóstase.....</b>	<b>42</b>
Tempo de Protrombina (TP).....	44
Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (aPTT).....	45
Dosagem de Fibrinogénio.....	45
<b>17. Velocidade de Sedimentação.....</b>	<b>46</b>
<b>18. Determinação de Grupos Sanguíneos Sistema ABO/Rh.....</b>	<b>46</b>
<b>19. Caso Clínico 1.....</b>	<b>49</b>
<b>20. Caso Clínico 2.....</b>	<b>51</b>
<b>21. Secção de Imunoserologia/Endocrinologia.....</b>	<b>52</b>
Sistema Imunitário.....	52
Equipamento e Metodologia (Architect e Ci8200).....	55
Quimioluminescência.....	55
<b>22. Marcadores Virais.....</b>	<b>57</b>
Vírus da Imundeficiência Humana(HIV).....	57
Hepatites Virais.....	60
Vírus da Hepatite A.....	60
Vírus da Hepatite B.....	62
Antigénio de Superfície da Hepatite B – AgHBs.....	62
Anticorpo Contra o Antigénio de Superfície da Hepatite B – anti-HBs.....	62
Vírus da Hepatite C.....	64
<b>23. Infeções Bacterianas.....</b>	<b>65</b>
Sífilis.....	65
<b>24. Marcadores de Avaliação e de Função da Hormona da Tiroide.....</b>	<b>66</b>
<b>25. Marcadores Tumorais.....</b>	<b>69</b>
Antigénio CA125.....	69
Antigénio CA 15.3.....	70
Antigénio Específico da Próstata (PSA).....	70
<b>26. Bioquímica.....</b>	<b>71</b>
<b>27. Microbiologia.....</b>	<b>72</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>73</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>75</b>

## Índice de Figuras

Figura 1: Impedância Elétrica (Princípio Coulter).....	23
Figura 2: Dispersão Polarizada de Múltiplos Ângulos.....	24
Figura 3: Diagrama mostrando a célula-tronco multipotente da medula óssea.....	25
Figura 4: Esfregaço de Glóbulos Vermelhos (Normocíticos e Normocrômico).....	33
Figura 5: Alteração Morfológica quanto ao Tamanho dos Eritrócitos.....	34
Figura 6: Alteração Morfológica quanto à Cor do Glóbulo Vermelho.....	35
Figura 7: Alteração Morfológica quanto à Forma do Glóbulo Vermelho.....	36
Figura 8: Alteração Morfológica de Inclusões Eritrocitárias.....	37
Figura 9: Alterações Morfológicas na Distribuição Eritrocitária.....	38
Figura 10: Avaliação Morfológica da Série Leucocitária.....	39
Figura 11: Alterações Morfológicas dos Neutrófilos (Núcleo e Citoplasma).....	40
Figura 12: Avaliação Morfológica de Granulócitos e Mononucleares.....	41
Figura 13: Alteração Morfológica dos Linfócitos.....	41
Figura 14: Alteração Morfológica da Série Plaquetar.....	42
Figura 15: Cascata da Coagulação.....	44
Figura 16: Anemia Hipocrômica – Anisocitose.....	49
Figura 17: Demonstração da Resposta de Imunidade Inata e Adaptativa.....	54
Figura 18: Quimioluminescência.....	56
Figura 19: Contagem de Linfócitos TCD4 e Perfil Serológico da Infecção pelo HIV ao longo do tempo de um indivíduo sem tratamento com antirretroviral.....	58
Figura 20: Representação esquemática, ensaio imunológico sanduíche (imunométrico) de 4ª geração do tipo ELISA (do inglês, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).....	59
Figura 21: Algoritmo clínico laboratorial da infecção por HIV disponibilizado pela DGS para Teste de Rastreamento de 4ª geração.....	60
Figura 22: Curso natural da infecção pelo vírus da Hepatite A (HAV).....	61
Figura 23: Perfil Marcador Serológico Fase Normal e Fase Crônica HBV.....	63
Figura 25: Perfil Serológico Marcador de infecção da Hepatite C.....	65



## **Índice Tabelas**

Tabela 1: Tipo de colheitas para amostras de sangue Total/Plasma.....	18
Tabela 2: Aparelhos do Laboratório de Análises Clínicas do CSMC setor de Hematologia, Imunologia e Bioquímica.....	19
Tabela 3: Critérios para Elaboração de um Esfregaço Sanguíneo.....	33
Tabela 4: Determinação dos Grupos Sanguíneos com base na aglutinação da Prova Direta e Prova Sérica e os Antígenos Eritrocitários correspondentes.....	47
Tabela 5: Resultados do Hemograma - Bioquímica.....	49
Tabela 6: Resultados do Hemograma - Microbiologia - Imunologia.....	51
Tabela 7: Marcadores Serológicos e Moleculares Analisados na secção Imunoserologia/Endocrinologia do CSMC.....	56
Tabela 8: Diagnóstico clínico e avaliação de parâmetros da Tiróide.....	61

## **ABREVIATURAS**

AgHBc - Antígeno da cápside vírus da hepatite B

AgHBe - Antígeno solúvel do vírus da hepatite B

AgHBs - Antígeno se superfície do vírus da hepatite B

ALT - Alanina aminotransferase

Anti-HBc - Anticorpo anti AgHBc

Anti-HBe - Anticorpo anti AgHBe

Anti-HBs - Anticorpo anti AgHBs

AST - Aspartato aminotransferase

CDC - Centers of Disease Control and Prevention

CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular média

CMIA - Chemiluminescent Microparticle Immuno Assay

DNA - Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)

DST - Doença Sexualmente Transmissível

EDTA - Ácido Etilenodiaminotetra-acético

HAV - Hepatitis A Virus (Vírus da Hepatite A)

Hb - Hemoglobina

HbA1c - Hemoglobina glicada

HBV - Hepatitis B Virus (Vírus da Hepatite B)

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média

HCT - Hematócrito

HCV - Hepatitis C Virus (Vírus da Hepatite C)

HIV - Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)

INR - International Normalized Ratio (Razão Internacional Normalizada)

ISI - International Sensitivity Index (Índice Sensibilidade Internacional)

LACCSMC - Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Saúde Militar de Coimbra

MAPPS - Multi-Angle Polarized Scatter Separation

PLT - Plaquetas

PSA - Prostate specific antigen (Antigénio Específico da Próstata)

RDW - Red Cell Distribution Width

RIQAS - Randox International Quality Assessment (Distribuição do Tamanho dos eritrócitos)

RLU's - Relative Light Units (Unidades Relativas de Luz)

RNA - Ribonucleic Acid (Ácido Ribonucleico)

TF - Tissue Factor (Fator Tecidual)

TP - Tempo de Protrombina

TRH - Thyrotropin Releasing Hormone (Hormona libertadora da tireotropina)

TSH - Thyroid Stimulating Hormone (Hormona estimuladora da tiróide)

TTPa - Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado

VCM - Volume Corpuscular Médio

VDRL - Venereal Disease Research Laboratory

VS - Velocidade de Sedimentação

## Resumo

Este relatório tem como objetivo descrever as atividades gerais desenvolvidas durante o trabalho realizado no Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Saúde Militar de Coimbra CSMC. A evolução do segmento laboratorial tem sido extraordinária nos tempos recentes. Os processos de automatização, robotização, associado ao crescimento vertiginoso da tecnologia de informação proporcionaram aos estabelecimentos laboratoriais a possibilidade de evoluir e incrementar um muito melhor atendimento ao cliente, contribuindo para um maior rigor nos resultados obtidos em laboratório.

Desta forma, permite garantir qualidade no auxílio fundamental ao diagnóstico clínico e celeridade no tratamento a prevenção de doenças. Esta evolução naturalmente proporcionou também um extraordinário aumento na solicitação de exames rotineiros e de maior complexidade.

O Centro de Saúde Militar de Coimbra (CSMC) tem um laboratório desenhado para corresponder as necessidades analíticas de rotina dos militares do Exército e seus familiares permitam auxiliar no rastreio, diagnóstico, prognóstico, diferenciação da terapêutica e prevenção da doença.

O presente relatório vai-se cingir ao estágio curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, e inclui as valências principais de Hematologia, Bioquímica, Imunologia e Microbiologia, bem como a importância clínica dos parâmetros determinados e a interpretação laboratorial de quatro casos clínicos.

As áreas que serão mais desenvolvidas neste relatório são a hematologia e imunologia.

**Palavra-chave:** análises clínicas, diagnóstico, prevenção, monitorização, controlo de qualidade.



## **Abstrat**

This report aims to describe the general activities developed during the work carried out at the Clinical Analysis Laboratory of the Military Health Center of Coimbra. The evolution of the laboratory segment has been extraordinary in recent times. The automation and robotization processes, associated with the rapid growth of information technology, have provided laboratory establishments with the possibility of evolving and improving customer service, contributing to greater rigor in the obtained results in the laboratory.

In this way, it allowed us to guarantee quality in the fundamental aid to clinical diagnosis and speed in the treatment and prevention of diseases. This evolution naturally also provided an extraordinary increase in the request for routine and more complex exams.

The Military Health Center of Coimbra has a designed laboratory to meet the routine analytical needs of the Army's military and their families, making it possible to present reliable results that allow it to assist in screening, diagnosis, prognosis, therapeutic differentiation and prevention of the disease.

This report will be limited to the curricular internship within the scope of the Master's Degree in Clinical Analysis of the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra, and includes the main areas of Hematology, Biochemistry, Immunology and Microbiology, as well as the clinical importance of the determined parameters and the laboratory interpretation of four clinical cases.

The areas that will be further developed in this report are Hematology and immunology.

**Keyword:** clinical analysis, diagnosis, prevention, monitoring, quality control.



## **I. Introdução**

No âmbito do Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, realizei um estágio com duração de 5 meses, entre outubro de 2020 e março de 2021, no Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Saúde Militar de Coimbra (CSMC), sob a orientação técnica e científica do Dr. Mário João Gonçalves Roque. A realização do estágio curricular teve como oportunidade única, colocar em prática os conceitos adquiridos nas unidades curriculares ao longo do mestrado, a aquisição de novos conhecimentos relativamente ao funcionamento de um laboratório de análises clínicas dado o contexto laboratorial profissionalizante do estágio, permitindo a minha inserção na rotina de um laboratório clínico, nomeadamente o manuseamento dos equipamentos e sua manutenção, e ainda todo o processo de calibração, controlo de qualidade (tanto interno como externo) e a validação de resultados e interpretação dos mesmos, o que fomentou o espírito crítico no decorrer estágio.

De acordo com o organigrama, o laboratório do CSMC apresenta diferentes sectores e áreas clínicas, o que proporciona melhor compreensão das responsabilidades a desempenhar. Um dos objetivos do estágio realizado no CSMC foi proporcionar formação técnica de qualidade na área das Análises Clínicas para encarar e acompanhar mudanças que são apresentadas a nível profissional, desde a fase pré-analítica com a receção de requisições médicas, registo de utentes e colheitas, receção de amostras biológicas, até à validação dos resultados (fase pós-analítica), bem como a execução do controlo de qualidade interno e externo.

O CSMC realiza diariamente análises clínicas em várias áreas, de forma a apoiar o clínico no diagnóstico e monitorização das patologias. As áreas de hematologia e imunologia serão abordadas de forma mais aprofundada fazendo-se uma breve referência aos setores de bioquímica, microbiologia, toxicologia e COVID-19.



## **2. Caracterização do Laboratório de Estágio**

### **Espaço Físico**

O laboratório do CSMC está localizado na rua Vandelli 2, 3030-405. Encontra-se dividido em diferentes secções, desde a receção e atendimento, sala de lavagens, área administrativa, gabinete destinado ao diretor técnico, sala de colheitas e os setores de Hematologia, bioquímica/Imunologia, que coexistem lado a lado e Microbiologia.

### **Recursos Humanos**

O laboratório de análises clínicas do CSMC dispõe de vários colaboradores, o Diretor Técnico Farmacêutico e Especialista em Análises Clínicas pela Ordem dos Farmacêuticos, cinco Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública e dois colaboradores na área.

Os Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública trabalham com uma dinâmica de rotatividade, alternando entre si nas diferentes valências ao longo do tempo.

Os colaboradores da área na área de receção e atendimento dos utentes, para que no ato da inscrição e registo informático através do sistema SISLAB/Glantt, as requisições médicas para análise, seja atribuído um número de processo assim como número de amostra para todo o processo analítico que fica associado a um código de barras.

### **Fluxo das Amostras**

A média de utentes que ocorrem ao Serviço de Análises Clínicas varia entre os 30 os 40 utentes, podendo esporadicamente este número aumentar para o dobro nos dias em que há Aprontamentos, Tropas Especiais e amostras vindas do exterior o número de amostras aumenta significativamente. Também foram efetuadas análises a pacientes internados com COVID-19, no âmbito da resposta para aliviar os hospitais na luta contra pandemia do Centro Hospitalar de Coimbra e arredores. A maioria das determinações analíticas são analisadas no LAC do Centro de Saúde Militar de Coimbra. Porém, havia parâmetros que não se faziam e outros porque careciam de confirmação por outra metodologia, sendo essas amostras enviadas para um laboratório externo.

No CSMC, os utentes são membros titulares do Exército, Força Aérea, Marinha e seus familiares e outros utentes de acordo com as suas diretivas superiores (Membros da PSP e GNR).

## **Atividades Desenvolvidas**

Durante o período de estágio no Laboratório do CSMC tive a oportunidade de acompanhar e realizar tarefas como flebotomia, determinação de grupos sanguíneos, esfregaços sanguíneos, coloração e observação microscópica dos elementos presentes no sangue. Realizei procedimentos referentes ao controlo de qualidade, manutenção dos aparelhos nas quatro valências das Análises Clínicas: Hematologia, Imunologia, Bioquímica e Microbiologia, desde a fase pré-analítica até pós-analítica, sendo que a execução técnica e a interpretação dos resultados são efetuadas por pessoal com formação específica, mas sempre sujeitas a validação pelo Diretor Técnico e Responsável pelo Laboratório.

## **Sistema Informático**

O programa informático (SISLAB/Glantt) assegura uma comunicação constante e promove a partilha de resultados entre todas as áreas.

## **3. Fase Pré-Analítica**

Esta fase consiste num processo abrangente que se inicia com o atendimento, inscrição e preparação do utente, no registo informático com uma prévia informação no caso de proceder a colheita de amostras no ambulatório, conservação e transporte para o laboratório. Após a inscrição dos utentes são convocados nominalmente pelo técnico por ordem de chegada e é acompanhado para a sala de colheita. Nesta seção só os técnicos de Análises Clínicas confirmam a ficha de cada utente e o pedido com a lista de análises requeridas pelos clínicos, e são apreciadas todas as amostras colhidas em ambulatório, de modo a averiguar a sua viabilidade.

De seguida são selecionados cuidadosamente os respetivos tubos de acordo com o tipo de análise, procedem a etiquetagem dos tubos de colheitas com código de barras, nome do utente e a data e hora da colheita, para evitar erros que podem condicionar todo e qualquer protocolo seguinte de cada setor.

Esta é a fase durante a qual a maioria dos erros acontece e está sujeita a diversos fatores como o estado e a preparação do utente, falha na inserção do pedido no sistema informático, colheita da amostra, seleção e escolha incorreta do tubo, a forma como é transportada e armazenada, condições de temperatura e exposição da luz, não verificação do lote e data de validade, incumprimento no tempo de processamento, entre muitos outros fatores.

As colheitas de sangue são maioritariamente colhidas por vácuo, também se pode usar seringas manuais em função das análises pedidas. É importante ter-se em conta durante a colheita a ordem dos tubos, com tampas de cores diferentes indicando o tipo de anticoagulante nele presente, e o tipo de amostra a obter para garantir a correta identificação do tipo de exame a realizar (Tabela I).

**Tabela I.** Tipo de Colheitas para Amostras de Sangue Total/Plasma.

<b>Cor Tampa</b>	<b>Amostra</b>	<b>Anticoagulante</b>	<b>Aplicação Clínica</b>
Amarela	Soro	Gel separador ativador de coágulo	Bioquímica, serologia, imunologia, marcadores cardíacos e tumorais
Azul	Sangue Total Plasma	Citrato de Sódio (1:9)	Provas de coagulação
Lilás	Sangue Total Plasma	EDTA – K3	Bancos de sangue, Hemograma, Bioquímica
Preta	Sangue Total	Citrato de Sódio (1:4)	Velocidade de Sedimentação

Depois procede-se separação e distribuição dos tubos com as respetivas amostras para cada secção (hematologia, bioquímica, imunologia e microbiologia), (Tabela 2); dando prioridade aos pedidos urgentes de maneira a serem processados em primeira instância. De seguida procede-se a centrifugação dos tubos para obtenção de soro ou plasma; os tubos para análises hematológicas são processados com sangue total. As amostras de urina, fezes, exsudados, raspados de unhas e outras são processados na secção de microbiologia/ Toxicologia. Após a centrifugação é verificada a qualidade das amostras em função dos critérios de aceitação e rejeição estabelecidos pelo Diretor, para se dar início á fase analítica.

As situações em que os exames solicitados não se realizem no laboratório, estas são enviadas e transportadas em condições de segurança para outro laboratório de referência em que existem protocolos. No final deste processo a folha de trabalho é rubricada pelo técnico e guardada. A fase analítica é processada nos equipamentos descritos na Tabela 2.

**Tabela 2.** Aparelhos do Laboratório de Análises Clínicas do CSMC Setor de Hematologia, Imunologia e Bioquímica.

Setor	Amostra	Aparelho	Técnica	Parâmetro Analítico
<b>Hematologia</b>	Sangue Total	CELL-DYN® Ruby Abbott Diagnostics	MAPSS e impedância	Hemograma completo e contagem de reticulócitos
	Sangue Total	ADAMS A1C® HA-8160	Cromatografia de alta pressão (HPLC)	Hemoglobina glicada (HbA1C)
	Plasma	Yumizen® g400 200 Abbott Diagnostics	Turbidimetria	Provas de coagulação (PT, APTT, fibrinogênio)
	Sangue Total	BD Vacutainer® Sedi 15 TM	Westergren modificado	Velocidade de Sedimentação
<b>Imunologia</b> (Marcadores Serológicos)	Soro	Architect® Ci 8200 (Abbott Diagnostics)	Quimioluminescência com Micropartículas	HIV, HAV, HBV, HCV Treponema, Pallidum
<b>Endocrinologia</b> (Marcadores Tumorais e Tiroide)	Soro	Architect® Ci 8200 (Abbott Diagnostics)	Quimioluminescência com Micropartículas	PSA Total, PSA Livre, TSH T4, T3
<b>Bioquímica</b>	Soro	Architect® Ci 8200 (Abbott Diagnostics)	Potenciometria	Sódio, Potássio, Cloro
	Soro	Architect® Ci 8200 (Abbott Diagnostics)	Turbidimetria, Espectrofotometria	Ferritina, Ferro
	Soro	Architect® Ci 8200 (Abbott Diagnostics)	Espectrofotometria	Função Pancreática Amilase, Lípase
	Soro ou Urina	Architect® Ci 8200 (Abbott Diagnostics)	Espectrofotometria	Metabolismo Glucídico e ósseo Glicose, Cálcio, Ferro, Magnésio
	Soro	Architect® Ci 8200 (Abbott Diagnostics)	Espectrofotometria	Função Renal Creatinina, Ureia, Ác. Úrico
	Urina 24h/ Soro	Architect® Ci 8200 (Abbott Diagnostics)	Turbidimetria	Microalbuminúria, Função Cardíaca Proteína C Reativa
	Soro	Architect® Ci 8200 (Abbott Diagnostics)	Espectrofotometria	Função Lipídica Colesterol Total, Colesterol HDL Colesterol LDL, Triglicéridos
				Função Hepática Bilirrubina Direta, Bilirrubina Total Fosfatase Alcalina Aminotransferase (ALT e AST) Y- Glutamilttransferase, Proteínas Totais, Albumina

#### 4. Fase Analítica

A fase analítica está diretamente dependente do desempenho dos técnicos, analisadores automáticos, dos reagentes e respectivas calibrações e controles, porque compreende o processamento automático das amostras de hematologia, imunologia/endocrinologia e bioquímica até a emissão dos resultados obtidos e impressos na ficha eletrônica do paciente.

