



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Maria Francisca Jacinto Santos

RELATÓRIO DE ESTÁGIO  
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Dra. Ana Filipa Mendes da Cruz Reis Paredes e pela Professora Doutora Bárbara Silva Rocha e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Julho de 2023



Maria Francisca Jacinto Santos

## Relatório de Estágio

# Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Dra. Ana Filipa Mendes da Cruz Reis Paredes, Diretora Técnica do Laboratório José Manuel Chau S.A, Grupo Beatriz Godinho Saúde e pela Professora Doutora Bárbara Silva Rocha e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Julho de 2023



*“Só fazemos melhor aquilo que repetidamente insistimos em melhorar. A busca da excelência não deve ser um objetivo, e sim um hábito. “*

*Aristóteles*



## **AGRADECIMENTOS**

Após chegar ao fim do Mestrado de Análises Clínicas e após a conclusão do Estágio curricular que este integra, são muitos os nomes aos quais eu gostaria de deixar o meu especial agradecimento.

Gostaria de agradecer ao Grupo Beatriz Godinho Saúde pela possibilidade de realizar este estágio no Laboratório José Manuel Chau. O meu maior obrigado devo-o à Dra. Ana Filipa Paredes, Farmacêutica Especialista em Análises Clínicas e Genética Humana e à Professora Doutora Bárbara Silva Rocha, que me orientaram, aconselharam e me fizeram crescer profissionalmente e pessoalmente durante todo o percurso realizado durante o Estágio e o Mestrado. Agradeço-lhes o apoio, a disponibilidade e o carinho que demonstraram durante estes períodos. À Professora Doutora Bárbara agradeço também por ter sido uma esplêndida professora durante os dois anos de Mestrado.

Gostaria de dar o meu grande obrigado à Dra. Sofia Estácio, Farmacêutica especialista em Análises clínicas e Genética Humana e ao Dr. Ricardo Monteiro, Coordenador de Laboratório e Técnico de Análises Clínicas, por todos os conselhos e oportunidades que me deram, permitindo-me aprender e crescer como técnica de análises clínicas.

Gostaria também de salientar o meu agradecimento às Técnicas Superiores do Laboratório Chau, Dra. Ana Rita Silva, Dra. Alda Português e Dra. Diana Gomes e aos Técnicos de Análises Clínicas Dra. Clara Oliveira, Maria Rosário, Dra. Ana Sofia Ribeiro, Dra. Tânia Madeira e Jorge Almeida por toda a paciência, ensinamentos, e conselhos que me deram quando os questionava acerca do funcionamento do laboratório, técnicas utilizadas nas determinações analíticas e normas utilizadas na validação dos boletins de análises clínicas.

Agradeço às Enfermeiras Paula Álvaro e Ana Constantino, assim como às rececionistas Olga Rasteiro, Tânia Cipriano e Liliana Pedro por me terem ajudado a integrar no laboratório e por todas as informações fornecidas de como funcionavam diversos assuntos relacionados com o mesmo, desde que iniciei o Estágio até ao momento que o terminei.

Devo ainda um obrigado do coração à minha família e ao meu namorado, pois foi com o apoio deles que consegui ter aproveitamento neste Mestrado de Análises Clínicas.





# **ÍNDICE**

<b>Abreviaturas</b> .....	9
<b>Resumo</b> .....	11
<b>Abstract</b> .....	12
<b>Introdução</b> .....	13
<b>O Laboratório José Manuel Chau S.A (Coimbra)</b> .....	15
<b>Fase Pré-analítica</b> .....	17
- Colheita de amostras biológicas .....	17
- Distribuição de amostras biológicas.....	18
- Controlo de qualidade.....	19
<b>Fase Analítica</b> .....	20
- <u>Setor de Hematologia</u> .....	20
. Hemogramas.....	20
. Casos Clínicos.....	25
. HbA1c .....	30
. Velocidade de sedimentação .....	32
. Coagulação .....	32
. Grupo sanguíneo .....	34
. Exemplo Prático .....	34
- <u>Setor de Bioquímica Clínica/Imunologia</u> .....	35
. Cobas pro c503 e e801 .....	35
. Função renal .....	36
. Função hepática .....	38
. Triglicéridos e colesterol .....	39
. Caso Clínico .....	41
. Diabetes mellitus .....	41
. PTGO .....	42
. Caso Clínico .....	43
. Função tiroideia .....	44
. Doença de Graves .....	45
. Tiroidite de Hashimoto .....	45
. Caso Clínico .....	45

. Serologia infecciosa .....	46
. HIV .....	46
. Vírus da Hepatite B .....	47
. V.D.R.L./RPR - Sífilis .....	48
. Exemplo Prático .....	48
. Mononucleose infecciosa .....	49
. Exemplo Prático .....	49
. Teste de <i>Coombs</i> .....	50
. Exemplo Prático.....	51
- <u>Setor de Urinálise</u> .....	52
. Sumária de urina e sedimento.....	52
- <u>Setor de Microbiologia</u> .....	53
. Urocultura .....	53
. Antibiograma.....	53
. Pesquisa de sangue oculto nas fezes .....	53
<b>Fase Pós-analítica</b> .....	54
<b>Conclusão</b> .....	55
<b>Bibliografia</b> .....	57

## **ABREVIATURAS**

**A-HBS** – Anticorpo anti vírus da hepatite B

**AHCV** – Anticorpo anti vírus da hepatite C

**AHIV** – Anticorpo anti vírus da imunodeficiência humana

**ALB** – Albumina

**ALBT2U** – Microalbuminúria

**ALP** – Fosfatase alcalina

**ALT/GPT** – Alanina transaminase

**aPTT** – Tempo de tromboplastina parcial ativado

**AST/GOT** – Aspartato transaminase

**ATG** – Anticorpo anti-tireoglobulina

**ATPO** – Anticorpo anti-tireoperoxidase

**B12** – Vitamina B12

**BILD2-D** – Bilirrubina direta

**BILT3** – Bilirrubina total

**CA19-9** – Marcador tumoral

**CEA** – Antígeno Carcino-Embrionário

**CHOL2** – Colesterol total

**CK2** – Creatinina cinase

**CMVIGG** e **CMVIGM** – Imunoglobulina G e M contra o Citomegalovírus

**CREJ** – Creatinina sérica e na urina

**CRP** – Proteína C reativa

**EBV** – Vírus Epstein-Barr

**EDTA** – Ácido etilenodiamino tetra-acético

**FERR** – Ferritina

**FOL** – Ácido fólico

**FP5A** – Antígeno prostático específico livre

**FSH** – Hormona folículo-estimulante

**GB** – Leucócitos

**GGT** – Gama glutamil transferase

**GLUC** – Glucose

**GV** – Eritrócitos

**HbA1c** – Hemoglobina glicada

**HBSAG** – Vírus da hepatite B

**HCG-BETA** – Fração beta da hormona gonadotrofina coriónica  
**HDL** – Colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade)  
**HGB** – Hemoglobina  
**HIV** – Vírus da imunodeficiência humana (tipo 1 e 2)  
**IDL** – Lipoproteína de densidade intermédia  
**LDH** – Lactato desidrogenase  
**LDL** – Colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade)  
**LH** – Hormona luteínica  
**LPL** – Lipoproteína lipase  
**MCH** – Hemoglobina Globular Média  
**MCHC** – Concentração de Hemoglobina Globular Média  
**MCV** – Volume globular médio  
**PRL** – Prolactina  
**PROG** – Progesterona  
**PT** – Tempo de protrombina  
**PTGO** – Prova oral de tolerância à glucose  
**RUBIGG** e **RUBIGM** – Imunoglobulina G e M anti vírus da rubéola  
**T3** – Triiodotironina  
**T4** – Tiroxina  
**TASO** – Título de antiestreptolisina O  
**TFG** – Taxa de filtração glomerular  
**TOXOIGG** e **TOXOIGM** – Imunoglobulina G e M anti *Toxoplasma gondii*  
**TPSA** – Antígeno prostático específico total  
**TRH** – Hormona libertadora de tireotrofina  
**TRIGL** – Triglicédeos  
**TSH** – Hormona estimulante da tiroide  
**TT** – Tempo de trombina  
**UA** – Ácido úrico sérico e na urina  
**URE** – Ureia sérica e na urina  
**VITD** – Vitamina D  
**VLDL** – Lipoproteína densidade muito baixa  
**VS** – Velocidade de sedimentação

## **RESUMO**

No decorrer do segundo ano do Mestrado de Análises Clínicas, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, foi-me dada a oportunidade de realizar o Estágio Curricular durante seis meses no Laboratório José Manuel Chau S.A, em Coimbra, pertencente ao Grupo de Laboratórios Beatriz Godinho Saúde.

Este Estágio Curricular, sob a orientação da Dra. Ana Filipa Paredes (O.F Célula nº 9663), Diretora Técnica do Laboratório José Manuel Chau S.A, permitiu-me observar a realidade do dia-a-dia num laboratório de análises clínicas. No laboratório, contactei com diversas áreas, nomeadamente Hematologia, Bioquímica, Imunologia, Microbiologia e Urianálise.

Neste relatório são descritas análises realizadas em cada setor, juntamente com alguns casos clínicos resultantes de avaliações reais que ocorreram no Laboratório José Manuel Chau. De todas as áreas existentes, este relatório vai incidir, com mais pormenor, nas áreas de Hematologia e Bioquímica.

Palavras-chave: Análises Clínicas, Hematologia, Bioquímica, Imunologia, Grupo Beatriz Godinho Saúde.

## **ABSTRACT**

In the course of the second year of the master's degree in Clinical Analysis, in the Faculty of Pharmacy, at the University of Coimbra, I had the opportunity to carry out the Curricular Internship during six months at the José Manuel Chau Laboratory, in Coimbra, belonging to the Beatriz Godinho Saúde Laboratories Group.

This Curricular Internship, under the guidance of Dra. Ana Filipa Paredes (O.F. Cell n° 9663), Technical Director of José Manuel Chau S.A Laboratory, allowed me to observe the daily life in a clinical analysis laboratory. In the laboratory, I had contact with several areas, namely Hematology, Biochemistry, Immunology, Microbiology and Urinalysis,

This report describes the work performed in each sector, along with some real clinical cases that came from José Manuel Chau Laboratory routine. Of all the existing areas, this report will focus, with more detail, in the areas of Hematology and Biochemistry.

Keywords: Clinical Analysis, Hematology, Biochemistry, Immunology; Beatriz Godinho Saúde Group.

## **INTRODUÇÃO**

Após realizada a Licenciatura em Bioquímica na Universidade do Algarve, decidi prosseguir estudos na área de Análises Clínicas, tendo ingressado no Mestrado de Análises Clínicas da Universidade de Coimbra em outubro de 2021.

É de conhecimento geral que as análises clínicas são uma ferramenta fundamental para o diagnóstico e monitorização de diversas patologias, pois são a base de grande parte das decisões médicas tomadas no decurso do tratamento de um paciente. Cada vez mais têm sido implementados métodos mais específicos, sensíveis e automatizados de diagnóstico, diminuindo a percentagem de erros humanos cometidos na realização dos testes analíticos. Esta automatização também permite diminuir o custo da análise, o tempo da obtenção do resultado analítico, e a disponibilização do resultado das análises em tempo útil ao clínico.

Todos os laboratórios atualmente têm normas de segurança que garantem o manuseamento correto e seguro das amostras biológicas, assim como têm controlos que certificam a qualidade dos testes clínicos realizados, nomeadamente controlos internos e externos.

Este relatório do Estágio Curricular realizado no Laboratório José Manuel Chau em Coimbra, aborda as diferentes áreas presentes no laboratório e a maioria das análises aí realizadas, mas vai incidir maioritariamente nas áreas de Hematologia e Bioquímica.





## **O Laboratório José Manuel Chau S.A (Coimbra)**

O Grupo Beatriz Godinho Saúde integra, atualmente, três grandes laboratórios em Leiria, Coimbra e Seia e mais de cento e sessenta postos de colheitas. A direção técnica do Laboratório José Manuel Chau está a cargo da Dra. Ana Filipa Paredes (cédula nº 9663).

Todos os Laboratórios do Grupo Beatriz Godinho estão conectados por uma rede informática comum - *E-Deia Lab*<sup>®</sup> - que garante diversas funcionalidades para o bom funcionamento do laboratório, como a criação de processos individuais de utentes, a gestão de qualidade, a comunicação entre aparelhos e segurança, entre outros. Todas as amostras são identificadas através de códigos de barras, o que permite manter a confidencialidade ao longo de todo o processo analítico.

O Laboratório José Manuel Chau em média recebe mais de quatrocentos utentes, diariamente, nos vários postos de colheitas existentes nos distritos de Coimbra e Aveiro. As amostras biológicas recolhidas vêm acompanhadas de uma requisição de análises e são processadas, na sua maioria, no próprio laboratório em Coimbra. Existem parâmetros analíticos menos comuns, que são processados no Laboratório Central Labeto em Leiria, ou nos laboratórios subcontratados pelo Grupo Beatriz Godinho Saúde. Para isso, as amostras são preparadas previamente no laboratório, para o transporte nas condições adequadas.

O laboratório tem contacto direto com as empresas fornecedoras de material/equipamentos para resolver qualquer alteração e/ou problema que possa existir com os mesmos. Desta forma garante-se a rapidez na resolução de problemas técnicos ou informáticos.

Os colaboradores da área administrativa conferem diariamente todos os processos que foram registados em todos os postos de colheitas, e todos os colaboradores são responsáveis pelo aviso interno de qualquer situação não conforme, como a falta de uma amostra ou a adição de novas análises a uma amostra já processada. Similarmente, são responsáveis por garantir que toda a faturação está correta e que os utentes sejam informados de qualquer alteração que o seu processo sofra (como por exemplo, na alteração na data prevista de entrega de resultados).

Dentro do laboratório de processamento de amostras, todo o trabalho é acompanhado por profissionais da área analítica - especialistas, técnicos superiores de laboratório, técnicos de análises - que garantem a validação analítica da informação contida no boletim de análises que,

posteriormente, será validada biopatologicamente pela Diretora Técnica ou sua substituta, finalizando-se o processo com a impressão e envio/entrega ao utente.

A fiabilidade das análises realizadas no laboratório é garantida pelo controlo de qualidade laboratorial que garante a segurança, a eficiência e a qualidade do processo de realização das mesmas. O controlo de qualidade laboratorial engloba a execução dos programas a nível da qualidade interna e externa, a identificação, a análise e a correção de não conformidades, a realização de auditorias internas e o acompanhamento dos indicadores de qualidade, promovendo, desta forma, a melhoria contínua do serviço prestado pelo laboratório.

## **FASE PRÉ-ANALÍTICA**

A fase pré-analítica corresponde a todo o processo, desde que a requisição médica é registada até ao momento em que a amostra está pronta para ser analisada (1).

Atualmente, a fase pré-analítica é responsável por cerca de 70% dos erros cometidos em diagnósticos laboratoriais, a maioria dos quais decorre de problemas na preparação do paciente, na colheita da amostra, no transporte e na preparação para análise e armazenamento da mesma (2). Os tipos de erros pré-analíticos mais comumente relatados são:







- a) falta de amostra e/ou solicitação de teste;
- b) identificação incorreta ou ausente;
- c) amostras hemolisadas, coaguladas e insuficientes;
- d) recipientes inadequados;
- e) proporção inadequada de sangue para anticoagulante;
- f) condições inadequadas de transporte e armazenamento;
- g) não respeitar os requisitos de colheita de determinadas amostras (p.e data prévia).

### **COLHEITA DE AMOSTRAS**

A colheita de amostras no posto Elísio de Moura, no Laboratório Chau, ocorre maioritariamente entre as 8h e as 12h, de segunda-feira a sábado. A maioria das amostras recolhidas são sangue e urina. A punção venosa é maioritariamente efetuada para tubos de soro, EDTA e citrato. A urina é recolhida consoante a análise pedida - sumária (urina II), urocultura, microalbuminúria ou outros doseamentos para bioquímica urinária que requerem a recolha do volume das vinte e quatro horas.

Em casos de amostras que precisam ser analisadas com urgência, ou tenham sido entregues atrasadas, ou pertençam a mais do que um processo, entre outros “casos especiais”, existem etiquetas de cores que são usadas nos tubos e permitem, mais facilmente, a deteção visual dessas amostras, pelos colaboradores. Na tabela I encontram-se descritas as cores das etiquetas e em que caso são utilizadas.

**Tabela 1** – Descrição das etiquetas utilizadas para identificação de amostras “especiais”.

Cor da etiqueta		Análise
Vermelho		Urgente
Laranja		Urocultura (urina)
Amarelo		Atrasado
Verde		Urina 24h
Azul		Utente tem 2 ou + processos com análises para fazer da mesma amostra
Preto		Nova colheita

Todas as amostras recolhidas, independentemente do tipo de amostra, são identificadas com uma etiqueta de código de barras que descreve o nome do utente e o número de tubo, os quais estão associados ao seu processo. Consoante a amostra, existem siglas, nos códigos de barra, para a identificação de cada recipiente utilizado na colheita, como descrito na tabela 2.

**Tabela 2** – Descrição dos códigos utilizados para identificar cada recipiente utilizado na colheita do produto biológico.

Recipiente	Código (sigla)
Tudo de EDTA	L0; LF
Tubo de Soro	B0
Tubo de Citrato	A0
Tubo de Urina	U0; U2
Fezes	F1; F2; F3

## **DISTRIBUIÇÃO DE AMOSTRAS**

Quando as amostras são entregues no laboratório são separadas consoante a secção a que se destinam:

- Tubos de soro → Bioquímica e Imunologia
  - Os tubos de soro são centrifugados, após retração do coágulo, e quando necessário o soro é separado em alíquotas para o envio para o exterior.
- Tubos de EDTA → Hematologia
- Tubos de citrato → Coagulação
  - Os tubos de citrato são utilizados para obtenção do plasma, onde se vão avaliar os tempos de coagulação (PT, aPTT).

- No caso de utentes cujo EDTA cause a aglutinação de plaquetas, recorre-se muitas vezes à determinação das plaquetas, a partir do tubo de citrato que foi colhido para esse efeito.
- Tubos de urina → Urianálise
  - Os tubos com amostra de urina utilizados para determinar a química urinária são sempre previamente centrifugados, antes de serem analisados. Desta forma, garante-se o depósito de qualquer muco ou partículas sólidas que possam interferir no doseamento.
- Recipientes com fezes, exsudatos, expetorações, espermogramas → Avaliados na secção de Microbiologia

No Laboratório José Manuel Chau, o aparelho **Cobas p612<sup>®</sup>** da Roche (Figura 1) faz a distribuição das amostras para os respetivos tabuleiros (*racks*), automaticamente, consoante as análises requeridas nos processos.