As determinações manuais como: sumária da urina, observação microscópia do sedimento, raspados, são lançadas na ficha do utente pelo pessoal técnico através do sistema informático. Nesta fase os erros inerentes a ela, basicamente são diminutos, mas podem ocorrer caso a qualidade da amostra não seja eficaz por causa dos interferentes ou erros causados pelo analisador automático, sendo possível fazer o seu ajuste com a calibração ou controlos. No geral a maioria dos setores estão apetrechados com equipamentos automatizados. As vantagens da utilização destes equipamentos é a possibilidade da utilização de pequenas quantidades de amostras, onde a autoanálise diminui a ocorrência de erros, aumentando a exatidão e a precisão, proporcionando uma obtenção rápida dos resultados. Em cada um dos setores existem diferentes equipamentos e autoanalisadores para a realização das análises clínicas (Tabela 2).

## **5. Fase Pós- Analítica**

Nesta fase, a interpretação e validação são realizadas por 2 técnicos diferentes sendo que a validação final é feita pelo Diretor Técnico, antes do envio dos resultados. Na validação dos resultados, é sempre tido em conta o historial do utente e as condições da amostra visto que se não forem bem analisadas podem apresentar interferências que causam alterações significativas com base na relação entre os resultados clínicos, podendo influenciar negativamente na interpretação e na validação do diagnóstico.

Os resultados após serem certificados e validados são transmitidos aos utentes, após impressos, e entregues em mão. Quando são encontrados resultados críticos, estes devem ser reportados de imediato ao médico responsável.

## **6. Controlo de Qualidade**

O principal objetivo de um laboratório de Análises Clínicas é assegurar aos seus utentes a melhor qualidade dos resultados obtidos. O controlo de qualidade é um procedimento que nos possibilita acompanhar a monitorização da reprodutibilidade e da exatidão dos resultados obtidos recorrendo a amostras controlo e a calibração de certos reagentes é realizada três vezes por semana (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira), ou sempre que um novo reagente é introduzido no aparelho de qualquer secção.

## **Controlo Interno de Qualidade**

O controlo de qualidade interno permite avaliar a precisão dos resultados e é realizado todos os dias antes de se iniciarem as análises de rotina, para todos os analisadores e parâmetros e são fornecidos pelos próprios fabricantes.

A frequência da análise dos controlos internos depende da metodologia. As determinações da coagulação controlam-se uma vez por semana. Hemoglobina glicada e imunologia controlam-se duas vezes por semana e as determinações de hematologia e bioquímica estas são controladas todos os dias. Esses controlos contêm níveis diferentes para cada parâmetro (controlos baixos, normal, alto, negativo ou positivo), devendo ser usados pelo menos dois para cada um dos analitos.

O aparelho constrói, de forma automatizada, o gráfico de Levey- Jennings e de acordo com as regras de Westgard, faz a leitura e interpretação dos resultados do controlo interno.

Em caso de necessidade pode recorrer-se ao diretor clínico para estabelecer intervalos de referência mais estreitos, permitindo que seja efetuado com segurança a eficácia dos controlos de qualidade.

Caso seja violada alguma das regras, os problemas ou erros aleatórios, o sistema projeta um sinal indicando as cartas que se encontram fora dos intervalos, tornando possível a correção de modo a resolver e eliminar as causas de erros antes de se processar alguma amostra, para garantindo a precisão dos resultados.

## **Controlo Externo de Qualidade**

O controlo externo de qualidade reflete-se na avaliação de vários parâmetros no sentido de garantir a exatidão dos resultados obtidos e realiza-se mensalmente consoante a utilização das valências.

O controlo externo realizado no Laboratório de Análises Clínicas do CSMC, é fornecido pelo RIQAS (*Randox Interational Quality Assessment Scheme*). Permite comparar e compreender a finalidade da Avaliação Externa da Qualidade, de acordo com as mesmas tecnologias, protocolos e condições, os resultados obtidos em diferentes laboratórios são depois introduzidos no site indicado, permitindo uma comparação posterior. No final cada laboratório recebe um relatório fornecido pelo RIQAS (*Randox Interational Quality Assessment Scheme*) acerca do desempenho das determinações metodológicas em função dos resultados estabelecidos.

Esta garantia da qualidade passa por um exigente controlo durante todas as fases do percurso clínico, desde a fase pré-analítica, analítica e pós-analítica, sendo fundamental para o bom funcionamento do laboratório e para a obtenção de resultados fiáveis.

## 7. Hematologia Clínica e Metodologia

### Hematologia Clínica

A hematologia é um dos ramos da medicina que no essencial destina ao estudo do sangue.

Os elementos essenciais do sangue como os glóbulos vermelhos, leucócitos, plaquetas e os órgãos hematopoiéticos e suas patologias são estudados com base nas alterações dos valores do hemograma e dos estudos de coagulação para monitorização, tratamento e prevenção de doenças (Ribeiro & Costa, 2016).

Nesta secção avaliam-se qualitativa e quantitativamente os vários componentes presentes no sangue periférico eritrócitos, leucócitos, plaquetas e reticulócitos, a sua morfologia, assim como também os sistemas responsáveis pela manutenção da hemóstase, podendo determinar-se o tempo de coagulação, determinação o tempo de protrombina (PT), tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT) e quantificação do fibrinogénio, hemoglobinas glicadas, testes de velocidade de sedimentação, realização de grupos sanguíneos sistema AB0/Rh.

Para estas determinações, a amostra mais utilizada é o **sangue total**. É colhido em tubos com K3- EDTA ou citrato de sódio, de modo a evitar a coagulação de sangue e a conservação de eritrócitos e leucócitos. Além disso, presenciei a execução de hemogramas e contagem de reticulócitos, esfregaço de sangue periférico e sua observação ao microscópio ótico após terminada a coloração com May-Grünwald-Giemsa.

Sucintamente, seguir-se-á o desenvolvimento de cada área assim como a descrição dos aparelhos e suas metodologias.

### ○ Cell-Dyn Ruby da Abbott® Laboratories

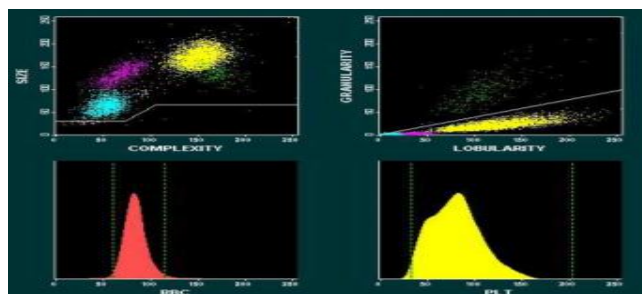
○ Cell-Dyn Ruby da Abbott® Laboratories é um analisador automatizado cujo sistema é multiparamétrico. Tabela 2.

○ Cell-Dyn Ruby da Abbott® Laboratories, utiliza dois sistemas diferentes de captação de amostra, sistema aberto (consiste na introdução manual de amostras no

aparelho) e o sistema fechado (faz introdução automática das amostras). Para contagem dos constituintes do sangue periférico este aparelho utiliza um sistema de multicanais que incorpora a tecnologia de impedância eletrônica (princípio de Coulter) e a tecnologia MAPSS (Multiple-Angle Polarized Scatter Separation).

O contador automático faz a contagem dos elementos figurados no sangue (eritrócitos, leucócitos e plaquetas), no hemograma e assenta no método de impedância desenvolvido por Coulter, a qual se fundamenta no facto de o sangue não ser bom condutor elétrico. A amostra de sangue é diluída numa solução de soro fisiológico, sendo este um bom condutor de corrente elétrica e as células passam através de um canal elétrico contínuo entre dois elétrodos. Cada célula que atravessa este canal elétrico tem a aptidão de causar um aumento da resistência elétrica que são medidos como pulso de tensão. A passagem das células faz com que haja um aumento da impedância, sendo este aumento proporcional ao volume de material condutor deslocado logo ao volume da célula sanguínea. Procede-se à contabilização dos pulsos para que se faça uma contagem e medição dos diferentes tipos de células.

A amplitude deste impulso faz com que haja um aumento da contagem dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas, cujos resultados são demonstrados por meio de histogramas de distribuição quanto ao tamanho (Bain, 2016).



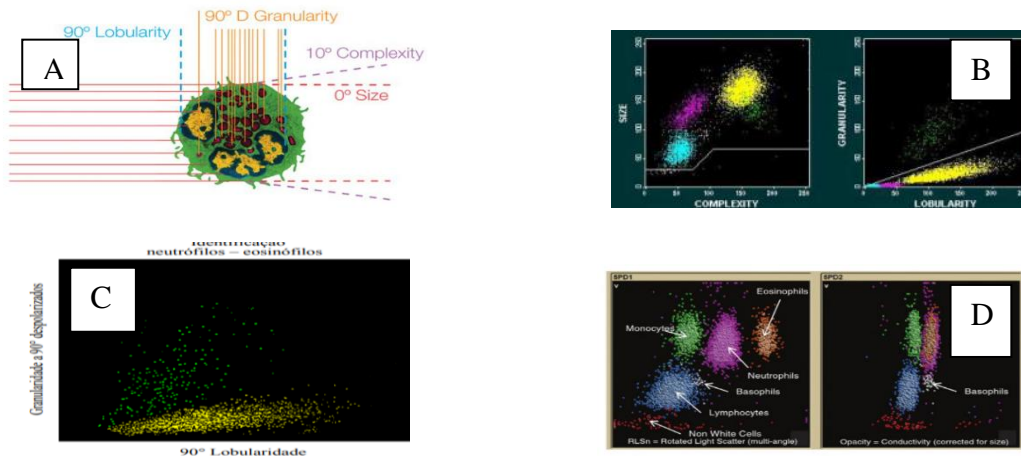
**Figura: 1. Impedância Eletrônica (Princípio de Coulter)** (Adaptado *software* Laboratories, A. (2009). *Manula de Operação Versão 2.o Sistema Cell- DYNRuby*).

A contagem de diferencial das subpopulações leucocitárias é feita pela tecnologia MAPSS, examinando á medida que o fluxo da amostra incide sobre uma célula, a dispersão da luz é medida por quatro detetores em ângulos diferentes, resumidamente (Figura 2).

1. Dispersão luminosa frontal ( $0^\circ$ ): que mede entre  $1$  a  $3^\circ$ , é dependente do tamanho celular.
2. Dispersão luminosa frontal de ângulo aberto ( $10^\circ$ ): que mede entre  $7$  a  $11^\circ$  é dependente da estrutura e complexidade interna.



3. Dispersão luminosa ortogonal totalmente polarizada (90°): que mede entre os 70 a 100°, é dependente da lobularidade horizontal.
4. Dispersão luminosa ortogonal despolarizada (90°D): que mede entre os 70 a 100°, é dependente da granularidade vertical.



**Figura 2.** Legenda ilustrando o que representa (A, B, C e D), Dispersão polarizada de múltiplos ângulos utilizada pelo aparelho automatizado Cell-Dyn® Ruby™ (Adaptado de: (Bain, 2016).

No final os resultados obtidos são apresentados através de gráficos de dispersão de populações de glóbulos brancos. As células são separadas inicialmente em granulócitos e agranulócitos mononucleares com base na lobularidade e complexidade (Figura 2B). De seguida, os granulócitos são divididos em eosinófilos e neutrófilos com base na capacidade dos grânulos dos eosinófilos de despolarizar luz (Figura 2C).

As células mononucleares são separadas em monócitos, linfócitos e basófilos de granulados com base no seu tamanho e complexidade. As 5 populações de leucócitos obtidas no final, são identificadas com base num código de cores e representadas num gráfico de complexidade e tamanho (Figura 2D). Quando na presença de uma população de células com características anormais como linfócitos atípicos, blastos ou glóbulos vermelhos nucleados (exemplo: eritroblatos), esta é sinalizada para análise do operador (Bain, 2016).

### Determinação da Concentração de Hemoglobina

A hemoglobina é quantificada diretamente pelo autoanalisador através do método de espectrofotometria, utilizado técnica colorimétrica. Para isso os eritrócitos têm que primeiro ser lisados numa câmara de mistura, passando de seguida para um leitor onde é quantificada a absorvância a 540nm por um fotodetector. As diferentes variantes de Hb (hemoglobina, oxiemoglobina, carboxiemoglobina, metahemoglobina, entre outras) são convertidas a

cianometahemoglobina, um composto estável, sendo que a fonte de luz é um LED de baixa energia (a absorvância é proporcional à concentração de hemoglobina).

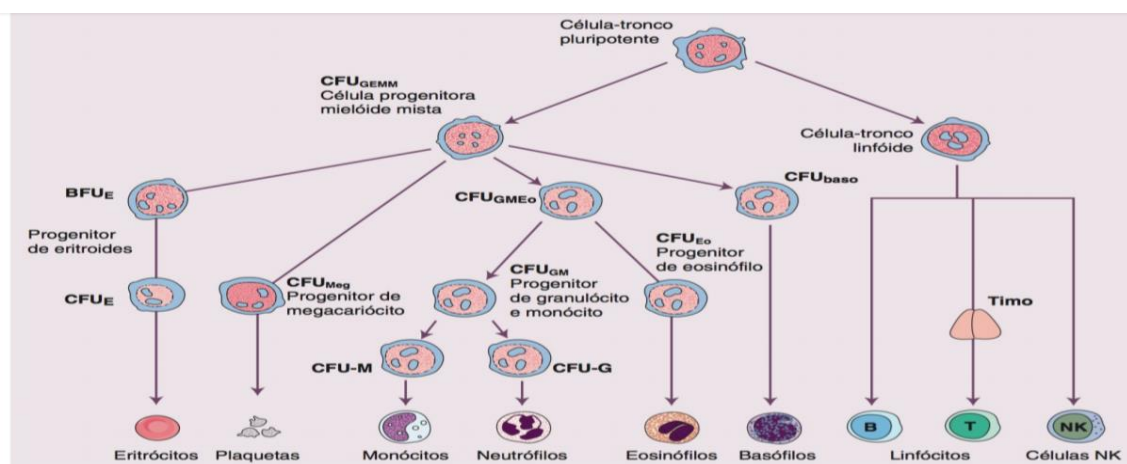
Como se pode verificar pelos resultados disponibilizados pelo *software* do aparelho Cell-Dyn® Ruby (Figura 2) é possível obter a contagem de todas as células e as características morfológicas após processamento da amostra (Bain, 2016).

## 8. Hematopoiese

A hematopoiese é o processo que envolve a formação, diferenciação e maturação das células sanguíneas. Estes processos são a única fonte responsável para formação, renovação e desenvolvimento células sanguíneas e responsável pela libertação para a circulação sanguínea (Nunes & Melo, 2013).

A hematopoiese tem início numa célula estaminal pluripotente, e ocorre essencialmente no feto, tendo início entre as 6 semanas de gestação e os 6 a 7 meses de vida fetal (Nunes & Melo, 2013).

Na fase adulta, ocorre na medula óssea e nas extremidades próximas do fémur e do úmero. A hematopoiese tem início com uma célula-tronco pluripotente, que pode autorrenovar-se e dar origem a produção contínua e diária das células sanguíneas das várias linhas celulares: eritróides, mielóides, megacariocíticas e linfocíticas (Figura 3) (Nunes & Melo, 2013).



**Figura 3.** Diagrama mostrando a célula-tronco multipotente da medula óssea e as linhagens celulares que dela se originam. Várias células progenitoras podem ser identificadas por cultura em meio semissólido pelo tipo de colônia que formam. É possível que um progenitor eritróide/megacariocítico seja formado antes de progenitor linfóide comum divergir do progenitor mielóide misto granulócito/monócito/eosinófilo. (Nunes & Melo, 2013).

## 9. Hemograma

O hemograma é um dos parâmetros analíticos básicos de rotina mais frequentes e solicitado pelos médicos no setor de hematologia clínica. As diferentes populações estudadas no hemograma tais como parâmetros hematológicos, constantes eritrocitárias, percentagens leucocitárias, entre outros, estão indicadas na Tabela 2 (Bain, 2016).

No Laboratório de Análises Clínicas do CSMC, os hemogramas e as contagens de reticulócitos é realizada no autoanalisador multiparametrico. Cell-Dyn Ruby da Abbott® Laboratories (Tabela 2).

### **Avaliação do Eritrograma**

O eritrograma é um conjunto de diferentes análises da série vermelha que engloba a quantificação dos eritrócitos, concentração da hemoglobina e avaliação dos índices hematiméticos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), assim como o índice de distribuição do tamanho dos glóbulos vermelhos (RDW) (Ciesla, 2009).

### **Contagem de Eritrócitos**

Os eritrócitos são as células sanguíneas mais abundantes e mais numerosas no sangue. No adulto são contabilizado cerca de  $3,9 \times 10^6$  / $\mu$ l a  $6,5 \times 10^6$  / $\mu$ l variando fisiologicamente com a idade e o sexo. Os eritrócitos têm a função de transportar oxigênio (O<sub>2</sub>) ligado a hemoglobina dos pulmões para os tecidos. A quantificação dos eritrócitos é um bom marcador para avaliar a produção e sobrevivência média destas células (Keohane, et al., 2016).

### **Concentração de Hemoglobina (Hb)**

A concentração de hemoglobina é particularmente conhecida como um biomarcador muito utilizado no diagnóstico de anemia. A concentração de hemoglobina é expressa em gramas por decilitro de sangue (g/dL).

Considera-se anemia quando se verifica um valor de concentração de hemoglobina abaixo do valor de referência, tendo em conta o género e a idade, sexo, e outras condições subjacente ao estilo de vida. Contudo, a diminuição da concentração da hemoglobina pode ser resultado da influência de outros fatores ambientais (altitude, temperatura), ou de doença (hipotireoidismo, mielodisplasia, alcoolismo).

## Hematócrito (HCT)

O hematócrito avalia a razão entre percentagem do volume ocupado pelos glóbulos vermelhos e o volume de sangue total. Este parâmetro é determinado automaticamente e expresso em percentagem (%). Também varia com a idade e sexo (Keohane, *et al.*, 2016).

Clinicamente o Hematócrito é útil para o diagnóstico e na avaliação, monitorização de hemorragia aguda, cirurgia, e no auxílio do diagnóstico de anemias, hemodiluição, hemoconcentração e policitemia vera.

Valores mais baixos de hematócrito verificam-se em situações de microcitose, drepanocitose e esferocitose, talassémias ou a ingestão excessiva de líquidos, valores mais elevados devem-se ao estado de desidratação severa e policitemia. Uma vez que o Hematócrito é influenciado pelo tamanho dos eritrócitos, não deve ser usado isoladamente no diagnóstico de anemia, devendo sempre fazer-se acompanhar pela concentração de hemoglobina.

No entanto, podem haver casos de hematócritos inadequados devido a um MCV falsamente elevado e a uma contagem de glóbulos vermelhos falsamente baixa.

## Índices Eritrocitário

A classificação dos parâmetros eritrocitários baseia-se nos índices eritrocitários hematriméticos.

## Volume Corpuscular Médio

O Volume Corpuscular Médio (VCM), exprime o volume médio ocupado por cada eritrócito e permite classificar morfologicamente as anemias com base no tamanho dos eritrócitos isto é (micrócitos, normocíticos e macrócitos). É expresso em fentolitros (**fl**), e é calculado pela seguinte forma:

$$\mathbf{VCM = \frac{Hematócrito (\%)}{Contagem\ dos\ Glóbulos\ Vermelhos} \times 10 (fl)}$$

$$\text{Contagem dos Glóbulos Vermelhos (X10<sup>12</sup>/L)}$$

As anemias microcíticas são classificadas pela diminuição do volume corpuscular médio (VCM). Geralmente a causa mais comum resulta da deficiência de síntese do grupo heme tais como: deficiência de ferro, talassémia, anemia sideroblástica, anemia das doenças crónicas (Keohane, *et al.*, 2016).