**Figura 1** – Equipamento *Cobas p612<sup>®</sup>* da Roche.

## **CONTROLO DE QUALIDADE**

O controlo de qualidade inclui o estabelecimento de um padrão de qualidade ou especificações para cada procedimento de teste, a determinação de quão próximo do padrão de qualidade está o procedimento do teste e, em seguida, a tomada de quaisquer ações corretivas necessárias para adequar os procedimentos ao padrão exigido. Na prática, o objetivo do controlo de qualidade interno é verificar se um laboratório produzirá o mesmo resultado se o teste ou procedimento for realizado em diferentes ocasiões (dentro da variação do laboratório) (3).

A garantia de qualidade externa permite ao laboratório testar as mesmas amostras ou realizar o mesmo procedimento que outros laboratórios, comparar o resultado obtido e o seu desempenho entre eles (3).

Diariamente e antes da análise das amostras, são utilizados controlos e calibradores (conforme a necessidade) em todos os equipamentos fornecidos pela casa comercial dos mesmos, para garantir que os resultados obtidos sejam fidedignos.

## FASE ANALÍTICA

A fase analítica envolve a realização do teste de laboratório, ou seja, a medição do analito, a validação analítica do resultado e a validação biopatológica. Com a melhoria dos ensaios de laboratório, a sua automatização e as melhores práticas de controle de qualidade, ocorrem cada vez menos erros nesta fase. A padronização dos ensaios também tem contribuído para a diminuição das variações interlaboratoriais e para a harmonização da fase analítica. Esquemas externos de controle de qualidade são usados regularmente pelos laboratórios para monitorar o seu desempenho nesta fase (1).

## SETOR DE HEMATOLOGIA

No setor de Hematologia as análises mais requisitadas são o hemograma, a velocidade de sedimentação, a hemoglobina glicada (HbA1c), os tempos de coagulação e o grupo sanguíneo.

### • HEMOGRAMAS

Os hemogramas são processados nos tubos de EDTA (e, quando necessário, em tubos de citrato apenas para a contagem e/ou confirmação de plaquetas) no aparelho **XN-1000** da **Sysmex**<sup>®</sup> (Figura 2) que utiliza tecnologia de Citometria de Fluxo Fluorescente.

No hemograma são avaliados vários parâmetros entre eles: o Eritrograma, Leucograma e Trombocitograma. Sempre que se justifique a confirmação dos valores obtidos no aparelho, avalia-se o esfregaço sanguíneo corado pelo método *May Grunwald-Giemsa*.



Figura 2 – Equipamento XN-1000 da Sysmex<sup>®</sup>.

○ Eritrograma abrange:

- Eritrócitos (GV) e Hemoglobina (HGB)

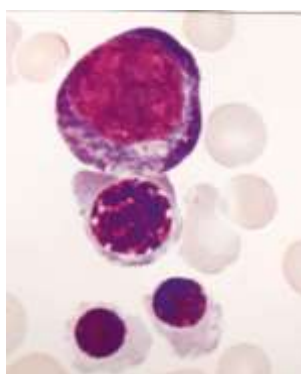
Os eritrócitos têm como principal função o transporte de oxigênio para os tecidos e o CO<sub>2</sub> dos tecidos para os pulmões para ser expelido, sendo a proteína hemoglobina a responsável por estas trocas (4).

A eritropoiese é o processo pelo qual se forma o eritrócito maduro. A primeira célula de linhagem eritrocitária observada na medula óssea é o proeritroblasto, uma célula grande com

citoplasma azul-escuro com uma cromatina nuclear pouco visível. O proeritroblasto vai sofrer ainda quatro ciclos celulares até se transformar num eritrócito maduro (Figura 3 e 4) (4).



**Figura 3** – Fases de diferenciação e maturação dos eritrócitos (4).



**Figura 4** – De cima para baixo, eritroblasto basofílico, policromático e dois picnóticos (4).

À medida que os eritroblastos se vão tornando menores, passam a ter quantidades maiores de hemoglobina, o que confere à célula uma cromatina nuclear mais condensada. Por fim o núcleo vai sofrer uma extrusão no eritroblasto picnótico formando-se o reticulócito que ainda contém alguns vestígios de RNA ribossômico, capaz de sintetizar mais hemoglobina. Por fim, o reticulócito, depois de um ou dois dias na medula, perde totalmente o RNA e é libertado no sangue periférico como eritrócito maduro (4).

Os eritrócitos normais no sangue periférico são circulares de tamanho uniforme ( $\sim 8\mu\text{m}$ ), podendo ser observadas ligeiras variações no tamanho - anisocitose (4).

- Hematócrito

O hematócrito mede o volume de glóbulos vermelhos em comparação com o volume total de sangue (glóbulos vermelhos e plasma) (5) e é usualmente expresso em L/L ou em %.

- Volume Globular Médio (MCV)

O MCV define o tamanho dos glóbulos vermelhos e é usualmente expresso em fentolitro (fL) (6).

- Hemoglobina Globular Média (MCH)

O MCH quantifica a quantidade de hemoglobina por glóbulo vermelho e é expresso em picograma (pg) (6).

- Concentração de Hemoglobina Globular Média (MCHC)

O MCHC indica a quantidade de hemoglobina por unidade de volume. Ao contrário do MCH, o MCHC correlaciona a quantidade de hemoglobina com o volume da célula, sendo, por isso, uma concentração e não uma “quantidade”. É expresso em g/dL de glóbulos vermelhos (6).

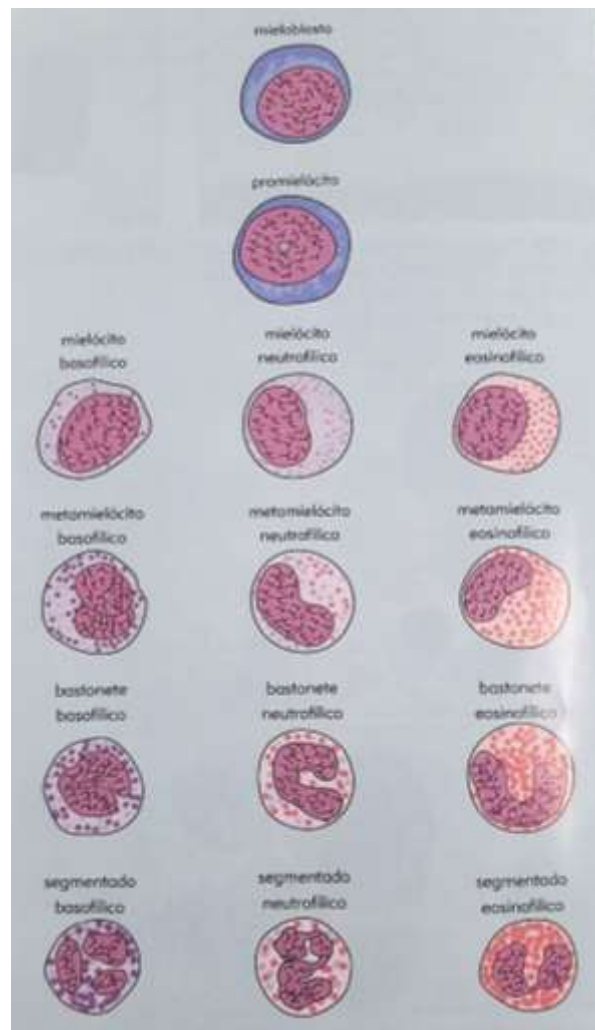
- RDW

O RDW representa o coeficiente de variação da distribuição (tamanho) do volume dos glóbulos vermelhos e é expresso em percentagem (6).

O Leucograma abrange:

- Leucócitos (GB)

Todos os leucócitos exercem de alguma forma um papel essencial na inflamação/defesa contra microrganismos. A granulopoise é responsável pela formação das células granulocíticas (basófilo, neutrófilo e eosinófilo) e a primeira célula da série é o mieloblasto. A divisão e diferenciação desta célula permite distinguir outros estádios, nomeadamente o promielócito, mielócito, metamielócito, bastonetes e segmentados (Figura 5) (4).



**Figura 5** – Fases de diferenciação e maturação dos granulócitos (4).



- Neutrófilos segmentados

Os neutrófilos (Figura 6) são considerados a primeira linha de defesa contra microrganismos agressores. A produção e diferenciação dos neutrófilos ocorre na medula óssea num período de seis a dez dias, sendo depois libertados na circulação sanguínea, onde vão exercer as suas funções fagocíticas (4).



**Figura 6** – Neutrófilo segmentado.

- Eosinófilos

Os eosinófilos (Figura 7) são igualmente capazes de fagocitose. São particularmente importantes nas alergias e nas doenças parasitárias. Quando estimulados, o conteúdo dos grânulos é libertado por exocitose contra os alvos (10).



**Figura 7** – Eosinófilo.

- Basófilos

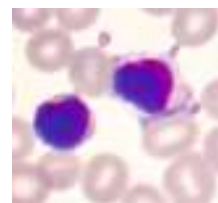
Os basófilos (Figura 8) são tipicamente as células mieloides menos observadas num esfregaço de sangue periférico. Tem numerosos grânulos azurófilos escuros que os distinguem facilmente. A basofilia não é um achado comum no sangue periférico (7).



**Figura 8** – Basófilo.

- Linfócitos

Os linfócitos (Figura 9) auxiliam os fagócitos na defesa do organismo e adicionam especificidade no mecanismo de combate a microrganismos estranhos. Os linfócitos são produzidos na medula e enquadram-se em dois grupos: os linfócitos T que sofrem maturação no timo e os linfócitos B que sofrem maturação ainda na medula. Os linfócitos migram e diferenciam-se nos tecidos linfoides (p.e gânglios linfáticos, baço e tecidos linfoides) onde vão adquirir os recetores de antígenos, garantindo a sua especificidade antigénica (4).