## Hemoglobina Corpuscular Média

A hemoglobina corpuscular média (HCM), define a quantidade média de hemoglobina presente em cada glóbulo vermelho, expressa em picogramas (pg). Da análise deste parâmetro pode-se mencionar se há hipocromia, normocromia ou hipercromia. Este parâmetro não é normalmente usado na classificação de anemia.

A diminuição neste valor pode ser indicativa de uma anemia, uma hemorragia, uma deficiência de ferro ou de uma doença hepática (Keohane, *et al.*, 2016).

É calculada da seguinte forma:

$$\text{HCM} = \frac{\text{Concentração de hemoglobina} \times 10 \text{ Pg}}{\text{Contagem de Glóbulos Vermelhos} (\times 10^{12}/\text{L})}$$

## Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM)

A Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) representa a concentração média de hemoglobina em cada glóbulo vermelho e permite classificar as anemias em hipocrômicas, quando o valor se encontra diminuído ou normocrômica, quando se encontra entre os valores de referência.

Os glóbulos vermelhos hipocrômicos resultam, por exemplo, das anemias por deficiência de ferro, anemia perniciosa, talassémias ou ainda por inapropriada formação de eritrócitos na medula óssea. Os valores aumentados não representam necessariamente um excesso de hemoglobina, mas sim uma alteração de forma, como na esferocitose hereditária (Keohane, *et al.*, 2016).

É expresso em g/dL e calculada da seguinte forma:

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hemoglobina (g/dl)} \times 10 \text{ g/dl}}{\text{Hematócrito (\%)}}$$

## Distribuição do Diâmetro dos Eritrócitos (RDW)

Este parâmetro representa a heterogeneidade do tamanho dos eritrócitos presentes numa dada amostra. Este índice pode revelar anisocitose eritrocitária. Esta determinação é particularmente importante no diagnóstico diferencial das anemias (Keohane, *et al.*, 2016).

É expresso em % e calculado da seguinte forma:

$$\text{RDW} = \frac{\text{Desvio Padrão dos volumes dos glóbulos vermelhos} \times 100}{\text{VCM}}$$

O aumento do RDW relaciona-se com a eritropoiese ineficaz ou quando há bloqueio da resposta normal da medula óssea pode estar relacionado com a deficiência de ferro e anemia falciforme.

Um RDW aumentado e VCM aumentado, pode estar associado a anemia hemolítica, deficiência de folato e Vitamina B12 e esferocitose hereditária. Nos casos de hemoglobinopatias, verifica-se um aumento do RDW de acordo com o grau de anemia que acompanha a doença.

No entanto, é necessário sempre uma confirmação posterior não tendo este parâmetro uma capacidade de diagnóstico. Caso o hemograma se apresente modificado, efetua-se um esfregaço de sangue periférico da amostra para que se possa fazer uma avaliação morfológica da mesma (Bain, 2016).

## **Reticulócitos**

Os reticulócitos são células precursoras dos glóbulos vermelhos. São anucleados, contendo RNA ribossômico (rRNA), em que uma pequena quantidade pode reagir com corantes vital como azul de metileno novo, ao precipitarem formam grânulos ou pontos pequenos azuis.

A quantificação de reticulócitos oscila entre 0,5 a 2,5% de células precursoras dos glóbulos vermelhos e a contagem absoluta oscila entre  $10$  a  $115 \times 10^3 / \mu\text{l}$  (Bain, 2016).

Este procedimento é feito mediante reação entre o corante e amostra de células sanguíneas não fixadas. Valores alterados de reticulócitos na corrente sanguínea é um bom indicador da funcionalidade da medula óssea. Permite distinguir situações de anemia regenerativa ou arregenerativa. O aumento da contagem de reticulócitos pode indicar uma produção excessiva da síntese de eritropoietina a nível do rim em resposta à diminuição de oxigênio e estimulará a eritropoiese, levando a formação de novos glóbulos vermelhos.

Ao passo que o número reduzido de reticulócitos em indivíduos anémicos sugere da diminuição na produção a nível da medula óssea ou falha na estimulação pela eritropoietina (Hoffbrand, 2013).

## **10. Leucograma**

Os leucócitos são células que estão envolvidas na proteção do organismo contra agentes infecciosos e doenças neoplásicas, na fagocitose e na produção de anticorpos.

O leucograma permite fazer uma avaliação da série leucocitária através da contagem absoluta de leucócitos e de uma contagem diferencial dos mesmos. É um exame simples, mas que contém muitas informações retrospectivas (Bain, 2016).

### **Contagem Total de Leucócitos**

A quantificação total de leucócitos base-se na determinação dos 5 tipos de população leucocitária (neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos) e é expressa em número de células por litro de sangue. Cada população de leucócitos apresenta uma função específica, podendo agir de forma independente, mas também podem cooperar com outras células. Por outro lado, qualquer alteração na quantificação de leucócitos podem surgir por diversas razões. O aumento de leucócitos pode variar ao longo do dia pós a realização de exercício físico intenso, assim como em situações de stress emocional e ansiedade.

A leucocitose, pode estar associada a várias causas como infeções agudas de origem bacteriana, apendicite, leucemias, certos tipos de anemia ou pode surgir no decorrer da gravidez (Hoffbrand, 2013).

A leucopenia podem estar associadas a certas infeções virais, malária, artrite reumatóide, cirrose, anemia perniciosa (Turgen, *et al.*, 2012).

Para uma melhor avaliação e interpretação dos resultados obtidos no leucograma, tanto os valores de leucocitose como de leucopenia não podem ser avaliados sem fazer a fórmula leucocitária fundamentada no exame diferencial e morfológico de acordo com o aumento ou diminuição do tipo de população predominante, neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos ou basófilos (ML, 2018).

### **Contagem Diferencial de Leucócitos**

A contagem diferencial de leucócitos consiste na determinação de vários parâmetros como, o número de neutrófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos e células imaturas ou atípicas no sangue. Um aumento ou diminuição na contagem de leucócitos pode ser observada em várias situações tais como benignas ou malignas. Para se confirmar é preciso fazer avaliação morfológica e contagem diferencial da população celular que se encontra alterada (leucocitose ou leucopenia).

Na fórmula leucocitária os resultados são expressos tanto em valores de percentagem (%) assim como em valores absolutos por litro de sangue de cada tipo de população. É a única situação em que é possível diferenciar a presença de uma população de células imaturas de outras linhagens, independentemente da causa, avaliam vários fatores como, volume celular e dispersão da luz.

Permitem auxiliar no diagnóstico, classificar doenças como a leucemia mieloide aguda e síndrome mielodisplásico (Bain *et al.*, 2017).

## **II. Plaquetograma**

As plaquetas são fragmentos celulares do citoplasma dos megacariócitos que constituem uma rede altamente ramificada, cuja função fundamental assenta na formação do tampão mecânico na manutenção e reparação dos vasos sanguíneos durante a resposta ao mecanismo hemostático para estancar a hemorragia em zonas de lesão (Hoffbrand, 2013).

### **Contagem Total de Plaquetas**

O Plaquetograma engloba os seguintes parâmetros: contagem de plaquetas, volume plaquetar médio (VPM) e o índice de distribuição do tamanho das plaquetas (PDW). A contagem de plaquetas é expressa em número de plaquetas por microlitro de sangue total (Hoffbrand, 2013).

A trombocitose, que corresponde a um aumento do número de plaquetas acima do valor de referência, ter causas primárias como: hereditárias (trombocitose familiar), adquiridas (trombocitopenia essencial, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica ou de causas secundárias como (Bain, 2016).

A trombocitopenia corresponde a uma diminuição da contagem do número das plaquetas em circulação, abaixo valor de referência, e ocorre em indivíduos com maior tendência para desenvolverem hemorragias espontâneas de pequenos vasos. Está muitas vezes associada a uma falha na produção de células na medula óssea.

No entanto, a trombocitopenia também pode estar falsamente diminuída, devido a erros na contagem. Uma das causas mais frequente é a agregação plaquetar devido a uma ativação induzida por uma colheita complicada ou pseudotrombocitopenias induzida pelo EDTA, (o tipo de anticoagulante presente na amostra de sangue total), o fenómeno de satelitismo ou formação de coágulos (Hoffbrand, 2013).



A baixa contagem de plaquetas carece sempre de uma confirmação por observação do esfregaço de sangue periférico e/ou contagem de plaquetas em tubo de citrato de sódio a 3,2% (Bain, 2016).

### **Volume Plaquetar Médio (VPM)**

Esta determinação representa o volume médio (VPM) e é expresso em femtolitros (fL), indicando o volume médio de cada plaqueta na amostra. Verifica-se a existência de uma relação proporcionalmente inversa entre o número total de plaquetas e o tamanho. Este parâmetro encontra-se aumentada em condições em que há aumento do consumo ou destruição plaquetar, e diminuído quando há uma falha na produção de plaquetas pela medula óssea (Bain, 2016).

### **Índice de Distribuição do Tamanho das Plaquetas**

O índice de distribuição do tamanho das plaquetas (“Platelet Distribution Width”- PDW) representa a heterogeneidade de volumes das plaquetas presentes numa dada amostra, é definido como índice de anisocitose.

Este parâmetro pode ser útil na diferenciação entre uma trombocitemia essencial (PDW aumentado) de uma trombocitose reativa (PDW normal). Valores diminuídos não fornecem nenhuma informação com valor clínico (Bain, *et al.*, 2017).

## **12. Esfregaço de Sangue Periférico**

Após a realização do hemograma, um esfregaço de sangue periférico, corado permite avaliar resultados do estudo morfológico das 3 linhas celulares (mielóide, eritróide e linfóide).

Uma contagem relativa de leucócitos e plaquetas e uma contagem diferencial de leucócitos podem fornecer informações complementares, no diagnóstico de determinadas patologias, sobre o estado do indivíduo comparação com a história clínica (Keohane, *et al.*, 2016).

O esfregaço de sangue periférico só é realizado quando tal se justifica, dependendo de determinados critérios (Tabela 3). No final, a amostra é observada ao microscópio ótico na objetiva de (100x).

**Tabela 3.** Critérios para Elaboração de um Esfregaço Sanguíneo.

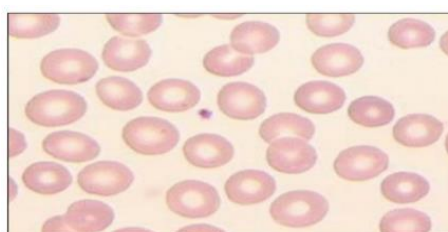
Concentração de hemoglobina Homem $\leq 12,0$ g/dL ou $\geq 17,0$ g/dL
Concentração de hemoglobina Mulher $\leq 11,0$ g/dL ou $\geq 15,0$ g/dL
RDW $\geq 15,0\%$ CV (coeficiente de variação)
Contagem Plaquetas $< 150 \times 10^3/\mu\text{l}$ ou $> 500 \times 10^3 / \mu\text{L}$ sem histórico
Contagem total de leucócitos $< 150 \times 10^3$ U/L ou $> 500 \times 10^3$ U/L*
Eosinófilo $\geq 15\%$
Monócitos $\geq 15\%$
Basófilos $> 3\%$
Qualquer inversão de Fórmula com WBC $\geq 8,0 \times 10^9/\text{L}$ ou Linfócitos $\geq 50\%$
Inversão de Fórmula com diferença de 10% linfócito $>$ Neutrófilo
MCV $< 75$ ou $> 105$ fl
MCHC $> 37,0$ g/dl

#### 14. Avaliação Morfológica da Série Eritrocitária

Os eritrócitos normais são células sem núcleos, e caracterizam-se por apresentarem forma de disco bicôncavo, com tamanho, cor e forma diferente. No esfregaço de sangue periférico sendo possível observar algumas inclusões intracelulares (Turgen , *et al.*, 2012).

Nos eritrócitos normais de um indivíduo saudável, a cor varia do rosa a vermelho é refletida pelo conteúdo de hemoglobina com uma zona pálida que ocupa 1/3 da área representando a sua biconcavidade (Turgen , *et al.*, 2012).

De acordo com os índices hematimétricos: Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (MCH) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) pode classificar-se Glóbulos Vermelhos normocíticos e normocrômico (Figura 4).



**Figura 4.** Esfregaço de Glóbulos Vermelhos Normocíticos e Normocrômico (Adaptado Rios & Carvalho, 2020).

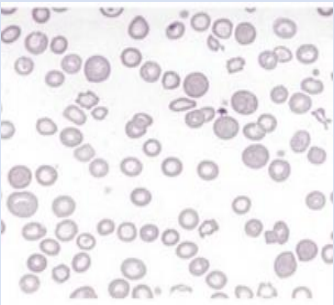
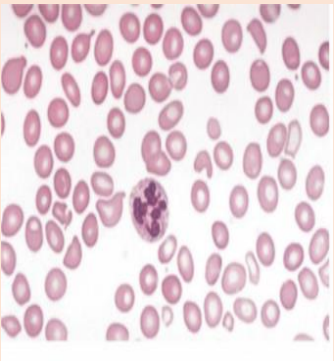
## Alteração Morfológica quanto ao Tamanho e Cor dos G V

Um glóbulo vermelho completamente maduro, que contem hemoglobina normal, o seu tamanho médio aproximado é de 7,2  $\mu\text{m}$  (normocítico), podendo sofrer pequenas alterações variam de tamanho entre 6,8 a 7,5  $\mu\text{m}$ . Ou ainda ter os glóbulos vermelhos com a distribuição de tamanho menor (<6,2  $\mu\text{m}$ ), microcíticos ou ter um diâmetro maior (>8,2  $\mu\text{m}$ ) conhecido como anisocitose (Turgeon, 2018) (Figura 5).

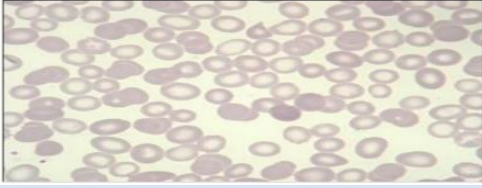
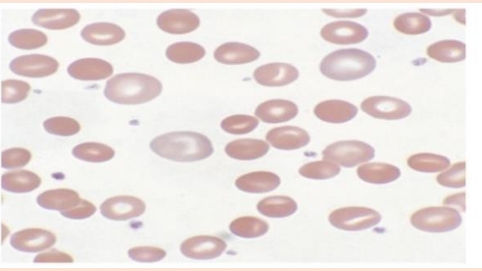
### Anisocitose

Anisocitose: consiste no aumento da grande variação e distribuição do tamanho dos eritrócitos que se pode deduzir por um valor de RDW  $\geq 15\%$  Figura 5.

O índice de variação de anisocitose (RDW) não é específico das anemias, porque indica apenas o tipo de variações relacionado ao tamanho dos eritrócitos. Na sua maioria está presente nas alterações das doenças hematológicas. Quando num resultado de um aparelho automatizado ocorre um aumento da distribuição do tamanho dos glóbulos vermelhos (RDW) é indicativo de anisocitose (Rios & Carvalho, 2020).

Alteração Tamanho	Diâmetro	Situação Clínica
<p>Microcitose</p> 	(< 6,2 $\mu\text{m}$ )	<b>EX:</b> Deficiência de ferro, Recém-nascidos, reticulócitos diminuídos, talassemias, intoxicação pelo cumbo e em anemias sideroblasticas (Adaptado Nunes & Melo, 2013).
<p>MAcrocitose</p> 	(> 8,2 $\mu\text{m}$ )	<b>EX:</b> deficiência de vitamina B12 ou folato, uso abusivo de álcool, certos medicamentos, doenças endócrinas, hepáticas, mielodisplasia (Adaptado Nunes & Melo, 2013).

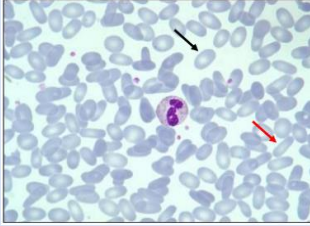
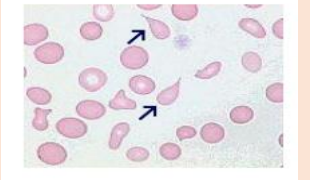
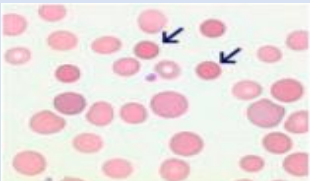
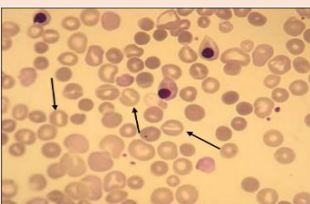
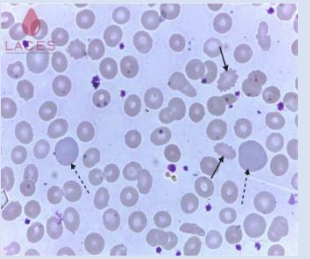
**Figura 5.** Alteração Morfológica quanto Tamanho dos Eritrócitos.

Alteração Coloração	Situação Clínica
<p data-bbox="240 232 715 300">Hipocromia</p> 	<p data-bbox="756 232 1433 501"><b>Ex:</b> Hemorragias que podem causar deficiência de ferro, anemia sideroblástica, doença inflamatória crónica ou maligna, traço talassémico ou defeito genético da hemoglobina (Adaptado Nunes &amp; Melo, 2013).</p>
<p data-bbox="240 546 715 613">Hiper Cromia</p> 	<p data-bbox="756 613 1433 824"><b>EX:</b> Estão presentes em situações de anemias hemolíticas associadas a macrocitose, policromatófilos e poiquilocitose (Adaptado Nunes &amp; Melo, 2013).</p>

**Figura 6.** Alteração Morfológica quanto à Cor do Glóbulo Vermelho.

### Alteração quanto á Forma do Glóbulo Vermelho

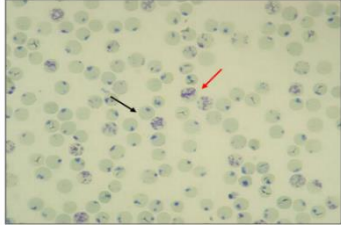
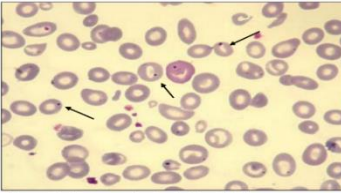
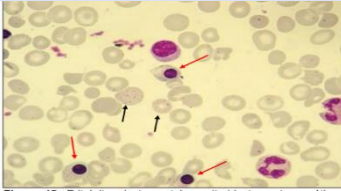
Qualquer alteração na forma do glóbulo vermelho perante uma situação anormal, é denominado poiquilocitose. Estas alterações surgem de diversos fatores que podem estar eventualmente associados a patologias com alteração da membrana do eritrócito (física, química ou biológica) ou ainda podem surgir alterações no conteúdo de hemoglobina assim com da produção e libertação de células anormais a nível da médula óssea para circulação periférica. A poiquilocitose caracteriza-se pela presença de células com formas específicas podem associadas a uma ou várias patologias descritas na Figura 7 (Nunes & Melo, 2013).