**Figura 9** – Linfócitos.

- Monócitos

Os monócitos (Figura 10) são glóbulos brancos originados na medula óssea, fazem parte da resposta imune inata e ajudam a regular a homeostase celular, especialmente em casos de infeção e inflamação. Representam aproximadamente 5% das células nucleadas no sangue e a sua meia-vida é de aproximadamente de um a três dias. A monocitopenia é um achado comum nas síndromes mielodisplásicas, enquanto a monocitose está mais associada a infeção, a trauma, a medicamentos e a doenças autoimunes (8).



**Figura 10** – Monócito.

O Trombocitograma abrange:

- N.º de plaquetas

As plaquetas são células sem núcleo derivadas de megacariócitos e normalmente circulam na corrente sanguínea por dez dias (9). As plaquetas normais (Figura 11) medem cerca de 1,5-3 µm de diâmetro e contêm grânulos azurófilos finos, que podem estar dispersos por todo o citoplasma ou concentrados no centro (10). A unidade de contagem de plaquetas utilizada no laboratório é  $10^9/L$ .



**Figura 11** – Plaquetas no sangue periférico.

As plaquetas estão envolvidas em muitos processos fisiopatológicos, incluindo hemostasia e trombose, retração de coágulos, inflamação, constrição e reparação de lesões vasculares. Quando ocorre dano a um dos vasos sanguíneos, as plaquetas passam por um conjunto altamente regulado de respostas funcionais, incluindo adesão, agregação, desgranulação e retração do coágulo, de maneira a formar rapidamente um trombo hemostático que oclui o local do dano, para evitar a perda de sangue. Quando há um defeito em qualquer uma destas funções e/ou no número de plaquetas, a hemostasia é prejudicada e pode haver um risco aumentado de sangramento associado. Em contraste, um aumento acentuado no número de plaquetas pode levar à formação inadequada de trombos. Trombos arteriais podem resultar em acidentes vasculares cerebrais ou enfarte do miocárdio, duas das principais causas de mortalidade no mundo ocidental (9).

- Volume plaquetário médio (MPV)

O MPV é a média das dimensões das plaquetas, calculadas por analisadores hematológicos e a população de plaquetas gigantes deve chegar de 0,2-5% de toda a população de plaquetas (11). Valores superiores podem significar patologia. Os valores de referência de MPV adotados variam entre 6,5-12,4 fL. Muitos fatores, incluindo raça, idade, tabagismo, consumo de álcool e atividade física podem alterar o MPV (12).

- Índice de anisocitose plaquetária (PDW)

O PDW é um marcador de anisocitose plaquetária, que descreve a distribuição do tamanho de plaquetas produzidas por megacariócitos e tem tendência a aumentar com a ativação plaquetária (12). A unidade de PDW adotada pelo laboratório é fL.

Na validação dos hemogramas, existem critérios internos do laboratório que obrigam a que alterações em certos resultados sejam confirmadas através da observação da lâmina de esfregaço sanguíneo ao microscópio, como por exemplo, o n.º de plaquetas ser inferior a 100 ( $\times 10^9/L$ ).

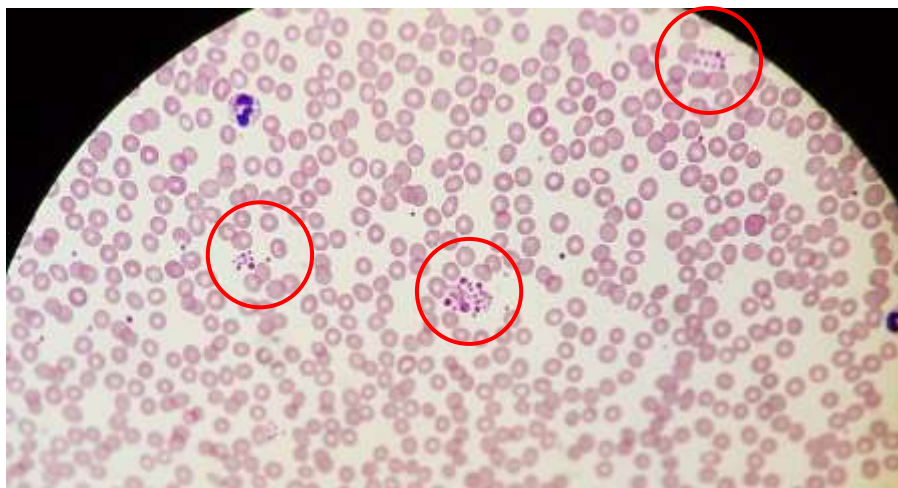
### CASO CLÍNICO I

Utente do sexo feminino com 74 anos de idade, deslocou-se em janeiro de 2023 a um dos postos de colheitas do Grupo Beatriz Godinho Saúde e foi realizada uma colheita para tubo de EDTA para execução do hemograma completo (+ plaquetas). Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 12.

HEMATOLOGIA					18/04/2019
<b>Hemograma (CF)</b>					
Hemograma com fórmula leucocitária (eritrograma, contagem de leucócitos, contagem de plaquetas, fórmula leucocitária e morfologia)					
<b>Eritrograma</b>					
Eritrócitos	4,19		$\times 10^{12}/L$	3,85 - 5,20	4,23
Hemoglobina	12,60		g/dL	11,50 - 16,00	12,70
Hematócrito	0,39		L/L	0,35 - 0,46	0,37
Vol. Glob. Médio	91,90		fL	80,00 - 97,00	87,50
Hg. Glob. Média	30,10		pg	26,00 - 34,00	30,00
C. Hg. Glob. Média	32,70		g/dL	32,00 - 36,00	34,30
RDW	13,70		%	11,50 - 15,00	12,70
<b>Leucograma</b>					
Leucócitos	8,91		$\times 10^9/L$	4,00 - 10,00	5,77
Neutrófilos segmentados	4,42	49,60 %	$\times 10^9/L$	1,50 - 8,00	3,28 24,30 %
Eosinófilos	1,13	12,70 %	$\times 10^9/L$	0,00 - 0,30	0,31 3,40 %
Basófilos	0,08	0,90 %	$\times 10^9/L$	0,00 - 0,30	0,05 0,50 %
Linfócitos	2,59	29,10 %	$\times 10^9/L$	0,80 - 4,00	1,58 27,40 %
Monócitos	0,69	7,70 %	$\times 10^9/L$	0,00 - 1,20	0,55 9,50 %
<b>Plaquetas</b>					
* Esta determinação foi efetuada em anticoagulante Citrato por se observar agregação plaquetária com o anticoagulante EDTA.					
*Plaquetas em tubo citrato (CF)	131		$\times 10^9/L$	140 - 440	

**Figura 12** – Valores do hemograma + plaquetas do caso I.

Pela observação dos resultados do eritrograma e leucograma não há alterações significativas. Já na contagem inicial de plaquetas, feita em tubo de EDTA, foi obtido o valor de  $90 \times 10^9/L$  (V.R: 140-440), o que significaria que a pessoa teria uma trombocitopenia. Segundo as normas de validação do laboratório, como a contagem das plaquetas deu  $<100 \times 10^9/L$ , a amostra de sangue foi direcionada para a execução e observação do esfregaço sanguíneo (Figura 13).



**Figura 13** – Imagem microscópica de um campo do esfregaço sanguíneo apresentado no caso 1.  
(Amostra proveniente de tudo de EDTA).

Como observado na Figura 13, o esfregaço feito a partir de sangue de tubo EDTA contém agregados plaquetares. Por este motivo, foi pedida nova colheita de sangue em tubo citrato e a nova contagem de plaquetas deu  $131 \times 10^9/L$  (normal) confirmando que não existiam de facto agregados plaquetares no sangue da utente.

Isto permite-nos concluir que uma baixa contagem de plaquetas na primeira avaliação se deveu à agregação de plaquetas no sangue devido ao EDTA. Este é um fenómeno *in vitro* conhecido como pseudo-trombocitopenia dependente de EDTA. Estudos recentes sugeriram que a pseudo-trombocitopenia dependente de EDTA é decorrente da presença de anticorpos anti plaquetários que reconhecem antigénios que ficam expostos na membrana plaquetária. Esta exposição é devida ao próprio EDTA, que é responsável pela quebra de ligações necessárias para a conformidade estável da membrana das plaquetas (13).

O uso de tubos com citrato de sódio foi implementado de forma a ser possível ultrapassar com eficácia a agregação plaquetária dependente de EDTA, em casos particulares.

## CASO CLÍNICO 2

Uma jovem de 17 anos dirigiu-se a um posto de colheitas em fevereiro de 2023 onde foi realizada uma colheita de sangue para tubo de EDTA para realização do hemograma completo (+ plaquetas). Segundo a informação recolhida, a jovem não tomava qualquer tipo de medicação, mas refere que tem perdas de sangue menstrual abundantes. O resultado do hemograma + plaquetas está demonstrado na Figura 14.

HEMATOLOGIA			
<b>Hemograma (CF)</b>			
Hemograma com fórmula leucocitária (eritrograma, contagem de leucócitos, contagem de plaquetas, fórmula leucocitária e morfologia)			
<b>Eritrograma</b>			
Eritrócitos	4,45	x10 <sup>9</sup> /L	3,85 - 5,20
Hemoglobina	6,20	g/dL	11,50 - 16,00
Hematócrito	0,24	L/L	0,35 - 0,46
Vol. Glob. Médio	54,80	fL	80,00 - 97,00
Hg. Glob. Média	13,90	pg	26,00 - 34,00
C. Hg. Glob. Média	25,40	g/dL	32,00 - 36,00
RDW	21,50	%	11,50 - 15,00
<b>Leucograma</b>			
Leucócitos	6,18	x10 <sup>9</sup> /L	4,00 - 10,00
Neutrófilos segmentados	3,55	57,50 %	x10 <sup>9</sup> /L 1,50 - 8,00
Eosinófilos	0,06	1,00 %	x10 <sup>9</sup> /L 0,00 - 0,30
Basófilos	0,04	0,60 %	x10 <sup>9</sup> /L 0,00 - 0,30
Linfócitos	2,09	33,80 %	x10 <sup>9</sup> /L 0,80 - 4,00
Monócitos	0,44	7,10 %	x10 <sup>9</sup> /L 0,00 - 1,20
<b>Plaquetas</b>	256	x10 <sup>9</sup> /L	140 - 440
<b>Observações:</b>	Anisocitose e macrocitose plaquetárias.		

Figura 14 – Valores do hemograma + plaquetas do caso 2.

Pela observação dos resultados, o eritrograma está bastante alterado. A utente, segundo os valores obtidos, apresentava uma anemia hipocrômica e microcítica com acentuada anisocitose. Foi feito o esfregaço sanguíneo para observação detalhada das alterações morfológicas no sangue da utente (Figura 15).

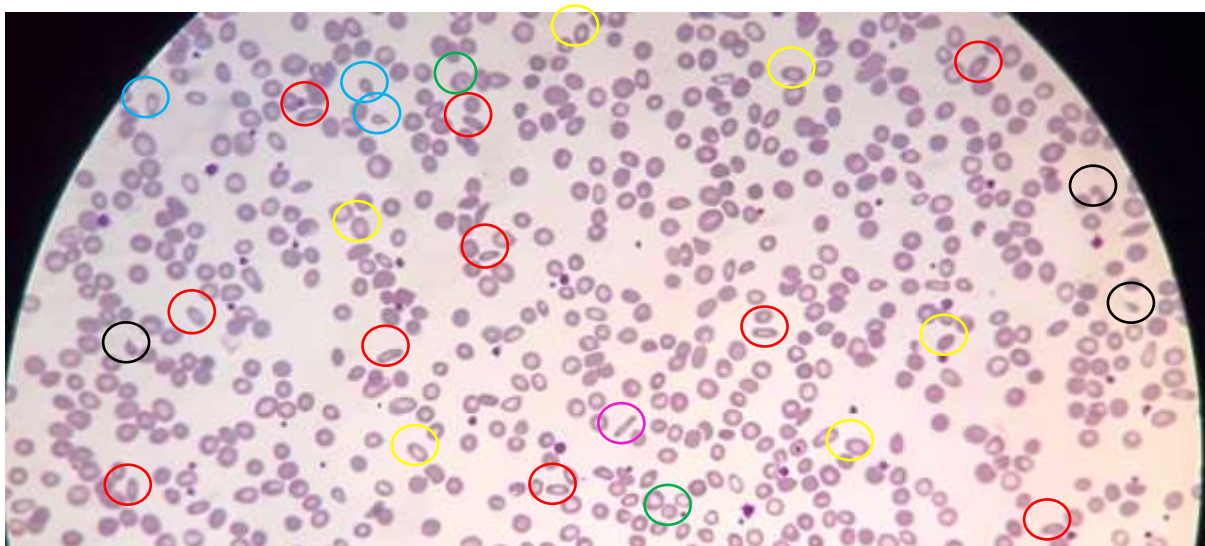


Figura 15 – Imagem microscópica de um campo do esfregaço sanguíneo apresentado no caso 2.

Como observado na Figura 15, o esfregaço apresenta bastantes alterações da série eritrocitária. Para além da hipocromia e anisocitose, observa-se também:

- . Ovalócitos ○ e Eliptócitos ○

Os ovalócitos e eliptócitos variam de formas ligeiramente ovais a formas mais alongadas (14).

. Células em lágrima ○

As células em lágrima são glóbulos vermelhos com uma extremidade arredondada e a outra mais pontiaguda (14).

. Células em charuto ○

As células em charuto são células finas e planas com a hemoglobina na periferia da célula (14).

. Esquizócitos / Poiquilócitos ○

Os esquizócitos são eritrócitos fragmentados que aparecem numa variedade de formas morfológicas, como pequenos eritrócitos triangulares e eritrócitos com 2 a 3 projeções de superfície pontiagudas (14).

. Células em alvo ○

As células em alvo têm um disco de hemoglobina localizado no centro, rodeado por uma área mais clara e com uma borda externa de hemoglobina adjacente à membrana celular, dando à célula a aparência de um alvo (14).

. Eritrócitos policromatófilos (Nota: não visíveis no campo apresentado na Figura 15)

Os eritrócitos policromatófilos (Figura 16) observados no esfregaço sanguíneo representam reticulócitos jovens e o seu diâmetro médio é 27% maior que o dos eritrócitos adultos. Normalmente, os eritrócitos policromatófilos constituem 5% ou menos da população dos reticulócitos circulantes (15).



**Figura 16** – Eritrócito policromatófilo.

Em relação ao leucograma não se observaram alterações morfológicas significativas no esfregaço sanguíneo corado. Em relação às plaquetas, revelou-se anisocitose e macrocitose plaquetária (plaquetas com diferentes tamanhos e algumas gigantes).

### CASO CLÍNICO 3

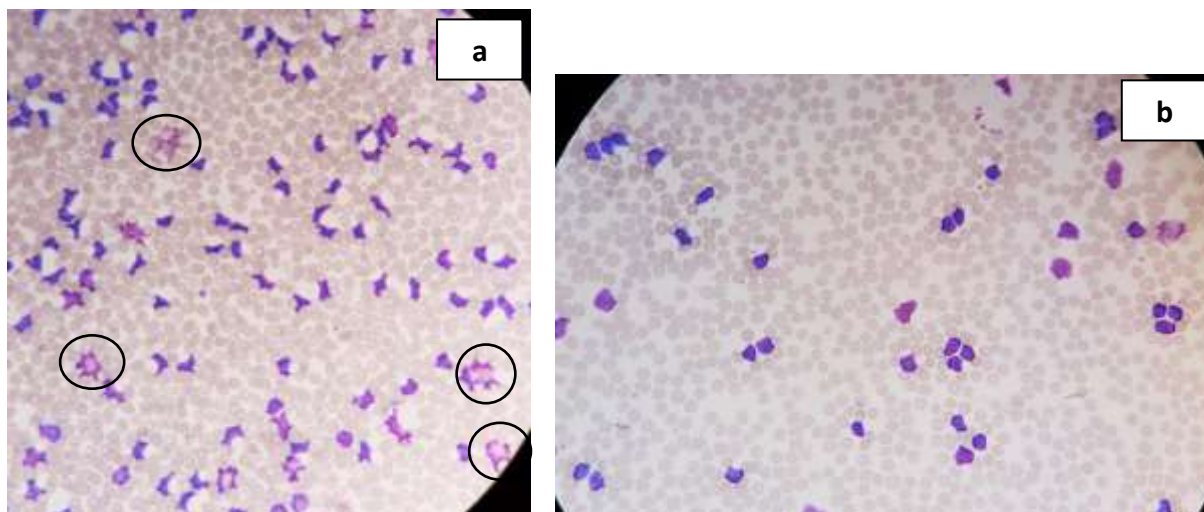
Um senhor de 67 anos deslocou-se em fevereiro de 2023 a um dos postos de colheitas do Grupo Beatriz Godinho Saúde para fazer análises, entre as quais o hemograma completo (+ plaquetas). Segundo a informação fornecida, o utente tinha sido diagnosticado com leucemia

linfocítica crônica. Para além disso, informou que tomava medicação para a tensão arterial e anticoagulante. O resultado do hemograma + plaquetas está demonstrado na Figura 17.

HEMATOLOGIA				26/07/2021	24/02/2021
<b>Hemograma (CF)</b>					
Hemograma com fórmula leucocitária (eritrograma, contagem de leucócitos, contagem de plaquetas, fórmula leucocitária e morfologia)					
<b>Eritrograma</b>					
Eritrócitos	4,22		x10 <sup>12</sup> /L	4,31 - 6,40	
Hemoglobina	12,70		g/dL	13,60 - 18,00	
Hematócrito	0,43		L/L	0,40 - 0,52	
Vol. Glob. Médio	100,70		fL	80,00 - 97,00	
Hg. Glob. Média	30,10		pg	26,00 - 34,00	
C. Hg. Glob. Média	29,90		g/dL	32,00 - 36,00	
RDW	15,60		%	11,50 - 15,00	
<b>Leucograma</b>					
Leucócitos	202,55		x10 <sup>9</sup> /L	4,00 - 10,00	
Neutrófilos segmentados	4,80	2,30 *	x10 <sup>9</sup> /L	1,50 - 8,00	
Eosinófilos	0,13	0,10 *	x10 <sup>9</sup> /L	0,00 - 0,30	
Basófilos	0,16	0,10 *	x10 <sup>9</sup> /L	0,00 - 0,30	
Linfócitos	195,07	96,30 *	x10 <sup>9</sup> /L	0,80 - 4,00	
Monócitos	2,39	1,20 *	x10 <sup>9</sup> /L	0,00 - 1,20	
<b>Plaquetas</b>					
Plaquetas	144		x10 <sup>9</sup> /L	140 - 440	
M.P.V.	11,5		fL	6,5 - 12,4	
P.D.W.	13,1		fL	9,5 - 15,2	
Observações:	Anisocitose e macrocitose plaquetárias.				

Figura 17 – Valores do hemograma + plaquetas do caso 3.

Pela observação do eritrograma o utente apresenta uma ligeira anemia macrocítica hipocrômica e segundo o leucograma revela uma acentuada leucocitose. Fez-se o esfregaço sanguíneo (Figuras 18a e 18b):



Figuras 18a e 18b – Imagens microscópicas do esfregaço sanguíneo apresentado no caso 3.