Alteração Tamanho	Caraterísticas	Situação Clínica
<p><b>Eliptocitos</b></p> 	<p>A presença de proteínas na membrana alteram a forma bicôncava do glóbulo tornando elíptica (palito) ou oval (ovo).</p>	<p><b>EX:</b> Anemias por deficiências de ferro, anemias megaloblásticas, talassemias, mielofibrose, síndrome de mielodisplasia (SMD) (Adaptado Rios &amp; Carvalho 2020).</p>
<p><b>Dacriócitos</b></p> 	<p>Eritrócito em forma de lágrima.</p>	<p><b>EX:</b> Anemias ferropenic, megaloblástica, talassemias, fibrose. doenças, anemias por deficiência de G6PD ou anemia hemolítica microangiopática (Adaptada Rios &amp; Carvalho 2020).</p>
<p><b>Esferocitose</b></p> 	<p>Forma esférica e mantem o conteúdo de hemoglobina, densamente corados, pequena dimensão do volume e ausência de alo central pálido.</p>	<p><b>Ex:</b> Anemias hemolíticas (esferocitose hereditária, doença hepática, alcoolismo), e em alguns casos raro o fenotipo anticorpo e fator Rh nulo (Adaptada Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p><b>Estomatócitos</b></p> 	<p>Apresentar uma fenda na zona central da célula pálido.</p>	<p><b>EX:</b> Hepatopatia, alcoolismo. e, em alguns casos existe especificidade entre o raro fenótipo anticorpo e o fator Rh nulo (Adaptado Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p><b>Acantócitos</b></p> 	<p>Não apresenta zona central pálida. Observa-se espêculos de variados tamanhos e em menor número, com projeções citoplasmáticas distribuídas espaçadas entre si irregularmente a volta da célula.</p>	<p><b>EX:</b> Hepatopatia, insuficiência renal, abetalipoproteinemia (Adaptado Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>

**Figura 7.** Alteração Morfológica quanto Forma do Glóbulo Vermelho.

## Inclusões Eritrocitárias

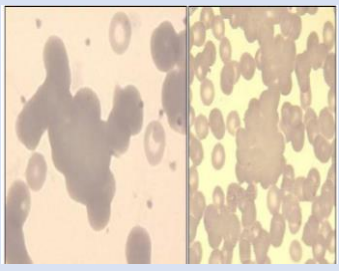
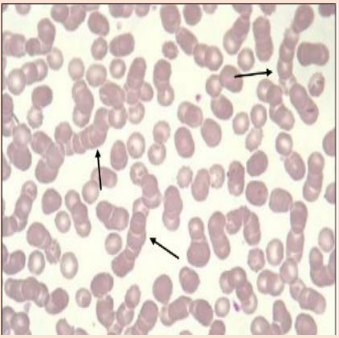
Os glóbulos vermelhos podem apresentar inclusões devido à presença de microrganismos em seu interior, ou de percusores remanescentes do material nuclear ou de mitocôndrias.

Alteração Tamanho	Caraterísticas	Situação Clínica
<p><b>Corpúsculos de Heinz</b></p> 	<p>Deficiência da enzima glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) ou uso de drogas oxidantes (sulfassalazina, naftlalina). são visíveis</p>	<p><b>EX:</b> Pacientes esplenectomizados, hemoglobinopatias, <math>\beta</math>-talassémia, anemia falciforme, Anemias hemolíticas, icterícia do Recém-nascido (Adaptada Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p><b>Corpos de Howell-Jolly</b></p> 	<p>Excessos da fragmentação dos ácidos nucleicos, Mau funcionamento do baço. Pequenas inclusões redondas e basofílicas únicos no interior dos GV e ou em eritroblastos.</p>	<p><b>EX:</b> Hipoesplenismo e anemias após esplenectomia anemias hemolíticas em geral, nas anemias megaloblásticas (Adaptada Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p><b>Ponteado Basófilo</b></p> 	<p>Inclusões granulares redondas, fininhas ou grosseiras, e inclusivas com RNA ou resíduos mitocôndrias num único glóbulo vermelho.</p>	<p><b>EX:</b> Anemia ferropriva e <math>\beta</math> talassémia menor, infecções bacterianas severas, doenças hepáticas, megaloblásticas, intoxicação por chumbo, mielofibrose idiopática (Adaptada Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>

**Figura 8.** Alteração Morfológica de Inclusões Eritrocitárias.

## Alterações na Distribuição Eritrocitária

Nos achados eritrocitários também é possível observarem-se irregularidades na distribuição dos eritrócitos. Estes podem apresentar-se aglutinados ou empilhados.

Alteração Tamanho	Caraterísticas	Situação Clínica
<p>Eritrócitos aglutinados</p> 	<p>Surgem na sequência das reações antigénio-anticorpo e levam a ativação do complemento quando mediados por processos imunológicos. Os GV revestidos por anticorpos podem-se aglutinar formando “cachos”.</p>	<p><b>EX:</b> Anemias hemolíticas autoimunes causada por doença de crioaglutininas frias (hemólise intravascular, Icterícia, esplenomegalia), doença de aglutininas frias ( anticorpos) Também podem ocorrer após transfusões (Adaptada Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p>Rouleaux</p> 	<p>Quando se observam eritrócitos uns sobre os outros na sequência da redução de suas cargas negativas causam a modificação da consistência da membrana, aumentam a velocidade de sedimentação, de fibrinogênio, em condições inflamatórias e infecciosas.</p>	<p><b>EX:</b> Gravidez pode apresentar empilhamento de glóbulos vermelhos, não apresentando qualquer valor clínico e é frequente observar-se “rouleaux” no mieloma múltiplo e em alguns linfomas (Adaptada Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>

**Figura 9.** Alterações Morfológicas na Distribuição Eritrocitária.

#### 14. Avaliação Morfológica da Série Leucocitária

Os leucócitos ou glóbulos brancos são células sanguíneas mais complexas e de maior tamanho comparando com os glóbulos vermelhos normais do sangue periférico. Existem cinco populações diferentes. Os leucócitos polimorfonucleares ou granulócitos.

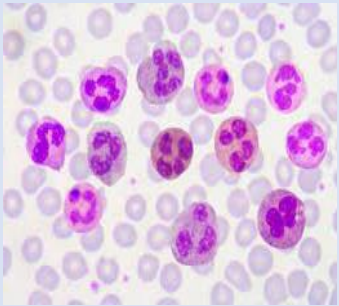
Estes têm núcleo lobulado com variações na sua forma, e granulações citoplasmáticas que divergem nas caraterísticas de coloração. Neutrófilo, Eosinófilo, Basófilo e os mononucleares em (monócito e linfócito), (Bain 2015) Figura 10.

A técnica de observação morfológica do esfregaço sanguíneo no laboratório do CSMC, usa a coloração de May-Grunwald-Giemsa, em lâmina, que permite identificar e fazer contagem destas células através de características que eles apresentam, como a forma e a cor, diferenças estruturas e outras inclusões presentes no citoplasma. Os componentes ácidos das células, como ácido nucleicos e proteínas do núcleo, são corados pelo azul de metileno (corante básico) apresentado uma coloração azul a roxo. Os grânulos dos basófilos contêm heparina que tem afinidade para o corante básico, corando de roxo escuro; os grânulos dos eosinófilos contêm um derivado de espermina com um grupo alcalino que cora

com a eosina (corante ácido) apresentando uma aparência de vermelho-alaranjado; os grânulos dos neutrófilos com o pH neutro e coram tanto com eosina como com azul de metileno, corando de violeta claro (Bain 2015).

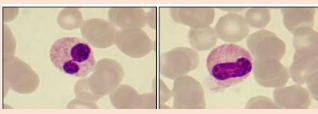
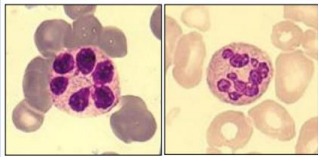
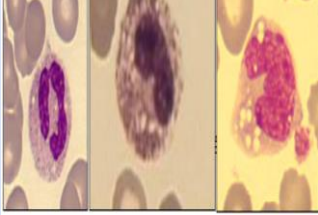
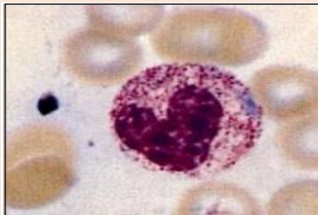
As alterações morfológicas da série leucocitária geralmente surgem em patologias com desvio à esquerda. Podem estar associadas as reações leucemóide e leucemia mieloide crônica (LMC) ambas patologias não se distinguem e são muito confundidas com leucocitose quando existem informações adicionais no resultado informativo do leucograma. Na leucemia mielóide crônica ocorre um aumento das células imaturas com picos dos estágios de mielócitos e neutrófilos segmentados ao passo que, na reação leucemóide acontece uma progressão ordenada dos estágios de maturação sem que ocorra oscilação de fase (Rodak, 2013).

A neutrofilia é caracterizada pelos resultados anormais da “fórmula leucocitária” quando aparecem neutrófilos aumentados com desvio a esquerda na presença de neutrófilos imaturos ou com alteração no citoplasma com granulações tóxicas, vacúolos citoplasmáticos e corpos de Döhle Figura 11. As causas mais comuns da neutrofilia são resposta a infecções bacterianas, ou doença inflamatória, traumatismo, vasculite, infarte do miocárdio, doença metabólica (acidose, uremia), neoplasias, leucemia mielóide crônica, mieloproliferativas e uso de fármacos (corticosteróides) (Hoffbrand, 2013) (Figura 11).

Avaliação Tamanho	Caraterísticas
<p data-bbox="225 1346 564 1406">Neutrófilo Normal</p> 	<p data-bbox="587 1346 1418 1711">Os neutrófilos são células com um diâmetro que pode oscilar entre 10 a 15µM, núcleos visíveis com 3 a 5 lobulações, palidez citoplasmática com contornos irregulares e abundantes granulações finas acimentadas que não são individualmente distinguidas. Os neutrófilos são as primeiras células a serem recrutadas para o local de inflamação para fagocitarem agentes patogénicos. Por vezes pode existir um aumento do número de neutrófilos em banda (forma imatura) ou de formas mais imaturas que se denomina como desvio à esquerda (Bain B. , 2015).</p>

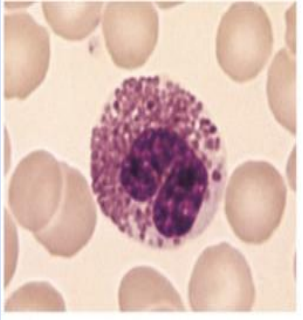
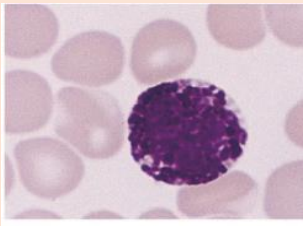
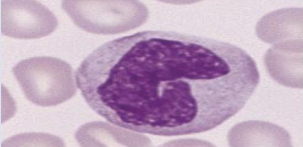
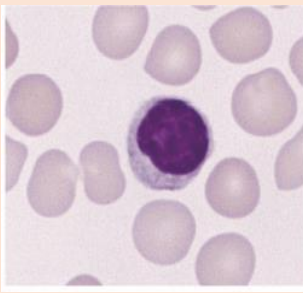
**Figura 10.** Avaliação Morfológica da Série Leucocitária.



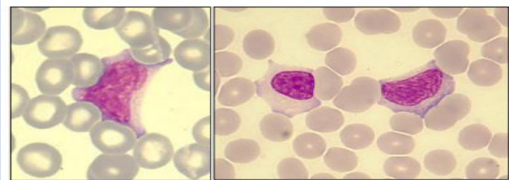
Alteração Neutrófilos Jovens	Característica
<p data-bbox="159 280 469 336">Hipossegmentação</p> 	<p data-bbox="507 302 1339 414">Pelger-Huët: Está associada a neutrófilos com um núcleo pequenos, mono ou bilobulado segmentado, cromatina muito condensada (Adaptada Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p data-bbox="159 492 469 593">Neutrófilo Hipersegmentado</p> 	<p data-bbox="507 504 1339 739">Caraterizam-se por apresentarem inclusões com 6 lóbulos. <b>EX:</b> anemia megaloblástica por deficiência de folato e/ou vitamina B12, síndromes mieloproliferativas e mielodisplásicas, infecções crônicas (tuberculose), após tratamento citotóxico (metotrexato), uso de hidroxiureia ou corticóides (Adaptada de Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p data-bbox="159 806 469 851">Vacúolos citoplasmáticos</p> 	<p data-bbox="507 806 1339 907">Caraterizam-se pela presença circulares uma ou mais areas sem cor no citoplasma dos leucócitos (neutrófilos e monócitos), resultantes de processos infecciosos. <b>EX:</b> Associada a infeções bacteriana ou fúngica, (sepsis), envenenamento, queimaduras de áreas extensas e após quimioterapia. Podem estar presentes após longa exposição ao EDTA, como artefactos (Adaptada Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p data-bbox="159 1120 469 1187">Corpos de Döhle:</p> 	<p data-bbox="507 1120 1339 1254">Inclusões alongadas e acinzentadas compostas por RNA ribossomal localizadas próximas à membrana dos neutrófilos, consequentemente com variedade de formas presentes no retículo endoplasmático. <b>EX:</b> Podem estar associadas nas infeções bacterianas (pneumonia pneumocócica, erisipela), inflamações, (queimaduras de áreas extensas) e, fisiologicamente (Gravidez) (Adaptada Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>

**Figura 11.** Alterações Morfológica dos Neutrófilos (Núcleo e Citoplasma).

Descrevem-se a seguir as caraterísticas morfológicas dos eosinófilos, basófilos, monócitos, linfócitos e alteração dos linfócitos. Figuras 12 e 13.

Leucócitos	Característica
<p>B - Eosinófilos</p> 	<p>São de maior tamanho, núcleo bilobado, cromatina condensada e múltiplos grânulos eosinofílicos de cor vermelho-alaranjado. São células com fraca expressão fagocítica.</p> <p>A principal função dos eosinófilos é exercida em resposta ao estímulo exagerado de infecções alergias, infecções por parasitas (helmintas). Outras causas de eosinofilia observam-se nas situações de hiperssensibilidade do tipo atópico (medicamentosa ou alimentar), neoplasias mieloproliferativas e em respostas inflamatórias (Hoffbrand, 2013).</p>
<p>C- Basófilos</p> 	<p>São a única população leucocitária em percentagens muito baixa no sangue periférico normal. Apresentam citoplasma com numerosos granulos escuros basofílicos densamente corados. São células não fagocíticas. Participam nas respostas alergicas e a certos parasitas (Hoffbrand, 2013).</p> <p>Basófilia: apenas surge em distúrbios mieloproliferativos como leucemia linfocítica crónica e nas reações leucimóides (Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p>D - Monócitos</p> 	<p>São células de maior tamanho em circulação. Possuem um citoplasma abundante com vácuolos finos de cor azul esbatido, grande núcleo e curvado sem segmentação.</p> <p>Monócitose: ocorre em algumas infecções bacterianas como doenças inflamatórias crónicas, (tuberculose, a doença de Crohn e a leucemia mielóide crónica) (Hoffbrand, 2013).</p>
<p>E - Linfócitos</p> 	<p>São caracterizados pelo tamanho pequeno, um núcleo ovóide ou reniforme corado de roxo, cromatina densa e compactada, citoplasma azul-claro ocupando aproximadamente 90% da célula. Os linfócitos são células imunológicas, desempenham um papel fundamental em todos os mecanismos de defesa do organismo.</p> <p>Linfocitose: é causada por infecções virais agudas (mononucleose infecciosa, citomegalovírus, HIV, Herpes, toxoplasmose, sífilis e de outros invasores celulares como (tuberculose) (Hoffbrand, 2013).</p>

**Figura 12.** Avaliação Morfológica de Granulócitos e Mononucleares.

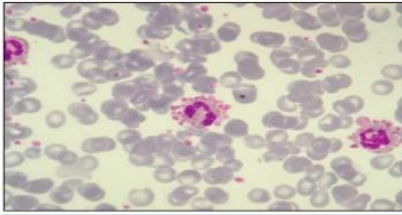
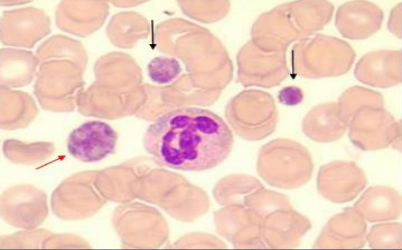
Alteração Linfocitos	Característica
<p>Linfócitos Reativos</p> 	<p>Os linfócitos que sofrem alguma alteração de modo geral, respondem á infecções virais ou outros estímulos imunológicos. Surgem mudanças ao nível da forma que os torna linfócitos reativos (Hoffbrand, 2013).</p>

**Figura 13.** Alteração Morfológica dos Linfócitos.

## 15. Avaliação Morfológica da Série Plaquetar

As plaquetas são fragmentos muito pequenos e redondos, com um diâmetro de  $3 \times 0,5 \mu\text{m}$  e um volume médio que varia entre 7 a 11 fl. Os valores de referência que estão estabelecidos como intervalo de referência para a contagem de plaquetas abrange as  $150\text{-}400 \times 10^9/\text{L}$  plaquetas e têm vida média entre 7 e 10 dias.

É de extrema importância à avaliação das plaquetas num esfregaço de sangue periférico, deve-se ter em atenção o seu número, tamanho e morfologia e a possível presença de fenómenos como: satelitismo plaquetar, agregação plaquetar, ou fagocitose das plaquetas (Bain B. 2015).

Avaliação Quanto ao Tamanho	Característica
<p data-bbox="146 864 563 929">Agregado Plaquetar</p> 	<p data-bbox="600 853 1369 994">Pelo fato de se poderem encontrar diminuídas em algumas situações raras induzidas pelo uso de anticoagulante EDTA, ou pela formação de coágulos numa amostra de sangue (Hoffbrand, 2013).</p> <p data-bbox="600 1014 1369 1155">Também é importante saber distinguir num esfregaço de sangue periférico entre uma trombocitopenia das pseudotrombocitopenia Figura 16 (Adaptado Rios &amp; Carvalho, 2020).</p>
<p data-bbox="146 1191 563 1256">Plaquetas Gigantes</p> 	<p data-bbox="600 1180 1369 1321">Relacionadas com situações associadas a doenças hereditárias ou adquiridas. É importante avaliar em simultâneo VPM assim como também PWD (Figura 14) (Rios &amp; Carvalho, 2020).</p> <p data-bbox="600 1341 1369 1527"><b>EX:</b> Doenças cardiovasculares; trombozes; doenças mieloproliferativas (leucemia mieloide crônica e policitemia vera, trombocitopenias congénitas, que constituem um grupo de doenças hemorrágicas ou com tendência (Hoffbrand, 2013).</p>

**Figura 14.** Alteração Morfológica da Série Plaquetar.

## 16. Hemóstase

A hemostase é caracterizada como um processo fisiológico mediado por um sistema complexo que após o dano vascular uma forma de evitar que ocorram hemorragias para manutenção da integridade vascular, para manter o sangue fluído e dissolução de coágulos quando se completar o processo de reparação e cicatrização (Nunes & Melo, 2013).

A hemostase é controlada através dos mecanismos equilibrados entre os processos da hemorragia e de coagulação e funciona como um sistema de regulação indispensáveis para sua sobrevivência. Pode ser dividida em duas (Nunes & Melo, 2013).

**1º Hemostase primária:** distingue-se pela vasoconstrição dos vasos sanguíneos após uma lesão, redução do fluxo sanguíneo e á ativação das plaquetas.