Segundo o esfregaço sanguíneo obtido, pode-se ver, para além de alguma macrocitose, as seguintes alterações:

- . Leucocitose com linfocitose

### . Abundantes linfócitos atípicos

Os linfócitos atípicos são maiores que um linfócito maduro. A célula pode apresentar uma aparência recortada na periferia pelas células circundantes. O núcleo pode ser oval, redondo, em forma de rim ou dividido. A cromatina é ligeiramente mais fina do que a de um linfócito maduro (16).

### . Abundantes sombras nucleares ○

As sombras nucleares (*smudge cells*) resultam da ruptura de linfócitos frágeis causada pelo processo de execução do esfregaço de sangue periférico. Eles são mais frequentemente associados aos distúrbios linfoproliferativos, pois as contagens totais de linfócitos são geralmente mais altas e pode haver defeitos de membrana adquiridos nesses distúrbios (17).

### • **HbA1c**

Para além dos Hemogramas, a Hemoglobina Glicada é também outro parâmetro muito requisitado no Laboratório Chau. A sua determinação é feita pelo equipamento *CAPILLARYS 3 OCTA* da *Sebia*<sup>®</sup> (Figura 19) a partir de sangue total em tubo de EDTA.



**Figura 19** – Equipamento *CAPILLARYS 3 OCTA* da *Sebia*<sup>®</sup>.

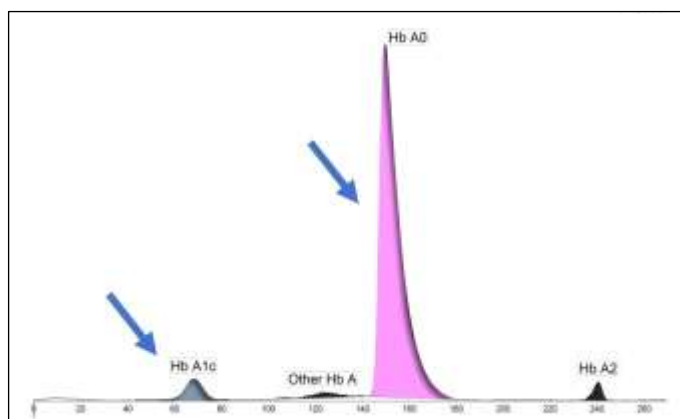
A hemoglobina glicada (HbA1c), é formada pela glicação da hemoglobina. É frequentemente medida em diabéticos, e nos indivíduos com intolerância à glicose para avaliar o seu estado glicémico nos últimos três meses. O valor de HbA1c deve ser mantido abaixo de 7% em todos os diabéticos, e valores superiores a 7%, por norma indicam maior probabilidade de evolução para complicações diabéticas, principalmente microvasculares (18).

No sangue existem vários tipos normais de hemoglobina, nomeadamente a HbA0, a HbA1c, a HbA2 e outras HbA (nomeadamente HbA1a + HbA1b). O equipamento *CAPILLARYS 3 OCTA* da *Sebia*<sup>®</sup> utiliza uma tecnologia de eletroforese capilar onde é possível separar estes tipos de hemoglobina. Para determinar o valor da HbA1c utiliza a seguinte fórmula (19):

$$\text{Valor HbA1c} = \frac{\text{área HbA1c}}{\text{área de HbA1c} + \text{área de HbA0}} \times 100$$

O padrão típico da eletroforese das hemoglobinas está exemplificado na Figura 20.



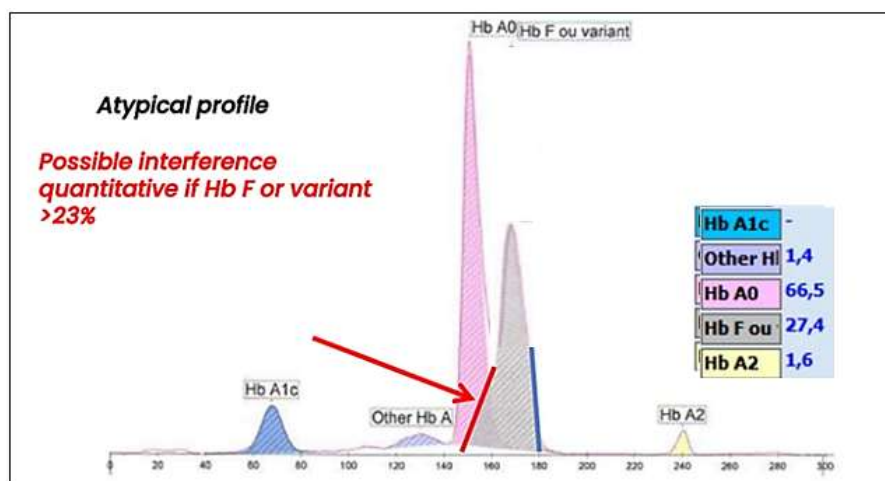


**Figura 20** – Frações normais de hemoglobina num perfil eletroforético capilar (40).

Existem diversas situações que podem aumentar o valor da HbA1c, tais como: deficiência de ferro ou de vitamina B12, falência renal crónica e alcoolismo.

A cirrose, esplenomegalia, hipertrigliceridémia, artrite reumatoide e a toma de aspirina em grandes quantidades são algumas das situações que tendem a diminuir o valor de HbA1c (19). As anemias hemolíticas ou situações onde haja perda elevada de sangue, levam a uma diminuição da taxa de sobrevivência dos glóbulos vermelhos, o que resulta numa diminuição dos níveis de HbA1c (18).

Algumas interferências podem ocorrer no cálculo da HbA1c, nomeadamente o aparecimento de algumas variantes, como por exemplo a HbF. Esta variante é o principal tipo de hemoglobina produzido pelo feto, e tende a diminuir na idade adulta, mantendo-se elevada em certos distúrbios hereditários (por exemplo, talassemia beta ou anemia falciforme) (19). A HbF tende a migrar perto da HbA0 e em alguns casos pode interferir com o cálculo da área do pico de HbA0, não sendo possível determinar a HbA1c (Figura 21).



**Figura 21**– Exemplo de um padrão eletroforético normal das hemoglobinas juntamente com a migração da HbF. O valor de HbA1c não pode ser relatado porque o ajuste entre HbA0 e HbF/variante está comprometido (19).

Quando não é possível realizar a medição da HbA1c, devem ser usados outros testes para monitorizar a diabetes (p.e a glicemia ou a frutossamina). A determinação da frutossamina corresponde à quantidade de proteínas plasmáticas (p.e albumina) que sofreram incorporação de glicose (glicação) através de um processo não enzimático. Níveis elevados e contínuos de glicemia levam a um aumento da glicação das proteínas, pelo que este método é muito utilizado na monitorização dos pacientes diabéticos (19).

### • VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO

A determinação da velocidade de sedimentação (VS) no Laboratório Chau é feita no aparelho *TEST I* da *ALIFAX*<sup>®</sup> (Figura 22) a partir de sangue total em tubo de EDTA, obtendo-se os resultados em poucos minutos.



**Figura 22** – Equipamento *TEST I* da *ALIFAX*<sup>®</sup>.

A determinação da taxa de sedimentação de eritrócitos (VS) é um teste de laboratório simples. O teste da VS mede a distância a que os eritrócitos caem após uma hora numa coluna vertical de sangue não coagulado sob a influência da gravidade. Esta determinação não é específica de nenhuma doença, mas ajuda a entender se existe alguma alteração a nível hematopoiético significativo de patologia (20).

Por exemplo, a quantidade de fibrinogénio no sangue está diretamente correlacionada com a VS. Qualquer condição que aumente o fibrinogénio (por exemplo, gravidez, diabetes *mellitus*, insuficiência renal, doença cardíaca, ...) também pode elevar a VS. As anemias também aumentam a VS pois, com o hematócrito diminuído, os eritrócitos depositam-se mais rapidamente. A macrocitose também aumenta a VS porque, quanto maiores forem os eritrócitos, mais rapidamente se depositam (20).

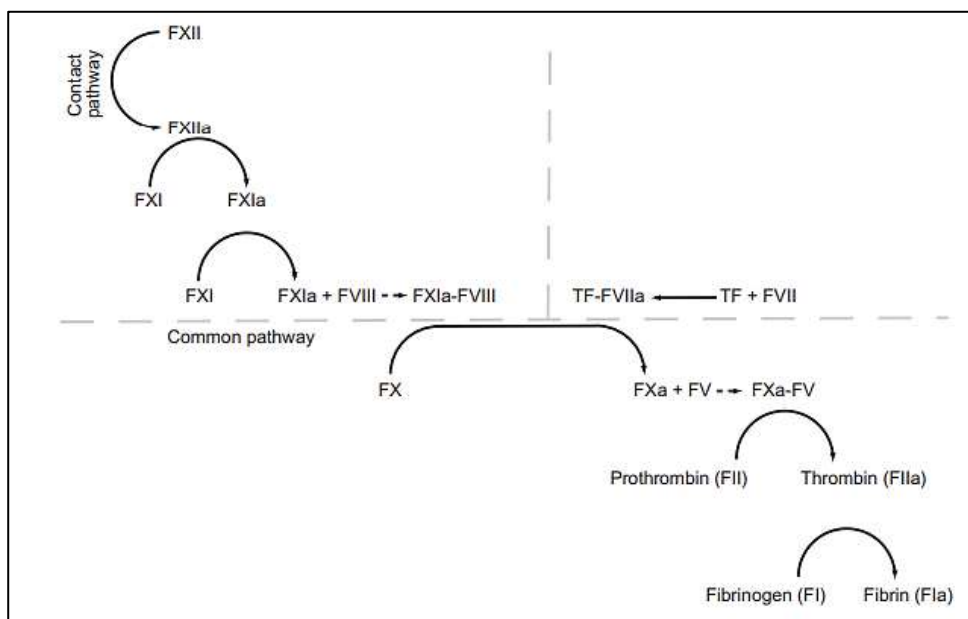
### • COAGULAÇÃO

Os tempos de coagulação, no Laboratório José Manuel Chau, são avaliados no equipamento *BCS XP* da *Siemens*<sup>®</sup> (Figura 23).



**Figura 23** – Equipamento *BCS XP* da *Siemens*<sup>®</sup>.

Os testes clínicos de coagulação são ensaios funcionais que avaliam a taxa de formação do coágulo desde o momento em que a cascata de coagulação é ativada. Esses testes são comumente usados para identificar defeitos das vias comum, extrínseca, intrínseca e final da cascata de coagulação (Figura 24), para que testes mais avançados possam ser feitos de modo a identificar defeitos específicos (21). Para fazer as determinações dos tempos de coagulação, centrifuga-se o sangue em tubo citrato e faz-se as determinações no plasma.



**Figura 24** – Cascata de coagulação *in vitro*. O aPTT inclui as vias intrínseca e comum. O PT inclui as vias extrínseca e comum (21).

O tempo de protrombina (PT) é sensível aos fatores das vias: extrínseca (FVII), comum (fatores II, V e X) e ao fibrinogênio. O PT é comumente usado para monitorar a terapia anticoagulante com *Varfine*. Algumas causas para PT prolongado são: deficiência nos fatores VII, X, V ou II, insuficiência hepática, deficiência de vitamina K e/ou altas doses de heparina (21).

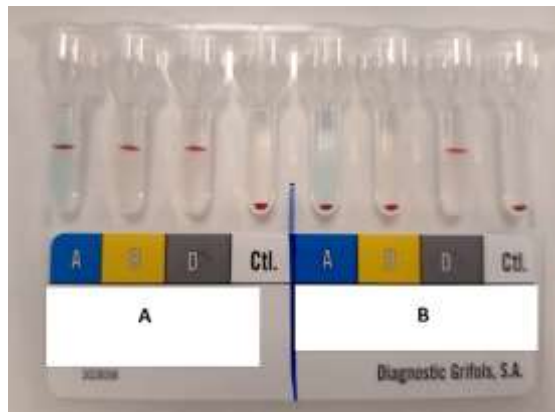
O tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT) é usado para avaliar a via intrínseca e a via comum da coagulação. O aPTT é clinicamente útil como um teste de triagem para deficiências de fatores hereditários e adquiridos. Algumas causas para o aPTT prolongado são: deficiências nos fatores XII, XI, IX, VIII, X, V, II ou I, deficiência de vitamina K, altas doses de heparina, entre outros (21).

O tempo de trombina (TT) é utilizado para avaliar a conversão de fibrinogênio em fibrina, na via comum final da cascata de coagulação. O TT mede o tempo de formação do coágulo quando a trombina é adicionada ao plasma citratado (21).

- **GRUPO SANGUÍNEO**

O sistema de grupos sanguíneos AB0 consiste em três alelos principais, dois codominantes A e B e um recessivo 0. As combinações possíveis dos três alelos geram quatro fenótipos principais, A, B, AB e 0, que são caracterizados pela presença (ou ausência) dos antígenos A e B na superfície das hemácias e pela presença de anticorpos naturais no soro contra o antígeno ausente na superfície das hemácias (22).

No Laboratório José Manuel Chau, a determinação do grupo sanguíneo é efetuada no sistema de *cards DG Gel confirm P* da GRIFOLS® (Figura 25), o qual utiliza colunas com antisoro A, antisoro B e antisoro D (Rh). Em colunas de antisoros nas quais haja aglutinação, significará que os glóbulos vermelhos do utente terão o antígeno correspondente na sua superfície.



**Figura 25** – DG Gel confirm P da GRIFOLS® com 2 testes do utente A e do utente B.

EXEMPLO PRÁTICO (figura 25): Ao observar o *card*, verifica-se que o utente A teve os eritrócitos aglutinados na coluna com antisoro A, antisoro B e antisoro D, o que indica que na superfície das suas hemácias existem os antígenos A, B e D. Desta forma conclui-se que o grupo sanguíneo do utente A será AB Rh (D) positivo.

No utente B, os eritrócitos aglutinaram na coluna com anti-soro D, o que indica que na superfície das suas hemácias existe apenas o antígeno D. Desta forma conclui-se que o grupo sanguíneo do utente B será 0 Rh (D) positivo.

## SETOR DE BIOQUÍMICA E IMUNOLOGIA

No Laboratório Chau, em Coimbra, as determinações analíticas de bioquímica e imunologia são feitas ambas em soro e o analisador que as determina é o *Cobas pro* (ISE, c503 e e801) da Roche® (Figura 26).



**Figura 26** – Analisador *Cobas pro* da Roche®.

A unidade *Cobas ISE*® utiliza três eléctrodos de iões seletivos (sódio, potássio e cloro) para determinar a concentração de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nas amostras de soro e urina (ionograma) pelo método de potenciometria indireta.

A unidade *Cobas pro c503*® é um analisador fotométrico para determinações quantitativas e qualitativas de testes *in vitro*. Os testes realizados neste módulo estão descritos na Tabela 3.

**Tabela 3** – Análises realizadas pela unidade *Cobas pro c503*® da Roche no Laboratório José Manuel Chau em Coimbra. (Consultar abreviaturas).

ALB	ALBT2U	ALP	ALT	AST	BILD2-D	BILT3	Ca <sup>2+</sup>	CHOL2
CK2	CREJ	CRP	FERR	FOL	GGT	GLUC	HDL	Fe <sup>2+</sup>
	LDH	LDL	Mg <sup>2+</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	TASO	TRIGL	UA	URE

A unidade *Cobas pro e801*® é um analisador que tem por base a técnica de eletroquimioluminescência para imunoensaios. Os testes realizados neste módulo estão descritos na Tabela 4.

**Tabela 4** – Análises realizadas pela unidade *Cobas pro e801*® da Roche no Laboratório José Manuel Chau em Coimbra. (Consultar abreviaturas).

A-HBS	AHCV	AHIV	ATG	ATPO	BI2	CA19-9	CEA	CMVIGG
CMVIGM	FPSA	FSH	T3	T4	HBSAG	HCG-BETA	HIV	LH
PRL	PROG	RUBIGG	RUBIGM	TOXOIGG	TOXOIGM	TSH	VITD	

## • FUNÇÃO RENAL

Quando os rins perdem a capacidade de regular a homeostase dos fluidos corporais, a taxa de filtração glomerular (TFG) diminui, acompanhada por limitações na conservação de sódio, secreção de iões potássio e excreção de ácidos. Medicamentos usados por pacientes são uma causa comum de hipercaliemia por meio de vários mecanismos fisiopatológicos. Além disso, a homeostase da água falha frequentemente devido a defeitos no centro da sede, capacidade de concentração urinária e excreção de água livre, resultando em hipernatremia ou hiponatremia em muitos doentes (23).

**Creatinina:** A creatinina é um produto residual que resulta das reações que fornecem energia para a contração muscular, sendo, eventualmente, eliminada pelos rins. Diversos estudos demonstram que a diminuição da clearance de creatinina está associada ao decréscimo progressivo na filtração glomerular com o envelhecimento. Se a creatinina não é expelida eficazmente, acumula-se no sangue, causando um aumento da creatinina sérica. O cálculo da clearance de creatinina utiliza a idade, o peso e a concentração de creatinina sérica do utente (24):

$$\text{Creatinine clearance} = \frac{(140 - \text{age in yrs})(\text{weight in kg})}{72 \times (\text{serum creatinine concentration, mg/dL})}$$

*[For females, the result is multiplied by 0.85]*

A função tubular também está sujeita à diminuição da sua habilidade para manter a homeostase de iões e fluidos no corpo, à medida que a idade avança (23).

**Sódio:** A ingestão de sódio e a sua acumulação/excreção é regulada principalmente pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona, que é essencial para a regulação do volume dos fluidos intravasculares e extracelulares. Quando há uma falha na libertação da renina, há uma resposta inadequada por parte da aldosterona que tem como consequência a contínua libertação de sódio pela urina, resultando numa hiponatremia e consequentemente numa hipovolémia (23).

**Potássio:** A aldosterona facilita a transferência de potássio e estimula a bomba Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase, responsável pelo transporte ativo do K<sup>+</sup> do sangue para o lumen das células tubulares, para depois ser expelido pela urina. Com a idade, estes mecanismos vão ficando mais ineficazes e por isso o K<sup>+</sup> não é expelido com a mesma eficácia, pelo que os indivíduos ficam em risco de hipercaliemia (23).

**Ureia:** O metabolismo renal do nitrogénio envolve principalmente o metabolismo da ureia e da amónia, estando estes relacionados com a degradação das proteínas dietéticas e endógenas. Além de servir como uma via de excreção de nitrogénio, o transporte de ureia desempenha um papel fundamental no mecanismo de concentração da urina e no equilíbrio ácido-base. Condições clínicas associadas à alteração da capacidade de concentração da urina ou da homeostase da água podem resultar em alterações na excreção de ureia (25).

A ureia é filtrada através do glomérulo e entra no túbulo proximal. A concentração de ureia no ultrafiltrado é semelhante à do plasma, pelo que a quantidade de ureia que entra no túbulo proximal é controlada pela taxa de filtração glomerular. Se a TFG estiver alterada, a quantidade de ureia sérica e de ureia excretada na urina vão estar também alteradas (25).