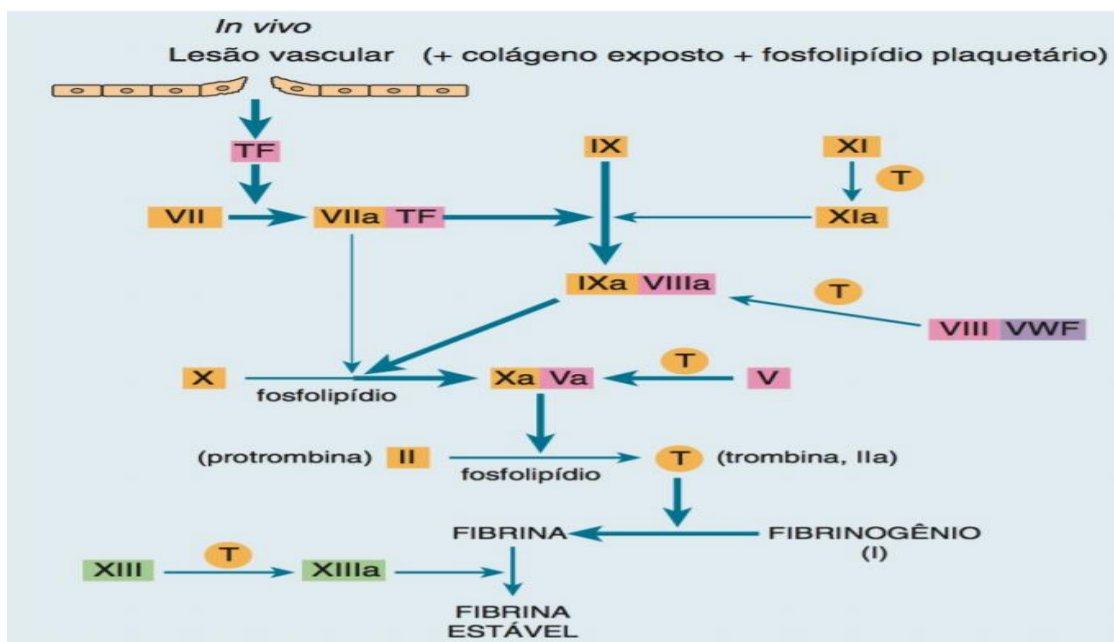
As plaquetas ativadas ao aderirem o local da lesão são induzidas a libertarem conteúdos dos grânulos das plaquetas fundamentais para se dar o início da coagulação por serem intrinsecamente dependentes do fator Von Willebrand (VWF) (Nunes & Melo, 2013).

**2º Hemostase secundária:** caracteriza-se por se dar num estado mais demorado e de maior tempo (estável), que promove ativação das proteínas plasmáticas para o controle temporário da hemorragia. (ADP e TXA<sub>2</sub>) são suficientes para reforçar e controlar o local exposto na sequência de uma lesão endotelial. A conversão de fibrinogénio a fibrina dá-se pelas vias da cascata de coagulação plaquetar primária tornando mais estável (ilustradas na figura seguinte) (Nunes & Melo, 2013).

Todo o processo da ativação da cascata de coagulação é limitado ao local da lesão, pelo que uma ativação descontrolada e extensiva manifesta-se geralmente nas doenças de coagulação intravascular disseminada (CIVD), hemorragias, trombose muitas das vezes com resultados fatais (Keohane, *et al.*, 2016).

**Cascata da coagulação** encontra-se dividida em três vias separadas, a via extrínseca, a via intrínseca que convergem numa via comum.

São parâmetros muito utilizados para se avaliar e interpretar resultados laboratoriais, assim como para avaliação e identificação de indivíduos que carecem de fatores de coagulação Figura 15.



**Figura 15.** Via da coagulação do sangue iniciada pelo fator tecidual (TF) na superfície da célula. Quando o plasma entra em contato com o FT, o fator VII liga-se ao FT. O complexo TF e VII ativado (VIIa) ativa X e IX. O inibidor da via do FT (TFP) é um importante inibidor de TF/VIIa. O complexo VIIIa-IXa amplia muito a produção de Xa a partir de X. A geração de trombina a partir da protrombina pela ação do complexo Xa-Va conduz á formação de fibrina. A trombina também ativa a formação de VIIIa-IXa, e assim, de Xa-Va. Verde-claro, serina-protease; amarelo, cofatores. (24.7) (Adaptado Nunes & Melo, 2013).

No Laboratório de rotina os testes da coagulação sanguínea são úteis para avaliação da hemostase são determinados os seguintes parâmetros: Tempo de Protrombina (TP), Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa) e Doseamento do Fibrinogênio.

### Tempo de Protrombina (TP)

Tempo de Protrombina é um teste usado para avaliar a funcionalidade da via extrínseca (VII), e comum (fibrinogênio, protrombina e fatores II, V, X) da cascata de coagulação, simultaneamente com a geração da trombina e a conversão do fibrinogênio em fibrina.

O tempo de protrombina é útil para fazer a monitorização de indivíduos que fazem uso de anticoagulantes orais (varfarina anda ao mesmo da vitamina K), despiste de deficiências de determinados fatores de coagulação, em distúrbios da coagulação hereditários ou adquiridos assim como na detecção de disfunções hepáticas (Nunes & Melo, 2013).

Os valores correspondentes aos intervalos de referência variam entre os laboratórios de acordo com o instrumento utilizado, devendo cada um estabelecer o seu

valor para o controle da qualidade segundo a fonte de tromboplastina e a metodologia utilizada para obtenção do coágulo de fibrina. O resultado é expresso em segundo entre (10-14/ S), também pode ser expresso pelo valor da Razão Internacional Normalizada (INR), que permite fazer a comparação e correção de resultados processados em laboratórios diferentes (Nunes & Melo, 2013).

O INR é obtido através do cálculo da razão entre o PT do doente e o PT de um plasma controlo, tendo em conta o Índice de Sensibilidade Internacional (ISI) na seguinte fórmula:

$$\text{INR} = \frac{(\text{PT} + \text{PT teste}) \text{ ISI}}{\text{PT Normal}}$$

### **Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (aPTT)**

O tempo de tromboplastina parcial ativada por sua vez, é o tempo necessário para que ocorra a coagulação do plasma, após adição de um componente fosfolipídico da tromboplastina, cloreto de cálcio e um ativador.

O aPTT é um parâmetro que permite avaliar a eficácia da via intrínseca através dos fatores (VIII, IX, XI e XII), e comum (fibrinogénio, protrombina, fatores (V e X) da coagulação.

Este parâmetro é útil para avaliar deficiências nos fatores hereditários ou adquiridos da coagulação que representam distúrbios em situações comuns no prolongamento hemorrágicos, rastreio da hemofilia A e B (entre outras coagulopatias), assim como na presença de anticoagulante (heparina, lúpico ou de anticoagulantes circulantes), transfusão sanguínea com sangue armazenado, coagulação intravascular disseminada bem como na monitorização da terapêutica como a heparina (Nunes & Melo, 2013).

### **Doseamento do Fibrinogénio**

O fibrinogénio é uma proteína plasmática sintetizada no fígado, está envolvida na cascata de coagulação. A diminuição dos valores de fibrinogénio está associada a doença hepática grave, ao passo que os aumentos dos valores se verificam nas situações fisiológicas como: doença inflamatória crónica e gravidez. O doseamento do fibrinogénio é útil para diagnosticar situações alteradas de coagulação intravascular disseminada, fibrinólise primária e é feita com base no método de Claus (Keohane, *et al.*, 2016).

Consiste na medição do tempo de coagulação do plasma do utente, após adição de um reagente de elevada concentração de trombina, fundamental para ocorrer a conversão

do fibrinogénio em fibrina. Existe uma relação inversamente proporcional entre o tempo que se dá a formação do coágulo e a concentração de fibrinogénio (Keohane, *et al.*, 2016).

O doseamento do Tempo de Protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e fibrinogénio (FIDA) são determinados no aparelho Yumizen G400TM.

## **17. Velocidade de Sedimentação**

A velocidade de sedimentação (VS) é um parâmetro laboratorial sensível e não específico para nenhuma doença em particular, baseado no princípio da taxa sedimentação de glóbulos vermelhos no plasma de uma amostra sanguínea cuja leitura pode ser feita manual ou automática na maioria dos casos os resultados observam-se ao fim de 1 hora e o resultado é expresso em milímetros (mm/h) (Guarner, Dolan, & Cole, 2015).

A VS é um marcador inespecífico que nos dá informações clínicas úteis nas doenças que cursam com processos inflamatórios, associados a produção de proteínas de fase aguda (PCR) e em outras hiperproteinemias no estabelecimento de diagnóstico de neoplasia, doenças inflamatórias, visto que existem vários fatores ou influenciam na sua interpretação dos resultados (idade, sexo, medicação e ou gravidez).

Por isso, a confirmação deve ser sempre baseada de acordo com a história clínica nos indivíduos que são submetidos a terapêuticas como quimioterapia, cirurgia ou transfusões além de auxiliarem na monitorização da resposta terapêutica (Guarner, Dolan, & Cole, 2015).

## **18. Determinação de Grupos Sanguíneos Sistema AB0/Rh**

A determinação dos grupos sanguíneos no AB0, tem utilidade em diversas situações clínicas como transfusões e rastreio pré-natal para prevenir ocorrências de incompatibilidades em reações transfusionais.

O Sistema AB0 nas hemácias assenta em dois tipos de glicoproteínas que podem ser expressas nas suas membranas, chamados de antígeno A e antígeno B responsáveis pela determinação do fenótipo sanguíneo.

A definição do grupo sanguíneo de um indivíduo pode ser realizado por duas provas. Prova direta para pesquisar antígenos A e B presentes nas hemácias do utente seguida de uma prova reversa que faz a pesquisa de anticorpos. A prova reversa é uma contraprova fundamental para conclusão do exame é feita com hemácias tipadas.

O Sistema ABO para tipagem dos grupos sanguíneos permite classificar em 4 fenótipos distintos A, B, AB e 0 (zero). Os indivíduos do grupo A têm antígeno A e anticorpos anti-B. Os do grupo B têm antígeno B e anticorpos anti-A. Os do grupo AB têm antígeno A e B, mas não têm de quaisquer tipos de aglutininas. Finalmente os utentes do grupo O (zero) têm anticorpos A e anticorpos B, mas não têm qualquer tipo de antígeno (SILVA., MENDES., SOUSA., LUZ., & MEDEIROS, 2010).

Os anticorpos naturais anti-A e anti-B contra antígenos A ou B frequentemente são da classe IgM com raridade do tipo IgG, são encontrados no plasma de indivíduos cujos eritrócitos não têm antígeno correspondentes para A, B ou AB e que nunca estiveram em contatos com eles, por meio de transfusões ou gravidez prévia.

A classe IgG é único anticorpo imune que consegue atravessar a placenta passando da mãe para o feto. A determinação do anticorpo, anti D e antígeno Rh são a mais importante do sistema ABO, e é o responsável pelas reações clínicas em indivíduos Rh (-) (Hoffbrand, 2013).

Os resultados da determinação dos grupos sanguíneos interpretados de acordo com o Sistema ABO, é fundamental nos bancos de sangue para seleção ou suspensão de receptores a fim de maximizar a segurança de dadores que é posta para realizar transfusão sanguínea ou transplantes de órgãos, no sentido de prevenir ocorrências de incompatibilidades (Hoffbrand, 2013).

As determinações dos grupos sanguíneos assentam nas reações antígeno-anticorpos com base nos antígenos A, B e D presentes nas membranas dos glóbulos vermelhos, assim como os anticorpos específicos para os antígenos correspondentes.

**Tabela 4.** Determinação dos Grupos Sanguíneos com base na aglutinação da Prova Direta e Prova Sérica e os Antígenos Eritrocitários correspondentes.

Prova direta (sangue Total)	Antígenos Eritrocitários			Prova Sérica (soro)
	Anti-A	Anti-B	Anti-D	
A Rh+	+	-	+	Anti-B
A Rh-	+	-	-	Anti-B
B Rh+	-	+	+	Anti-A
B Rh-	-	+	-	Anti-A
AB Rh+	+	+	+	Ausente
AB Rh-	+	+	-	Ausente
O Rh+	-	-	+	Anti-A e Anti-B
O Rh-	-	-	-	Anti-A e Anti-B



O sistema Rh é constituído por dois tipos de genes estruturais que codificam proteínas membranares que têm antígenos D, Cc e Ee. Neste contexto o gene RhD pode ser detetado nos indivíduos com Rh (D+) ou não detetado resultando nos indivíduos com Rh (D-) na superfície das hemácias.

Os anticorpos Rh, dificilmente são detetados na corrente sanguínea de forma natural (SILVA., MENDES., SOUSA., LUZ., & MEDEIROS, 2010).

Geralmente o anticorpo anti-Rh é o mais imunogénico, resulta de reações imunes mediadas de respostas á introdução por transfusão ou pela passagem por meio da placenta durante a gravidez de eritrócitos que possuam antígenos ausentes no sangue no individuo. A determinação do Rh é de extrema utilidade para os utentes do grupo D negativo, quando submetidos com grupos sanguíneos D positivo com finalidade clínica. Serve para monitorizar mulheres grávidas com anticorpo anti-Rh negativo que possam contactar com anticorpos anti-Rh positivo mediante exposição com células sanguíneas do feto com anticorpo anti-Rh positivo podem causar doença hemolítica do recém-nascido (Hoffbrand, 2013).

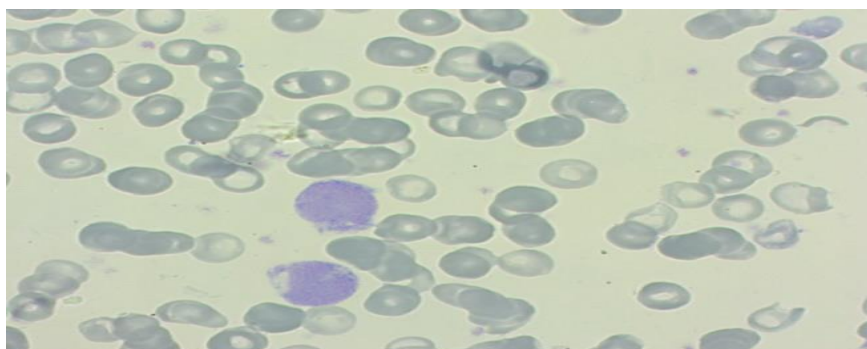
## 19. Caso Clínico n.º I

Um utente do sexo masculino, caucasiano, com 69 anos de idade, apresentou-se para realização de análises de rotina. Os resultados do hemograma estão a seguir.

**Tabela 5.** Resultados do Hemograma – Bioquímica.

<b>Hemograma</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor de Referência</b>	
Eritrograma	3,60 ×10 E12/	4,5 – 6,5	
Hemoglobina	9,2 g/dl	13,0– 17,0	
Hematócrito	30,9%	40 – 50	
VGM	86,0 fl	83 – 101	↔
HGM	26,0 pg	27 – 32	
CHGM	30,2 g/dl	31,5 – 34,5	
RDW	18,7%	0,00 – 15,0	
<b>Leucograma</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor de Referência</b>	
Leucócitos	3,9 × 10 E 9/L	4,0 – 11,0	
Neutrófilos	65%	40 – 80	↔
Eosinófilos	2%	1 – 6	↔
Basófilos	1%	<2	↔
Monócitos	9%	2 – 10	↔
Linfócitos	23%	20 – 40	↔
<b>Plaquetograma</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor de Referência</b>	
Plaquetas	248 × 10 E 9/L	150 – 400	↔
<b>Reticulograma</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor de Referência</b>	
Reticulócitos	2,1%	0,5 – 2,5	↔
Ácido Fólico	14,3 nmol/L	7 – 46,4	↔
Vitamina B12	162 pmol/L	154 – 713	↔

<b>Bioquímica</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor de Referência</b>	
Ferritina	12ng/L	H: 23 – 336ng/ml	



**Figura 16.** Anemia Hipocrômica – Anisocitose.

## Discussão

Através da análise dos resultados do hemograma é possível perceber que o utente está com uma anemia, uma vez que a concentração da hemoglobina está abaixo dos valores de referência ( $\geq 13,0$  g/dL).

Como o Volume Globular Médio (VGM) está dentro dos intervalos de referência (83–101 fl), e a Hemoglobina Globular Média (HGM) está diminuída (27–32), significa que estamos perante uma **anemia normocítica hipocrômica**.

Estas anemias são classificadas em dois grandes grupos as microcíticas (que têm origem em deficiência de ferro) ou não microcítica (que têm origem, principalmente, por perda crónica de sangue, necessidade de ferro ou quando existe alteração no controle da expressão da hepsidina).

Portanto, suspeita-se que este caso de Anisocitose acentuada. Anisocromia. Policromia. Este tipo de anemia ocorre quando uma população de células é macrocíticas, e, outra, microcíticas e hipocrômica; os índices hematimétrico (VGM e HGM) podem ser normais ou diminuído proporcionalmente à gravidade da anemia.

## 20. Caso Clínico n.º 2

Um utente do sexo masculino, caucasiano, com 25 anos de idade apresentou-se para realização de análises de rotina. Os resultados do hemograma estão a seguir.

**Tabela 6.** Resultados do Hemograma - Microbiologia - Imunologia.

Hemograma	Resultados	Valores de Referência
Eritrograma	4,9 X 10 <sup>12</sup> /L	4,5 -6,5
Hemoglobina	14,7 g/dl	13,0 -17,0
VGM	87,1 fl	83 -101
HGM	29,7 pg	27 -32
CHGM	34.0 g/dl	31,5 – 34,5
RDW	10,8 %	0,00 – 15,0
Leucograma	Resultados	Valores de Referência
Leucócitos	16,6	4.0 – 11,0
Neutrófilos	74%	40 -80
Eosinófilos	1%	1-6
Basófilos	1%	< 2
Monócitos	10%	2 – 10
Linfócitos	14%	20 – 40
Plaquetograma	Resultados	Valor de Referência
Plaquetas	256	150 – 400

Velocidade de Sedimentação	Resultados	Valores de Referência
VS	3mm	<=10

Sumária de urina	Resultado	Valor de referência
Aspeto	Ligeiramente turvo	+
Deposito	Ligeiro deposito	+
pH	6,5	
Exame microscópico do sedimento urinário	Resultado	Valor de Referência
Células epiteliais	3/campo	10
Leucócitos	Incontáveis/campo	10
Urocultura	Resultado	Valores de Referência
Exame Direto	Raras células epiteliais e frequentes leucócito	
Gram	Alguns bacilos Gram negativos	
Exame Cultural	+(Positivo) para Escherichia Coli	

Imunologia Oncologia (MT)	Resultados	Valores de Referência idade 40-49
PSA Total	10,58ng/ml	0 – 2,5

## **Discussão**

Através do resultado do hemograma pode-se observar que os parâmetros não sofreram alteração porque os resultados encontram-se dentro dos valores de referência. Ao passo que no leucograma se observa aumento do número de leucócitos e diminuição do número de linfócitos, comparando com os valores de referência, caso sugestivo de processo infeccioso, o que vai de encontro com o exame de cultura (urina) positivo para *Escherichia coli*.

Tratando-se de um jovem caucasiano, com 25 anos de idade, a infecção do trato urinário é uma das causas mais frequentes que levam homens e mulheres a procurarem tratamento nas unidades de saúde. Logo estas alterações têm grande significado clínico, sabendo que os quadros mais comuns de infecção urinária por *E. Coli* são as cistites, inflamação da bexiga.

De acordo com os parâmetros imunológicos, apenas a concentração do Antígeno Específico da Próstata (PSA), se encontra acima dos valores de referência. O PSA é uma glicoproteína sintetizada pelas células prostáticas, muito útil para o rastreio, diagnóstico e monitorização de carcinoma da próstata.

Apesar do aumento dos níveis de PSA, estar ligado ao cancro da próstata, este também se encontrar alterado em outros tipos de situação clínica do tipo inflamatório como por exemplo (prostatites).

## **21. Secção de Imunoserologia/ Endocrinologia**

### **Sistema Imunitário**

O sistema imunológico é constituído por um conjunto de células, órgãos, tecidos e várias moléculas fundamentais a interagir, reconhecer, responder e eliminar os agentes patogénicos, a atuar contra agressões antigénicas externas que sejam estranhas e nocivas. (Burmester, *et al.*, 2005) (Figura 18).

O sistema imunológico está dividido em dois grandes mecanismos com capacidade de respostas inter-relacionadas contra substâncias que reconhecem como estranhas (non-self), através da imunidade inata e imunidade adaptativa (Arosa, Cardoso, & Pacheco, 2012).

A imunidade inata apresenta uma resposta rápida e de menor especificidade ao contato com agente patogénico, A imunidade adaptativa, apresenta respostas de maior especificidade (Burmester, *et al.*, 2005).

A imunidade inata representa a primeira linha de defesa para um dado antigénio reconhecido como estranho ao hospedeiro. Trata-se de um mecanismo independente do tipo de antigénio (não específico), entra em ação em poucas horas após o reconhecimento desse mesmo antigénio. Uma vez que este tipo de imunidade não tem memória imunológica, não é capaz de reconhecer ou “recordar” um mesmo agente patológico na sequência de uma nova exposição futura. A imunidade inata é composta por diferentes barreiras: físicas, químicas e celulares, fisiológicas e inflamatórias (Burmester, *et al.*, 2005).

A integridade da pele como barreira física, desempenha uma importante função na defesa mecânica do organismo, impedindo a penetração de microrganismos. O muco, secreções sebáceas, suor entre outras fazem parte das barreiras químicas, e são essenciais para aprisionar os invasores alojados nas células epiteliais situadas no local de entrada (mucosas, nasal, ocular geniturinário e gastrointestinal). As barreiras celulares são compostas por diferentes tipos de células fagocíticas: a destacar em primeiro lugar os neutrófilos, macrófagos e monócitos.

Estes mecanismos fazem parte do sistema inato induzem a lise do invasor ou a libertação de enzimas líticas, citotóxicas e citolíticas, interferões, lípidos quando ativadas por outros mecanismos celulares.

Os mecanismos de defesa da imunidade adaptativa só são ativados quando o sistema imunológico inato não é capaz de debelar o invasor após a não remoção do agente patogénico causador da infeção. Esta imunidade tem como principal característica a capacidade de ter memória, que permite ao hospedeiro desenvolver uma resposta imunológica mais rápida, e eficaz na segunda exposição ao mesmo antigénio. A imunidade Adaptativa Pode demorar dias até longos meses ou anos a ser detetada, no entanto é específica para o agente patogénico, tendo a capacidade de recordar e eliminar seletivamente, contribuindo para uma resposta mais rápida e eficaz num segundo encontro com o mesmo antigénio (Burmester, *et al.*, 2005).

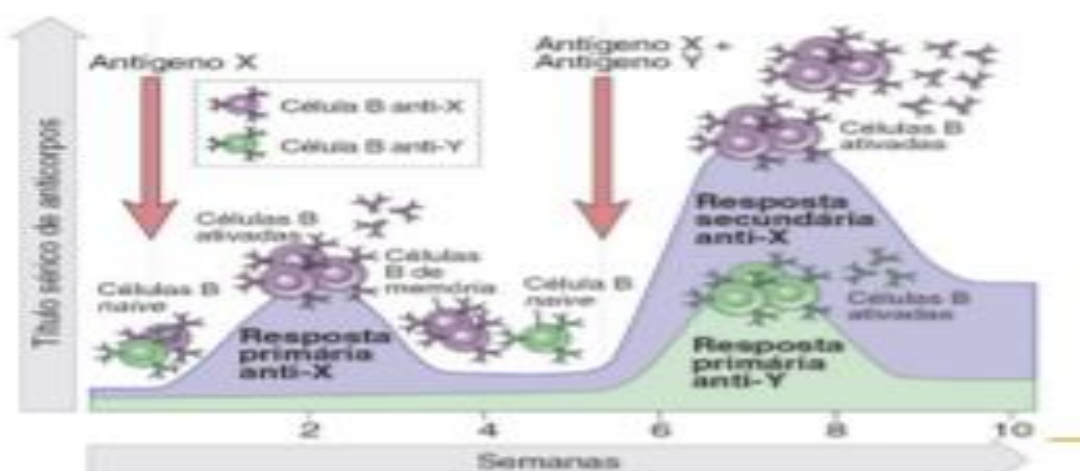
Aa células do sistema da imunidade adaptativa são compostas por linfócitos T e linfócitos B. Os linfócitos T para serem ativados é necessário que estes entrem em contacto com células especializadas mediadoras da imunidade humoral e celular, células apresentadoras de antigénio (APC), que vão permitir a seleção e diferenciação dos linfócitos

T, quando são ativadas por outras células que causam inflamação e que libertam mediadores citotóxicos para debelar o antígeno patogénico ou as células-alvo que possam estar infetadas. Esta apresentação antigénica ativa os linfócitos T que se diferenciam em linfócitos T supressores (CD3), linfócitos T Auxiliares (CD4+), linfócitos T citotóxicos (CD8+).

Os linfócitos T citotóxicos são essenciais para promoverem apoptose de células nucleadas que estejam infetados por vírus ou células tumorais, assim como as interleucinas são úteis para o bom funcionamento do sistema imunológico (Figura:17). Ao passo que os linfócitos T auxiliares são importantes para manter e aumentar as respostas do sistema imunitário, são responsáveis para coordenar outras células que têm atividade fagocítica ou citotóxica capazes de eliminar as células-alvo ou potenciais invasores patogénicos. Os linfócitos B diferenciam-se primeiro em células de memória depois em plasmócitos responsáveis pela produção das cinco classes de anticorpos solúveis, IgA, IgM, IgG, IgE, IgD (imunoglobulinas), são as mais importantes deste processo capazes de reconhecer antígenos estranhos (Burmester, *et al.*, 2005).

A resposta adaptativa inicia após ativação do linfócito B naíve mediado pela interação de células T auxiliares ou por agente invasor patogénico capaz de induzir uma resposta imune primária.

Depois da ativação dos linfócitos B, estes proliferam e diferenciam-se em células produtoras de anticorpos (plasmócitos), e linfócitos B de memória. Num segundo encontro com o mesmo agente patogénico, é desenvolvida uma resposta imune secundária, mais rápida com a produção de grandes quantidades de anticorpos principalmente do tipo IgG entre 1 e 2 semana após a exposição (Burmester, *et al.*, 2005).



**Figura 17.** Demonstração da Resposta da Imunidade Inata e Adaptativa (Macedo, 2012).

## **Equipamento e Metodologia (Architect e Ci8200™)**

No laboratório de Análises Clínicas do CSMC a secção de imunologia clínica/endocrinologia, avaliam-se os parâmetros que pode ser processado num sistema aberto e completamente automatizado que permite o processamento contínuo das amostras de soro obtidas por meio de centrifugação, entre outras por técnicas instrumentais ou técnicas manuais.

Os métodos automatizados que podem ser realizados no laboratório baseiam-se em técnicas de Quimioluminescência com Micropartículas.

### **Quimioluminescência**

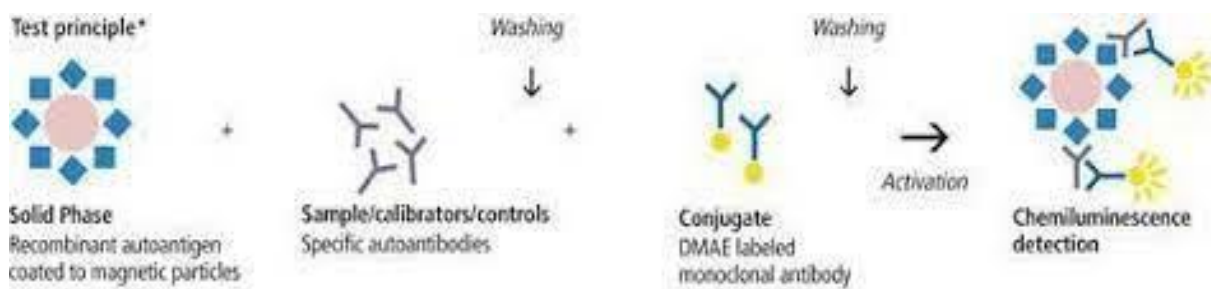
No laboratório do CSMC, na secção de Imunologia o aparelho utilizado para o processamento das amostras é o **Architect e Ci8200™**, cuja metodologia assenta no método de Quimioluminescência (Falcão, 2004).

O processo quimioluminescência consiste na libertação de micropartículas de luz, por reacção química, ocorre na interacção entre o antigénio ou anticorpo na presença de um catalisador, como as enzimas, iões metálicos ou outros complexos, que reveste as micropartículas, e se mostra estiver presente. Os anticorpos que são conjugados, automaticamente emitem um sinal quimioluminescente cuja intensidade emitida é directamente proporcional a quantidade de antigénios ou anticorpos presentes na amostra em estudo (Abbott, 2021).

Mas a quimioluminescência (CMIA) particularmente baseia-se nas determinações heterogéneas porque pode estudar dois ou mais tipos de antigénios em simultâneo, e também apresentam uma maior sensibilidade em relação às determinações homogéneas. Se o resultado esperado for maior que o valor estabelecido na calibração do cut off considera-se positivo Figura 18 (Ilyas & Ahmad, 2014).

**Quimioluminescência** usa uma versão patenteada associada ao imunoensaio, o ChemiFlex®. É um ensaio não competitivo em sandwich, em que o sinal medido é directamente proporcional à concentração de analito na amostra.





**Figura 18.** Quimioluminescência ilustra o método em referência. O equipamento Architect<sup>®</sup> Ci 8200TM (Abbott Diagnósticos) (Adaptada Segundo SCHNEIDER and S H N-2000).

Na secção de Imunologia o processamento das amostras também pode ser realizadas através de técnicas manuais. Sendo que uma das técnicas mais utilizadas nos testes rápidos é a imunocromatografia ou Point of Care Tests (POCT).

Numa determinada amostra, a pesquisa de antígenos ou anticorpos é feita em suportes (cassetes), a leitura dos resultados é feita visualmente.

Nos testes rápidos, existe uma particularidade, no fim da casete, existe uma zona control que assinala e assegura o bom funcionamento da técnica. Exemplo teste rápido de diagnóstico in vitro (qualitativo), para detetar presença do antígeno HCG (urina), sangue oculto nas fezes e SARS-COV-2 (Zaragatoa da Nasofaringe). No laboratório do CSMC, também são realizadas análises com base em reações de aglutinação, tais como a Tipagem sanguínea.

**Tabela 7.** Marcadores Serológicos e Moleculares analisados na secção Imunoserologia/Endocrinologia do CSMC.

Marcadores Serológicos e Moleculares							
HIV	HAV	HBV	HCV	Treponema Pallidum	Tiroide		Macador Tumoral
Ag (P24) Anti-HIV	Anti-HAV IgG	Ag ABS Anti-HBs Anti-HBc DNA HBV	Anti-HCV	Ag IgM-IgG	T3, Livre T4, Livre TSH	T3 T4	PSA Total PSA Livre

## 22. Marcadores Virais

Os vírus são microrganismos intracelulares obrigatórios, com características morfológicas e tamanho pequeníssimo. Os genomas dos vírus estão constituídos unicamente por ácidos nucleicos RNA ou DNA, diferentes entre si pelo tipo de cadeia que apresentam (simples ou cadeia dupla). A forma dos vírus, tendo em conta a sua diversidade populacional pode ser icosaédrica, helicoidal ou complexa, o genoma viral encontra-se protegido por uma camada proteica, conhecida como cápside viral. Alguns vírus apresentam ainda uma membrana exterior conhecida como envelope (Arosa, *et al.*, 2012).

### **Vírus da Imundeficiência Humana (HIV)**

A síndrome da Imunodeficiência adquirida (SIDA), é causada pelo vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Existem dois tipos de HIV, tipo 1 e tipo 2, sendo que o HIV-1 foi a primeira estirpe a ser isolada, e é considerado como sendo mais patogênico e mais expandido a nível mundial. HIV-2 é o mais frequente na África ocidental (Werson, *et al.*, 2013).

O HIV-1 é um vírus envelopado pertencente à família *Retroviridae*, género *Lentivirus*, com capacidade de induzir efeito citopáticos nas células nucleadas (macrófagos, monócitos células dendríticas) do hospedeiro que estejam infetadas. Este tipo de vírus tem a forma esférica com dimensões extremamente pequenas que variam entre 100nm a 120nm e possui um genoma viral duas cadeias simples (ssRNA) idênticas entre si. Este genoma contém genes principais (*gag*, *pol* e *env*) e 6 genes acessórios. Este vírus possui várias proteínas estruturais nomeadamente as proteínas da Cápside (p24), da matriz (p17) e da nucleocápsides (p7), a glicoproteínas (gp120) e a glicoproteína transmembranar (gp41) entre outras, que revestem a camada externa do envelope viral (Werson, *et al.*, 2013).

A replicação viral inicia-se através da adsorção e penetração do vírus na célula-alvo. O co-recetor, entre a CXCR4 ou CCR5, presentes também na superfície da célula hospedeira, é indispensável à entrada do vírus nos linfócitos TCD4. A entrada do vírus na célula hospedeira ocorre por fusão do envelope viral com a membrana citoplásmica da célula alvo, após o qual ocorre a descapsidação, e o genoma do vírus fica exposto no citoplasma, permitindo a ação da transcriptase reversa, que tem a capacidade de sintetizar para converter o RNA viral em uma cadeia simples de DNA, que é inserida no genoma da célula infetada do hospedeiro.

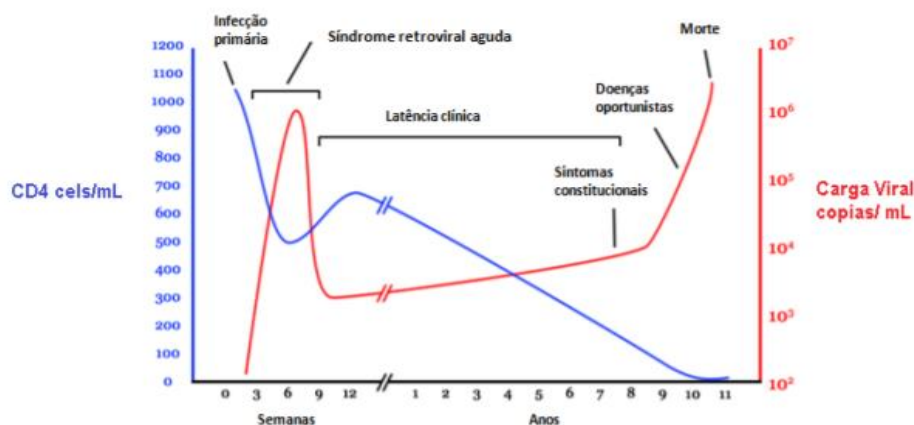
Estão referenciados clinicamente três estádios de infecção que se desenvolvem num indivíduo infetado durante a infecção por HIV-1. Infecção aguda ou primária, b) e Infecção assintomática ou período de latencia, c) infecção sintomática com o quadro de SIDA (Werson, *et al.*, 2013).

**a) - Infecção aguda ou primária,** é a fase em que se observa um aumento da replicação viral e disseminação rápida, do HIV pelo organismo. Alguns indivíduos manifestam sintomas de gripe, cefaleias com resolução em pouco tempo no final da infecção aguda, ocorre diminuição e estabilização da viremia e da resposta imunológica.

**b) - Infecção assintomática ou período de latencia,** ocorre uma diminuição da viremia devido à eliminação deste vírus da circulação, e uma ausência de sintomas já é possível detetar anticorpos contra o vírus, a contagem de linfócitos T CD4 diminui de forma progressiva.

**c)- Infecção sintomática com o quadro de SIDA,** representa o estado clínico de cronicidade da infecção, a quantificação absoluta dos leucocitos (LTCD4+) tende a diminuir para menos de 200 células/ml associado a um aumento dos níveis da carga viral, tornado-se um período propício para o desenvolvimento de complicações por infecções oportunistas (Werson, Da Matta, Bazzo, Franchini, & Junior, 2013). Werson, *et al.*, 2013).

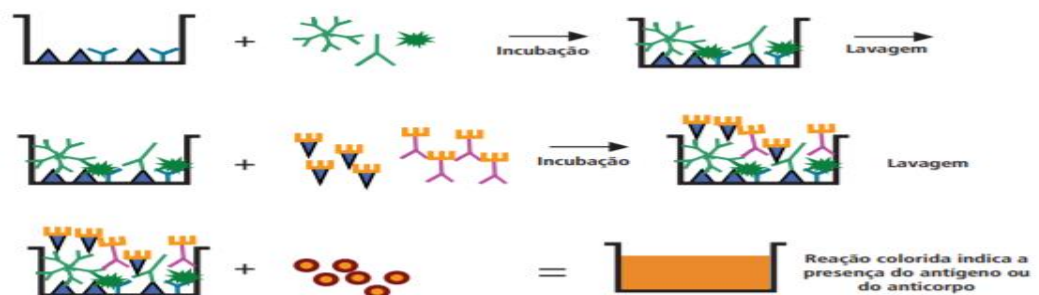
Existe um pequeno grupo de indivíduos que controla a infecção de forma natural, apesar de não estarem submetidos a terapêutica antiretroviral. Estes donetes denominados de “ Elite Controlers ” não evoluem para fase de SIDA, mantendo níveis não detetáveis de carga viral (<50 cópias RNA/mL).



**Figura 19.** Contagem de Linfócitos TCD4 e Perfil Serológico da Infecção pelo HIV ao longo do tempo de um indivíduo sem tratamento com antirretroviral (Adaptada Santos, 2019).

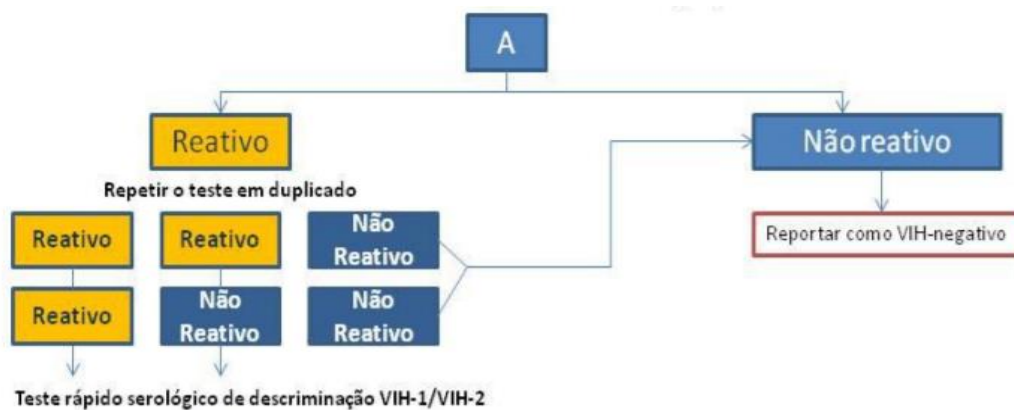
No CSMC, o diagnóstico laboratorial da infecção por HIV é feito com recurso a ensaios serológicos de 4ª geração, que permite fazer em simultâneo a pesquisa de antígeno p24, anticorpos anti-HIV-1 e anticorpos anti-HIV-2.

O componente de detecção de anticorpo tem o formato de “sanduíche”. Para este fim, as micropartículas estão revestidas com antígenos tanto de HIV-1 como de HIV-2, e anticorpos anti-p24 (Werson, *et al.*, 2013).



**Figura 20.** Representação esquemática, ensaio imunológico sanduíche (imunométrico) de 4ª geração do tipo ELISA (do inglês, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Adaptado Werson, Da Matta, Bazzo, Franchini, & Junior, 2013).

Caso seja detetado o antígeno p24, esta técnica permite fazer o diagnóstico da infecção por HIV numa fase inicial antes, da seroconversão e a detecção de anticorpos. Na presença de um resultado positivo, recomenda-se fazer a repetição do teste em duplicado na mesma amostra. Não é possível distinguir isoladamente entre a detecção de do Ag p24, anti-HIV-1 e anti-HIV-2 pelo autoanalisador i2000 do Architect e Ci8200 da Abbott® Laboratories, pelo que é imprescindível mandar fazer o teste de discriminação imunoblote, capaz de detetar os anticorpos específicos (IgG) e assim como diferenciar a infecção para os tipos de VIH-1/VIH-2, enviado para um laboratório de referência (George, 2014).



**Figura 21.** Algoritmo clínico laboratorial da infeção por HIV disponibilizado pela DGS para Teste de Rastreio de 4ª geração (Adaptada George, 2014).

## Hepatites Virais

Hepatites viárias são doenças mediadas por diferentes agentes etiológicos, com tropismo nas células do fígado, com manifestações que provocam alterações difusas no parênquima hepático. Pode ter de origem infecciosa, consumo de álcool, medicamentosa, produtos tóxicos ou também pode ser mediada por processos autoimunes (Bartolini, *et al.*, 2018).

### Vírus da Hepatite A

A hepatite A tem como agente etiológico o vírus da hepatite A (HAV). Trata-se de um vírus envelopado pertencente a família *Picornaviridae*, único do género *Hepatovirus*. O HAV tem um genoma viral constituído por uma cadeia simples (ssRNA+), com polaridade positiva, que também desempenha a função de RNAm.

O genoma viral codifica proteínas estruturais do capsídeo e proteínas não estruturais importantes para a replicação viral (Bartolini, *et al.*, 2018).

A replicação viral do HAV ocorre em duas fases, tem início com adsorção e penetração da partícula viral (por endocitose), nos hepatócitos. De seguidas ocorre a descapsidação e replicação das partículas virais (Bartolini, *et al.*, 2018).

A transmissão do HAV dá-se através da via fecal-oral, contacto interpessoal e também por ingestão de alimentos e de águas contaminadas (Bartolini, *et al.*, 2018).

A via parenteral é uma forma rara de transmissão, mas pode ocorrer se um indivíduo dador de órgão estiver no período de viremia. A Hepatite A é uma doença autolimitada e de

estádios benignos, sendo que o comprometimento hepático agudo grave ocorre em menos de 1% dos casos com maior incidência em pacientes idosos (Bartolini, *et al.*, 2018).

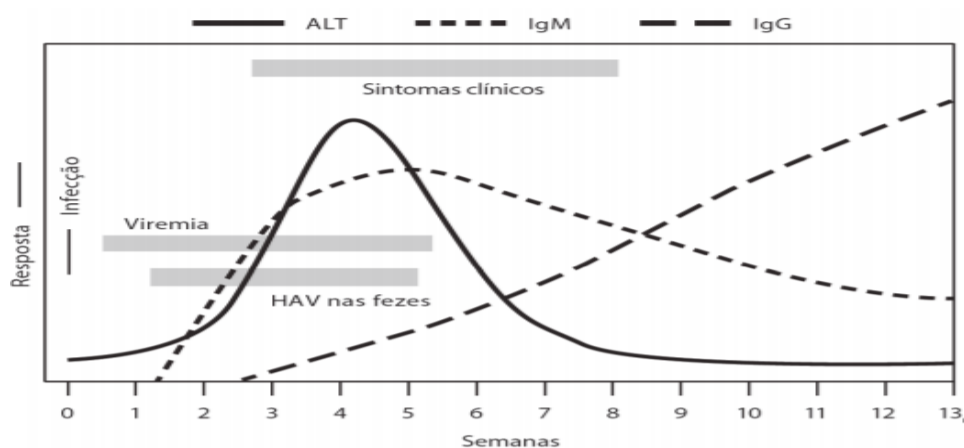
Indivíduos com hepatite A aguda, em geral são sintomáticos, embora manifestações clínicas inespecíficas tais como: fadiga, náuseas, vômitos, desconforto abdominal, icterícia do recobrimento conjuntival da esclera. O período de incubação varia de 2 a 8 semanas (Bartolini, *et al.*, 2018).

A concentração viral no soro plasmático é menor que nas fezes. As manifestações clínicas variam desde infecção assintomática a falha hepática aguda, entre os três e seis meses e depois desaparecem, antes mesmo da concentração das transaminases se encontrarem aumentadas no soro ou plasma, por isso nunca evoluem para hepatite crônica (Figura 22) (Bartolini, *et al.*, 2018).

Este perfil serológico é diagnosticado em indivíduos sintomáticos que apresentam anticorpos de classe IgM anti-HAV, detectáveis na fase aguda, tornando-se indetectáveis ao fim de 3 a 6 meses.

Na fase aguda de infecção, quando são encontradas ambos marcadores IgM e IgG significa que a infecção é recente. A determinação de anticorpos anti-VHA total, anticorpos anti-IgM assim como a detecção de IgG, significa que contataram com o vírus previamente ou foram imunizados através da vacina (Bartolini, *et al.*, 2018).

No CSMC, Laboratório de Análises Clínicas o diagnóstico de hepatite A, faz-se através da pesquisa de anticorpos específicos, anti-HAV.



**Figura 22.** Curso natural da infecção pelo vírus da Hepatite A (HAV) (Adaptado MATHENY; KINGERY, 2012).

## **Vírus da Hepatite B**

O vírus da hepatite B (HBV), é conhecido como o agente etiológico que causa hepatite B, aguda e crónica, uma das principais causas de morbidade e mortalidade por todo o mundo. HBV pertence à família *Hepadnaviridae*, possui um genoma viral constituído por uma cadeia dupla de DNA. Trata-se de um vírus envelopado as principais proteínas estruturais do HBV são: antígeno do core (HBsAg), e o antígeno e (AgHBe). Este vírus é responsável por ter causado cerca de 240 milhões de infeções crónicas, em países em desenvolvimento. Estima-se cerca de 600 a 800 mil pessoas morrem de causas relacionadas ao HBV a cada ano (Bartolini, *et al.*, 2018).

A replicação do HVB, ocorre nos hepatócitos e inicia-se pela adsorção e penetração (por endocitose), com a internalização das partículas vírias após o reconhecimento dos receptores da membrana usados pelo vírus. De seguida, as proteínas são o veículo de transporte que levam o genoma viral até ao núcleo da célula hospedeira. No núcleo, o genoma viral é completado pela RNA polimerase II celular e transcrito a RNAm, que é transportado para o citoplasma, para ocorrer tradução de proteínas virais e, pela ação da transcriptase reversa, produção do genoma viral, gerando os novos vírus. (FIELDS; *et al.*, 2007).

### **Antígeno de Superfície da Hepatite B – AgHBs**

Num perfil serológico de um indivíduo infetado com vírus da hepatite B, o primeiro marcador de infeção no estado agudo ou crónico a ser tipificado é o HBsAg, formado a partir do gene da superfície viral, sendo detetáveis no intervalo de 4 a 6 semanas após a exposição do HBV. O pico de deteção é exponencial no período de fase aguda em que ocorre a infeção (Figura 23).

A transmissão do HBV pode ocorrer principalmente pela via sexual por via parenteral, assim como outros fluidos biológicos (via vertical, transfusão sanguínea, leite maternos) (Bartolini, *et al.*, 2018).

### **Anticorpo Contra o Antígeno de Superfície da Hepatite B – anti-HBs**

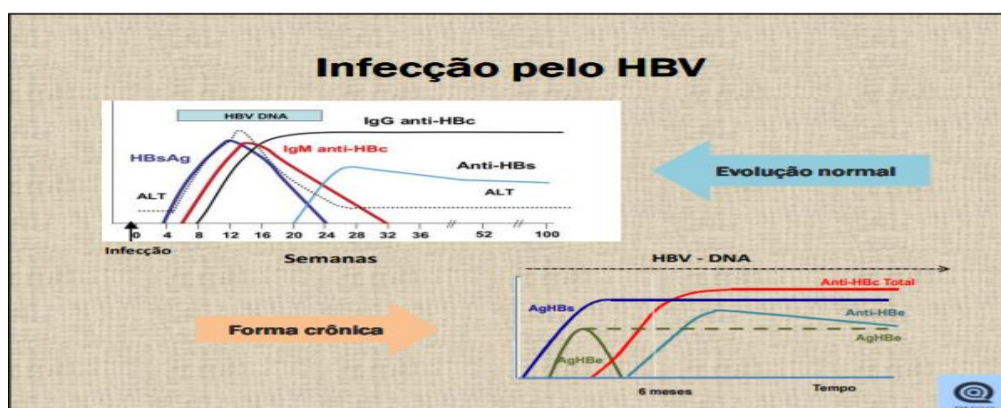
A deteção dos antígenos/anticorpos virais é variável e, depende da fase da doença, hepatite aguda ou crónica (Figura 23). A fase aguda dá-se logo a seguir a entrada e multiplicação do vírus HBV na circulação do indivíduo. Inicialmente são detetados níveis AgHBs e AgHBe, durante um intervalo de tempo de 4 a 6 meses ou mais, e diminuem gradualmente a medida que o indivíduo vai ficando com imunidade e simultaneamente surge

a primeira resposta humoral, com a produção de anticorpos do tipo IgM (marcador de fase aguda), e numa fase mais avançada, surgem os anticorpos do tipo IgG e anticorpos anti-Hbe (é um bom marcador de prognóstico na hepatite aguda). De acordo com os outros tipos de vírus que causam hepatite (anticorpos anti-HBs, anticorpos anti-Hbe e anticorpos anti-HBc), na fase de recuperação da infeção, pode ocorrer desenvolvimento da imunidade, onde observa-se diferença entre o estado agudo e crónico, porque os anticorpos existentes são ambos do tipo IgG, ou pode ser indicativo do aparecimento de mutação pré-core e não cura (Bartolini, *et al.*, 2018).

Relativamente ao perfil serológico de um indivíduo com hepatite B, as características sugestivas para se aferir infeção crónica dá-se pela presença persistente dos níveis de AgHBs no soro, por um período superior a 6 meses e ausência da produção de anticorpos anti-HBs, este marcador é indicador de infeção ativa. O indivíduo com hepatite B crónica também, pode apresentar níveis elevados de AgHBe, geralmente este marcador demonstra replicação viral na fase ativa da infeção crónica. Assim que o AgHBe desaparece da circulação, tornando-se indetetável, aparece o anticorpo anti-Hbe, que geralmente está associado a portadores crónicos inativos.

Um indivíduo com hepatite B crónica geralmente a infeção está sempre associada a presença do genoma viral em circulação sanguínea na fase precoce a seguir á exposição ao agente infeccioso em simultâneo com o antígeno de superfície viral AgHBs, que possuem limite de detecção médio de 10 UI/mL de plasma ou soro e especificidade acima de 99%, antes da fase clínica sintomática e o aparecimento na circulação das transaminases (Bartolini, *et al.*, 2018).

No CSMC, Laboratório de Análises Clínicas o diagnóstico de hepatite B, faz-se através da pesquisa de antígenos e anticorpos específicos, (AgHBs, AgHBe, anti-HBs, anti-HBe e anti-HBc).



**Figura 23.** Perfil Marcador Serológico Fase Normal e Fase Crónica HBV (Adaptado Alquezar, 2014).



## Vírus da Hepatite C

A hepatite C é uma doença causada pelo vírus da hepatite C (HCV). Este vírus envelopado foi o primeiro membro do (género *Hepacivirus*), faz parte da família *Flaviridae*. O HCV é um vírus RNA, cadeia simples de polaridade positiva (ssRNA+). A tradução do genoma deste vírus que inclui as poliproteína que codificam as proteínas não estruturais p7, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B, (NS2), e proteínas estruturais.

A replicação viral inicia pela adsorção viral, penetração e descapsidação do vírus nos hepatocitos. Depois segue-se a fase de formação do RNA viral, maturação e montagem dos novos vírus (Bartolini, *et al.*, 2018).

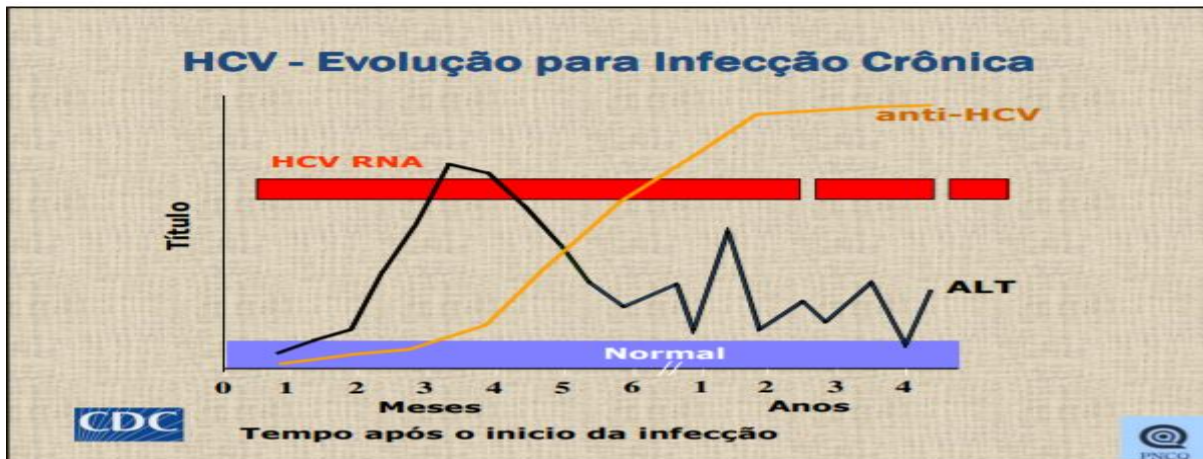
O período de incubação do vírus da hepatite C (HCV) é de aproximadamente sete semanas após a exposição ao agente infeccioso. Na sua maioria os indivíduos com infeção pelo vírus da hepatite C são assintomáticas, assim como alguns podem desenvolver sintomas não específicos.

Alguns destes podem evoluir para hepatite crónica com complicações como cirrose, cancro hepático. A infeção pelo HCV é responsável pelo aumento de transplante hepático no mundo ocidental (Bartolini, *et al.*, 2018).

A transmissão do vírus da hepatite C, pode ocorrer por diferentes formas. Transmissão sexual, transmissão vertical ou por transmissão sanguíneas (Bartolini, *et al.*, 2018).

A infeção pelo vírus da hepatite C, clinicamente distingue-se a fase aguda da fase crónica por meio da determinação de anticorpos e do RNA viral, sabendo que, na fase crónica geralmente os indivíduos apresentam anticorpos anti-HCV e genoma viral, detetáveis 6 meses após a infeção (Figura 24) (Bartolini, *et al.*, 2018).

Ainda não está devidamente evidenciada a possibilidade da relação destes anticorpos (anti-HCV) se participam para eliminação do vírus ou se existe algum tipo de imunidade protetora, a pesar de existirem estudos de indivíduos que se recuperam da infeção podendo ser resistentes a novas exposições ao vírus, a evolução crónica é caracterizada pela permanência na circulação do RNA viral ao longo dos anos com oscilação dos valores de ALT (Bartolini, *et al.*, 2018).



**Figura 24.** Perfil Serológico Marcador de infecção Hepatite C (Adaptado Alquezar, 2014).

## 23. Infecções Bacterianas

### Sífilis

O *Treponema pallidum* é o agente etiológico que causa sífilis. Estão identificados três estádios da doença não tratada. **Sífilis primária:** caracteriza-se pela invasão do microrganismo assim como a existência de uma ou mais lesões no local de entrada formando uma úlcera. **Sífilis secundária:** As manifestações clínicas são comuns e com o aumento da produção de anticorpos. **Sífilis latente:** Esta fase é caracterizada pela ausência de sinais clínicos e sintomas na infecção recente até um ano após exposição e tardia com mais de um ano de evolução na ausência de tratamento. **Sífilis terciária:** Geralmente é o estágio mais avançado da doença, acomete não apenas a pele, mas também alguns órgãos internos. A principal via de transmissão da sífilis é a via sexual, também pode ocorrer pela via vertical (Benzaken, *et al.*, 2016).

O diagnóstico da sífilis é baseado na história clínica do indivíduo e na combinação de resultados dos testes. Existem diferentes tipos de testes, ambos baseados no tipo de antígeno para qual os anticorpos são direcionados. Os testes diretos são úteis, para visualização no microscópio de campo escuro. Os testes serológicos por métodos treponémicos (TPHA- *Treponema Pallidum* Hemagglutination), detetam anticorpos para antígenos de *T. pallidum* ao passo que, os métodos não treponémicos (RPR-Rapid Plasm Reagin) detetam antígenos direcionados (Martínez & Johnson, 2014).

No laboratório de análises clínicas do CSMC, o diagnóstico da sífilis é realizado através do teste treponêmico, baseado na metodologia de imunoenensaio de quimioluminescência que deteta anticorpos específicos anti- *T. pallidum*, pelo autoanalisador

i2000 do Architect e Ci8200 da Abbott® Laboratories. Os resultados são apresentados como reativo ou não reativo não, sendo possível discriminar entre uma infecção recente ou passada ou até mesmo entre uma infecção tratada ou não tratada (Martínes & Johnson, 2014).

## **24. Marcadores de Avaliação e de Função da Tireoide**

A tireoide é uma das glândulas endócrinas com maior dimensão, localiza-se na zona inferior do pescoço, libertando hormonas na corrente sanguínea e a sua principal função é regular o metabolismo, assim como estimular a função dos distintos órgãos vitais: rins, fígado, cérebro e coração. As hormonas tireoidianas (HTs) atuam no geral em todos os sistemas do organismo, desenvolvendo um papel importante no crescimento, desenvolvimento e na regulação de diversas funções homeostáticas, como a produção de calor e de energia bem como o crescimento e o desenvolvimento do organismo. Ex: o trabalho do miocárdio, taxa metabólica, densidade mineral óssea, regulação do metabolismo de lipídeos, do colesterol e lipoproteínas. Portanto, percebe-se a influência dos HTs sobre o sistema cardiovascular e muscular para encontrar as explicações fisiológicas na diminuição da tolerância ao esforço de sujeitos acometidos dos dois principais distúrbios tireoidianos: hipotireoidismo e hipertireoidismo (Freitas c. , et al., 2019).

O aumento da quantidade de oxigénio utilizado nas células, influenciam a taxa metabólica dos hormônios da tireoide e na estimulação de todos os tecidos do corpo. Qualquer alteração que ocorre nessa regulação tireoideia, diminui a produção de hormonas, estimula a secreção de mais TSH logo surgem desequilíbrios que podem originar o hipotireoidismo ou hipertireoidismo (Freitas c. , et al., 2019).

As causas mais frequentes de hipotireoidismo são: inflamação na glândula tireoideia, deficiência de iodo, fármacos, hipotireoidismo neonatal, insuficiência pituitária, tireoidite de Hashimoto, ausência de glândula da tireoide (tireoidectomia).

A tireoide é uma glândula endócrina, regulada pela hormona estimulante Tireoestimulante (TSH), sintetizada e secretada pela Hipófise anterior. Sob o controlo da hormona libertadora das gonadotrofinas (GnRH), produzidas no hipotálamo.

Além disso a TSH, também desempenha outra função importante na regulação de hormonas produzidas pela tireoide, são estimuladoras metabólicas para produção de alguns tipos de hormonas essenciais para o metabolismo normal assim como manter a homeostase do organismo que são: Tri-iodotironina (T3) Livre e Tetraiodotironina (T4) total.

Estas hormônas são reguladas através de um mecanismo de feedback negativo em pacientes com um eixo hipólamo-pituitário intacto, controlando o metabolismo da glândula tiroideia (TSH) e o grande responsável por essa manutenção na regularização e produção de calor, são sintetizadas e secretadas pelas células foliculares da tiroide em distintas etapas ligadas a recetores presentes na membrana das células foliculares que interagem com o DNA influenciando a expressão de genes reguladores e a síntese de proteínas desenvolvidas no metabolismo de hormônios, crescimento e maturação glandular estimulando a secreção hormonal (Ross & Pawlina, 2016).

Para que haja um bom funcionamento da tiróide é fundamental que o mecanismo do eixo Hipotálamo-hipófise-tiróide promova os estímulos necessários para que as glândulas produzam as suas hormonas. A glândula tiróide é essencial na produção hormonal, pois afeta diretamente diversas funções no corpo humano e com isso, pode acarretar em um desajuste sistémico. Para manter o equilíbrio hormonal adequado é essencial que a glândula esteja em seu perfeito estado de funcionamento, pois pode provocar crescimentos anormais, como os nódulos (Freitas c. , *et al.*, 2019).

A ausência de hormonas circulantes da glândula tiroideia revela o estado clínico do hipotiroidismo isto acontece quando a glândula se encontra no estado hipoativa a mesma divide-se em três subclasses: congénito, central e subclínica ao passo que o aumento da função da glândula tiroideia provocando assim o aumento dos níveis dos hormônios T3 e T4 na circulação periférica originam hipertiroidismo quando a glândula está hiperativa.

O diagnóstico do hipotiroidismo primário é caracterizado pelo aumento da TSH, associado a quantidades diminuídas de T4 Livres.

EX: doenças autoimunes da tiróide (Hashimoto), deficiência de iodo libertadas para corrente sanguínea, diminuição do tecido tireoidiano por iodo radioativo, cirurgia usada no tratamento da Doença de Graves (DG) ou do câncer, ao passo que o hipertiroidismo primário em casos complexos ou em situações clínicas de maior dificuldade em diagnosticar caracteriza-se pela diminuição dos níveis de TSH com quantidade normal ou aumentada de tiroxina (T4) e triiodotironina (T3) (Freitas c. , *et al.*, 2019).

A determinação dos hormônios da tiróide em simultâneo com a TSH pode facilitar na avaliação e estabelecer o diagnóstico clínico de acordo com o tipo de disfunção tiroideia (Silva, 2013).

Os exames laboratoriais são de extrema importância para detecção dos distúrbios tireoidianos no organismo humano. O diagnóstico precoce é primordial para o tratamento,

pois irá regularizar o quanto antes essa alteração hormonal, para dar uma vida saudável ao indivíduo. Além disso existem inúmeros fatores que são capazes de influenciar na determinação da hormona estimuladora da tiróide (TSH), para fim de rastreio o doseamento da TSH seria suficiente para detetar disfunção tiroideia.

A confirmação do hipo ou hipertiroidismo primário está relacionado com o doseamento e avaliação da secreção e metabolismo do T4 e T3 tornando-se importante quando se verificam alterações na ligação destas iodotironinas às proteínas de transporte tais como indivíduos com doença clínica e ou subclínica a gravidez, terapêuticas com anticoncepcionais, e em risco de doença tiroideia foram excluídos dos limites de referência populacionais estabelecidos podem fazer aumentar a razão entre T3/T4 total (Freitas, et al., 2014).

**Tabela 8.** Diagnóstico clínico e avaliação dos parâmetros da Tiróide.

<b>Alteração da Tiróide</b>	<b>TSH</b>	<b>T4</b>	<b>T3</b>
Hipotiroidismo primário	↑	↓	↓ / ⇔
Hipertiroidismo primário	↓	↑	↑
Hipotiróidismo primário Subclínico	↑	⇔	⇔
	↑		
Hipotiroidismo primário Clínico	↑	↓	↓

No laboratório de análises clínicas do CSMC, os marcadores que são avaliados na rotina para avaliar a função da hormona estimuladora da tiroide (TSH) são: Tri-iodotironina (T3) total, T3 livre (FT3), Tiroxina (T4) total e T4 livre (FT4) e serão estes os marcadores processados nesta secção.

Os exames bioquímicos de maior relevância a nível laboratorial para ajudar no diagnóstico de hipotiroidismo baseiam-se na determinação das concentrações séricas de TSH e da hormona T4 Livre (T4L), sendo esta útil nos casos em que a TSH apresenta valores pouco fiáveis como por exemplo (doença hipofisária) (Freitas c. , et al., 2019).

Outros exames laboratoriais podem incidir sobre a pesquisa de uma situação de hiperlipidemia e hiponatremia, tendo em conta a influência da tiróide ao nível do metabolismo, uma vez que o doseamento da T3 não adiciona qualquer informação extra. As hormonas tiroideias são produzidas em concentrações desiguais, a T4 é produzida em concentrações mais elevadas, e só quantidade relativamente pequenas de T3 são produzidas

na tireoide ficando em circulação cerca de 1% de hormônios metabolicamente ativos que vão regular atividade secretora e retroalimentação da tireoide.

A T3 resulta de uma reação de desiodinação, que ocorre nos tecidos periféricos é, em parte, sintetizada e secretada pela tireoide, em circulação a T3 é a responsável e principal hormônio que coordena a atividade biológica por intermédio da sua ligação através dos recetores nucleares das membranas das células-alvos e é cinco vezes mais robusta do que a T4 livre (Ross & Pawlina, 2016).

As hormonas da tireoide como respostas á TSH geralmente existem praticamente toda na forma inativa ligada as proteínas de transporte através da membrana celular, ligam a recetores nucleares. Cerca de 20% está representada pela transtiretina (fração de pré-albumina da proteína sérica), sendo que a T4 faz ligação forte com a (TGB).

È por esta razão o melhor representante dos níveis circulantes das hormonas tireoideas, é a fração metabolicamente ativa e a T3 faz ligação forte com a transtiretina assim como uma quantidade inferior a 10% estão ligados a uma fração inespecífica (albumina) que por outro lado representa uma afinidade reduzida pelas mesmas hormonas (Ross & Pawlina, 2016).

## 25. Marcadores Tumorais

Um marcador tumoral (MT) são macromoléculas de caráter proteico presentes em tumores, no sangue e em outros fluidos biológicos, que podem ser usados como indicador de malignidade, produzidas pelo próprio tumor ou pelo sistema imunitário como por exemplo: CA125, CA15.3, CA19.9, PSA, CA72.4, NSE, SCC, TPS (Almeida, *et al.*, 2006).

### **Antigénio CA125**

O antigénio CA125 é um marcador tumoral utilizado na rotina laboratorial para avaliação de linfomas e de outros tumores. Assim como na monitorização e permitir o seguimento na resposta de individuos com cancro do ovário, pelo fato de ser pouco comum o rastreio é considerado experimental (Almeida, *et al.*, 2006).

Apesar do CA125 ser um marcador que esteja direcionado principalmente para avaliar cancro do ovário, as concentrações deste antigénio também aumentam em outras neoplasias como endometriose, hepatite, pancreatite cirrose e cistos de ovário. No

carcinoma gástrico, o CA 125, associado com antígeno carcinoembrionário (CEA), pode predizer mau prognóstico e maior potencial de malignidade tumoral (Almeida, *et al.*, 2006).

### **Antigénio CA 15.3**

O antígeno CA 15.3 é o marcador tumoral, mais sensível e específico por excelência, do câncer da mama superior ao CEA3. Sendo que a sensibilidade varia de acordo com a massa tumoral e o estado clínico, a glicoproteína mais produzida pelas células epiteliais glandular, na doença disseminada.

A CA 15.3 é útil para diagnóstico precoce de recidiva, precedendo os sinais clínicos em até um ano. Tendo em conta a baixa especificidade e sensibilidade do CA 15.3 não é recomendado para diagnóstico. Também observam-se níveis elevados em outras situações de neoplasias, tais como: câncer de ovário, colo uterino, hepatocarcinoma e linfomas, hepatite crônica, pulmão, tuberculose, sarcoidose e lúpus eritematoso sistêmico (Almeida, *et al.*, 2006).

### **Antigénio Específico da Próstata (PSA)**

O processo tumoral, independentemente da causa que o inicia, conduz ao aparecimento de células que reúnem características muito particulares, tornam-se “importantes” adquirem a capacidade de se reproduzir de forma autónoma e independente das células vizinhas; sobreviverem separadas das outras células do organismo, podendo por isso dar origem a metástases a distância por disseminação linfática ou hemática; perdem a sua diferenciação e características originais adquirindo por vezes uma diferenciação anómala como o caso do aparecimento de antígenos novos na sua superfície celular. É nesta última característica que se tem apostado para detetar precocemente a presença destas células (Greenspar, Francis, Gardner, & David. 2004).

O antígeno específico da próstata (PSA), é uma glicoproteína (protease da família das calicreína sintetase), cuja síntese dá-se nas células do epitélio próstatico e utilizada como uma ferramenta valiosa para o rastreio, diagnóstico precoce, tratamento e monitorização de pacientes com carcinoma da próstata (dos Reis & Cassini).

Apesar de todas as alterações funcionais da célula neoplásica, a sua estrutura mantém-se semelhante à das células normais, o que representa um obstáculo na obtenção de marcadores de especificidade elevada para os diferentes tipos de neoplasias (Greenspar, Francis, Gardner, & David. 2004).

O PSA no organismo, pode estar associada a actividade proteolítica intensa, a inibidores de proteases séricas (alfa 1-antiquimiotripsina e alfa 2-macroglobulina), sob formas PSA livre (não conjugada) ou complexado (conjugada), sendo que a percentagem normal de PSA é maior comparando com a PSA Livre (Glriilo, *et al.*, 2004).

Apesar de que o aumento da concentração dos níveis de PSA esteja relacionado com cancro da próstata, além disso pode estar relacionado com outros factores como por exemplo nas manipulação prostática vigorosa, biópsia, infecção, exercício físico intenso (Glriilo, *et al.*, 2004).

A percentagem de PSA Livre varia em função da patologia e está presente no soro de individuos com cancro na próstata em menor quantidade em relação aos individuos com aumento benigno da próstata (HBP).

O uso do PSA Livre e a PSA Total em simultâneo pode ser útil no diagnóstico laboratorial para rastrear o cancro de próstata, permite distinguir a detenção de marcadores tumoral com significados clínicos, quando comparado com individuos com uma próstata normal, evitando assim a realização de biópsias desnecessárias (Glriilo, *et al.*, 2004).

O diagnóstico clínico laboratorial permite fazer a detenção do níveis séricos de PSA total, PSA livre e PSA complexado em simultâneo com auxilio dos métodos ultra-sensíveis utilizados para aumentar a especificidade do teste. Sendo que em situação patológicas o antigénio específico de origem cancerígena encontra-se na forma complexada à alfa 1-antiquimiotripsina e à alfa 2-macroglobulina, em maiores quantidades, neste contexto a percentagem PSA Livre ou PSA Total se encontram diminuídos em individuos com cancro (Glriilo, *et al.*, 2004).

## **26. Bioquímica**

Na área da Bioquímica Clínica também são realizados exames de toxicologia na urina para pesquisa de drogas de abuso. A avaliação dos marcadores bioquímicos para o diagnóstico, aplicação e monitorização da terapêutica de determinadas enfermidades é feita pelo aparelho Architect<sup>®</sup> ci 8200, automatizados e adaptados para qualquer alteração com o surgimento de novas tecnologias e altamente sofisticados nomeadamente a Imunoturbidimetria, Potenciometria e espectrofotometria. Permite a avaliar uma grande variedade de fluidos corporais, sendo as amostrais mais frequentemente analisadas, o soro, plasma e a urina.



## 27. Microbiologia

A microbiologia é uma das áreas do laboratório de análises clínicas que permite fazer a pesquisa, isolamento e identificação de microrganismos invisíveis a olho nu vírus, bactérias, fungos, parasitas. Para a diferenciação de microrganismos presentes, as amostras são semeadas em diferentes meios de cultura em função do tipo de microrganismo patogénico que se suspeita, seguida da sua identificação porque é necessário a obtenção de uma cultura pura, obtidas a partir de uma única colónia, para realiza o antibiograma (Ferreira, et al., 2016).

No CSMC o setor da microbiologia geralmente analisa algumas variedades de amostras biológicas, porém, as mais processadas são: urina, fezes e exsudados nasais e com menor frequência, raspados de unhas, exsudados purulentos de feridas, exsudados vaginais entre outras. A urocultura destina-se á quantificação de microrganismos presentes em uma amostra de urina assim como á realização de uma sumária de urina. Priemeiramente semea-se a amostra de urina e meios de culturas diferenciados para permiteir que haja um isolamento do agente patogénico, de seguida põe-se a incubar, se haver cresciemento de microrganismo faz-se a identificação do mesmo. No caso de se tratar de uma bactéria faz-se um antibiograma cuja a finalidade é verificar a resistencia e a susceptibilidade destas perante aos antibióticos em uso para o tratamento das infeções urinárias. Após a inoculação dos meios é feita a urina do tipo II para minimizar os riscos de contaminação.

## Conclusão

O Mestrado de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra além da componente teórica e práticas lecionadas ao longo do curso faz parte também um estágio curricular realizado no Centro de Saúde Militar de Coimbra, ofereceu-me uma oportunidade, de realizar trabalho laboratorial na área das análises clínicas permitiu-me consolidar os conhecimentos adquiridos durante o mestrado, onde teve um papel fundamental neste percurso académico assim como conferir formação na componente prática.

Durante este período fui seguida por membros de toda equipa profissional, apesar de possuírem uma elevada carga horária de trabalho, estiveram sempre disponíveis para integração e aprendizagem no exercício da rotina por eles desenvolvida. Assim como permitiu também observar toda a dinâmica de cada sector do laboratório de análises clínicas do CSMC, através da abordagem do fluxo de atividades, apercebi-me do dinamismo e cumplicidade que tem de existir entre as mais diversas áreas analíticas da saúde, compreender fases muitas vezes menosprezadas como a, importância da comunicação com o paciente na fase pré-analítica para chegar a bons resultados e perceber o sentido crítico da interpretação biológica assim como a sua validação. A frequência deste estágio fez-me valorizar a oportunidade que me foi dada ao fazer este relatório, fez consolidar uma componente sólida cuja experiência não contribuiu apenas para minha formação académica e profissional, como também a nível pessoal, tenho a certeza que quero trabalhar na área da saúde, com a convicção que este Mestrado terá um grande impacto nas minhas futuras escolhas profissionais. Outro dado importante tem haver com a organização, do trabalho em equipa passa por dominarmos o histórico do doente, conseqüentemente, reduz-se a possibilidade de serem transferidos resultados incorretos. Também foi-me dada a oportunidade de proceder todas as tarefas de cada seção do CSMC, desde as fases pré-analítica, analítica, colheitas de amostras, reproduzir técnicas manuais, trabalhar com aparelhos automáticos e integrar-me em toda a dinâmica de cada sector contribuindo para a minha independência nos processos de cada sector. Neste contexto sinto-me mais preparada para dar o meu melhor á realidade profissional que me espera após a conclusão deste percurso académico.



## Bibliografia

Abbott, A. P. (2021). Manual de Operações. Centro de Saúde Militar de Coimbra, Coimbra, Portugal.

Alquezar, A. S. (2014). Marcadores Serológicos para o diagnóstico e Acompanhamento Das Hepatites Virais. *41º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas*. Brasil- Porto Alegre.

APPS, M. D. (2010). O Teste de HbA1c. Portugal.

Arosa, F. A., Cardoso, E. M., & Pacheco, F. C. (2012). *Fundamentos de Imunologia* (2º ed.). Lisboa: Lidel-Edições Técnicas.

Bain, B. J. (2016). *Células Sanguíneas um Guia Prático*. Brasil - São Paulo: Daniela de Freitas Louzada.

Bartolini, D. A., Paresi, E. R., Werson, E., Cattapan, E. A., Furtado, J. D., Shiavon, L. d., . . . Francisco, R. L. (2018). *Manual Técnico para o Diagnóstico das hepatites Viarias*. Brasília-DF: Assessoria de Comunicação (AsCOM).

Benzaken, A. S., Pires, A. F., Wohike, B. L., Freitas, F. L., Toledo, J. P., Neto, J. B., . . . Lopes, R. B. (2016). *Manual Técnico para o Diagnóstico da Sífilis*. Brasília-DF: MS/CGDI.

Burmester, G. R., Pezzuto, A., & Wirth, J. (2005). *Imunologia*. Lisboa: Lidel- Edições Técnicas.

Copyright, ©. (2021). © Copyright 2021. Obtido de © Copyright 2021.

Dacie, J. V., & Lewis, S. (2006). *Practical Haematology*. Churchill Livingstone.

Falcão, M. (2004). *Desciçãõ dos Componentes Básicos do Sistema C8000 VI.0*. Alemanha.

Ferreira, W. F., Sousa, J. C., & Lima, N. (2016). *Microbiologia*. Lisboa: Lidel- Edições Técnicas.

Freitas, C., Rodrigues, F., Rocha, G., Simões, H., Melo, M., & Azevedo, T. (14 de Fevereiro de 2014). Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. *Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*.

George, F. H. (2014). *Norma da Direção Geral da Saúde*. Portugal.

Guarner, J., Dolan, H. K., & Cole, L. (2015). Erythrocytes Sedimentation . *Rote: Journey Verifying a New Method*.

Hashemi, R., Majidi, A., Motamed, H., Amini, A., Fares, N., & Ali Tabatabaey. (2015). Erythrocytes Sedimentation . *Rate Measurement Using as Rapid Alternativ a Tothe Westregren Method*.

Henningen, A. W., Martins, A. C., Cornely, A. F., Rodas, D. R., Oliveira, E. B., Pfeil, J. N., . . . Moura, S. K. (21/05/2020 de DEZEMBRO de 2020). *Telecondutas - Sífilis*. Brasil- Universidade Federal , Rio Grande do Sul, Brasil- Universidade Federal : TelesaúdeRS-UFRGS.

Hoffbrand, A. M. (2013). *Fundamentos de Hematologia 6ª Edição. (Copyrith, ed.)*. ; Brazil : Daniela de Freitas Louzada.

Ilyas, M., & Ahmad, I. (2014). *Virology Journal* . Paquistão- Arábia Saudita.

Keohane, E. M., Smith, L. J., & Walenga, M. J. (2016). *Rodak's Hematology Clinical and Principles*. Evalve. Elsevier.

Lichtman, M., Beutler, E., Kipps, T., Prchal, J., & Uni, S. (2015). *Williams Hematology*. New York, United States: MC Graw-Hill Medical.

Longo, D., Fauci, A., Kasper, D., Houser, S., Jameson, J., & Lascozo, S. (2012). *Principles of Internal Medicine*. Portugal/Brsail: MCGraw-Hill.

Martínes, A. F., & Johnson, S. C. (2 de Abril de 2014). *Testes de Diag'nóstico para Sífilis. Testes de Diagóstico para Sífilis- novos teste e novox logarítimos*.

Nunes, M., & Melo, C. C. (2013). *Fundamentos em Hematologia*. Brasil - : Daniela de Freitas Louzada.

ONLINE, L. T. (19 de 12 de 2019). *Antigénio Especifico da Prostata (PSA)*.

Pinto, A. L. (2017). *Infeção pelo Vírus da Hepatite C: Evolução dos Modelos de Avaliação Económica*. Lisboa.

Pinto, A. M. (2013). *Fisiologia Fundamentos e Aplicação (2º ed.)*. Lisboa: Lidel- Edições Técnicas.

Plebani, M., & Paiva, E. (4 de Abril de 2002). *Erythrocyts Sedimentation. Rate: Use of Fresh Blood for Quality Control*.

Ribeiro, I. S., & Costa, I. (2016). *HEMATOLOGIA E OUTRAS ESPECIALIDADES*. Portugal: Lidel- Edições Técnicas.

Ross, M. H., & Pawlina , W. (2016). *Histologia- Texto e Atlas*. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN.

SA., M. C. (o5 de julho de 2019). *Cancro- Marcadores Tumorais*. porutgal.

Santos, G. S. (2019). *Monitoramento Imunologico da História da Infeção pelo HIV-1*. São Paulo,SP: Centro de Documentação - Cordenadoria de Controlo de Doenças SES.SP.

- SH., S. N. (2000). *Fundamentos da Pontecimetria* (1ª ed.). Lisboa: Dr. Santa Maria.
- Sharp, M., & corp, D. (2021). *Manual MSD Visão Saúde para Família*. EUA. (Laboratories, 2009).
- Silva, C. C. (2013). *Alterações do Funcionamento da Glândula da Tireoide*. Portugal, Porto, Porto.
- SILVA., R. A., MENDES., S. d., SOUSA., A. V., LUZ., P. G., & MEDEIROS, M. O. (2010). Mapeamento dos Sistemas de grupos Sanguíneos ABO e Rh dos Dadores de Sangue em Primavera de Leste-MT. *Mapeamento dos Sistemas de Grupos Sanguíneos ABO e Rh dos Dadores de sangue em Primavera do Leste-MT. Rvesta Biodiversidade V.9. n.1.*
- Tate, P., & Trent, S. D. (2002). *Anatomia e Fisiologia*. MC Graw-Hill.
- Werson, E. S., Da Matta, L. K., Bazzo, M. L., Franchini, M., & Junior, O. D. (2013). *Manual de Técnicas para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV*. Brasília: Ministério da Saúde- Departamento de DST, Aids e Hepatite Virais.