**CASO CLÍNICO:** Utente de sexo masculino com 83 anos, em março de 2023, dirigiu-se ao posto de colheitas com uma requisição de análises de bioquímica para avaliar a função renal. Os valores obtidos de ureia, creatinina e ionograma encontram-se descritos na Figura 27. O utente informou que toma medicação para o colesterol e para a tensão arterial.

<b>Ureia</b> (Cinético com urease e GLDH)	94	mg/dL	17 - 49
	15,70	mmol/L	2,84 - 8,18
<b>Creatinina</b> (Colorimétrico cinético)	1,83	mg/dL	0,70 - 1,20
	162	µmol/L	62 - 106
<b>Ionograma</b> (Potenciometria)			
Sódio	140	mmol/L	136 - 145
Potássio	6,3	mmol/L	3,5 - 5,1
Cloretos	108	mmol/L	98 - 107

**Figura 27** – Valores obtidos em parâmetros utilizados na avaliação da função renal do utente de 83 anos.

O valor da ureia e creatinina séricas estão elevados, o que sugere alteração da TFG do rim. Como tal, os metabolitos que deveriam ter sido expelidos, acumularam-se no sangue. Para além da ureia e da creatinina, o potássio está também elevado, o que sugere dano nas células tubulares do rim, causando hipercaliemia.

Estas situações são muito comuns em utentes com idade avançada, pois as células glomerulares e tubulares não funcionam tão eficazmente, seja por motivos de deficiente produção de energia ou por danos causados por xenobióticos (24). Como não se tem acesso ao histórico clínico e informações médicas do utente, apenas se pode supor as possíveis causas.

## • FUNÇÃO HEPÁTICA

O fígado é o principal órgão para diversos processos fisiológicos, entre os quais se destacam o armazenamento de glucose na forma de glicogénio (fonte de energia), a regulação do volume plasmático, o suporte do sistema imunológico, a homeostase de glucose, a homeostase de lipídios e de colesterol e o metabolismo de xenobióticos. Finalmente, o fígado é também responsável pelo metabolismo de proteínas e aminoácidos e pela eliminação de resíduos nitrogenados provenientes da degradação de proteínas na forma de ureia (26).

A maioria das proteínas, entre elas a albumina, são produzidas no fígado, sendo esta, a proteína existente em maior concentração no plasma. Por esta razão, alterações hepáticas estão associadas a uma diminuição da síntese de proteínas, causando alterações na pressão oncótica no organismo (27).

As enzimas hepáticas são comumente usadas para fornecer informações sobre se o distúrbio de um paciente é de origem hepatocelular e/ou colestática. A obstrução biliar resulta em níveis elevados de fosfatase alcalina (ALP), gamma-glutamilttransferase (GGT) e, eventualmente, de bilirrubina (28).

### **Bilirrubina**

A bilirrubina é o produto catabólico da protoporfirina do grupo heme da hemoglobina. É transportada na sua forma não conjugada (indireta) para o fígado, onde é conjugada, sendo por fim libertada na sua forma conjugada (direta). Níveis séricos de bilirrubina elevados, sugerem, na maioria das vezes, doença hepática, mas também podem significar outro tipo de doença como, por exemplo, anemia hemolítica. A ocorrência de hiperbilirrubinemia não conjugada, ocorre devido à superprodução de bilirrubina, diminuição da captação/conjugação hepática ou a ambos (29).

### **Alanina Transaminase (ALT)**

A ALT é produzida nos hepatócitos e é um marcador muito específico de lesão hepatocelular. Encontra-se em baixas concentrações noutros tecidos, portanto, é mais específica que a AST. Durante o dia, a concentração de ALT no organismo varia, e o seu aumento acima de valores normais pode ocorrer devido ao uso de certos medicamentos ou durante a prática de exercícios extenuantes (28).



### **Aspartato transaminase (AST)**

A AST está presente nos hepatócitos, no tecido muscular esquelético, cardíaco e renal. Geralmente aumenta em conjunto com ALT para indicar lesão hepatocelular (28).

### **Fosfatase alcalina (ALP)**

A ALP é produzida nas membranas das células que revestem os ductos e canalículos biliares e é libertada em resposta à acumulação de sais biliares ou à colestase. É também produzida no rim, no intestino, nos leucócitos, na placenta e nos ossos, mas em menor quantidade. A ALP em certas condições fisiológicas está mais aumentada, como por exemplo em grávidas ou em crianças em crescimento (28).

### **Gama-glutamiltransferase (GGT)**

A GGT está presente no fígado, no rim, no pâncreas e no intestino. O seu aumento, juntamente com o aumento da ALP, é altamente sugestivo de uma obstrução do trato biliar. Quando num indivíduo há consumo crónico de álcool ou drogas, a GGT também tem tendência a aumentar (28).

### **Razão AST/ALT**

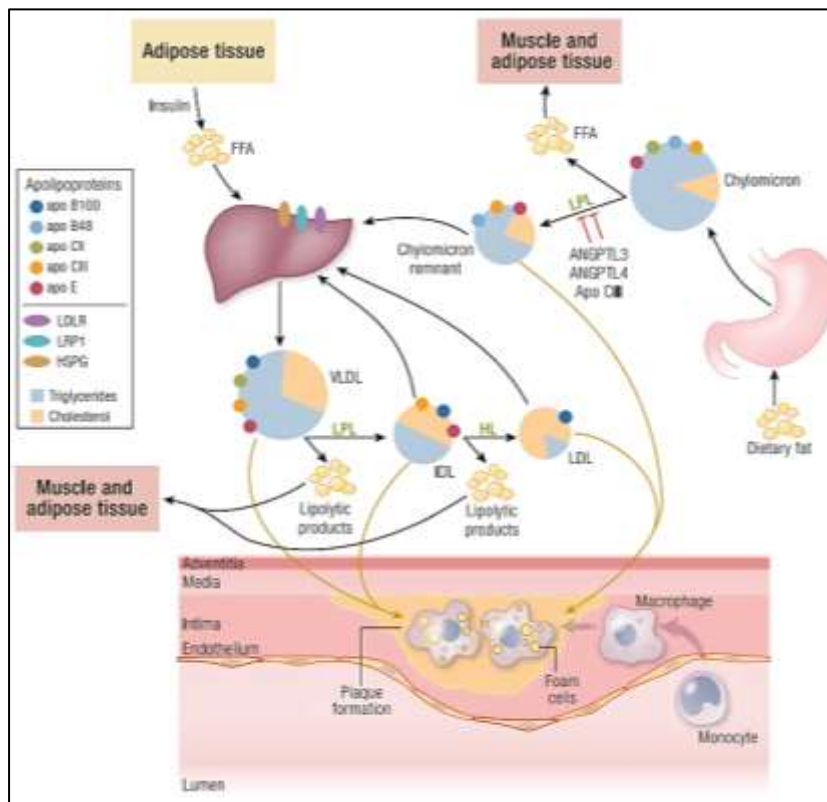
A relação AST/ALT pode auxiliar na diferenciação do local da obstrução biliar. Quando associada a quadro colestativo, uma relação AST/ALT <1,5 sugere obstrução extra-hepática. Uma relação AST/ALT >1,5 provavelmente indica que a colestase é intra-hepática (28).

- **TRIGLICERÍDEOS E COLESTEROL**

Os triglicerídeos (TRIGL) representam um grupo heterogéneo de lipoproteínas de tamanho, densidade, carga proteica e composição lipídica do núcleo variáveis. Os TRIGL têm origem em duas vias: a via exógena através do intestino delgado e a via endógena através do fígado (30).

Na via exógena, os triglicerídeos são digeridos no intestino delgado e são transportados para dentro dos enterócitos, onde é incorporada a apoproteína B48. Seguidamente são libertados para a linfa na forma de quilomicrons e posteriormente chegam ao sangue. Os TRIGL contidos nos quilomicrons são hidrolisados pela enzima lipoproteína lipase (LPL), formando ácidos gordos e glicerol, que podem ser utilizados no músculo para formação de ATP, ou no tecido adiposo para a síntese de mais TRIGL (30).

Os quilomicrons, à medida que vão perdendo os TG (pela hidrólise da LPL), formam quilomicrons remanescentes. Os TRIGL e os seus remanescentes conseguem penetrar na parede arterial e podem ser captados por recetores *scavenger* em macrófagos diretamente sem modificação oxidativa, levando à formação de células espumosas e ao desenvolvimento de placas ateroscleróticas (Figura 28) (30).



**Figura 28** – Metabolismo das lipoproteínas ricas em triglicerídeos e mecanismo da aterosclerose (30).

Na via endógena, as VLDL são produzidas nos hepatócitos a partir de ácidos gordos livres derivados da circulação ou sintetizados recentemente no fígado. Seguidamente, uma variedade de apolipoproteínas é adicionada à superfície da partícula VLDL nascente durante a secreção, incluindo apoB100, apoCII, apoCIII e apoE. Uma vez que a VLDL é secretada no plasma, a LPL hidrolisa os TRIGL dentro do núcleo, gerando remanescentes de VLDL e partículas de IDL. As partículas de IDL são posteriormente catabolizadas em LDL (Figura 28) (30).

As HDL são responsáveis por recolher partículas lipídicas encontradas na corrente sanguínea e transportá-las novamente para o fígado (hepatócitos), onde são depois secretadas para os túbulos biliares e por fim excretados para o intestino (30).

A hipertrigliceridemia está frequentemente associada a alterações de lipoproteínas, como diminuição dos níveis de colesterol HDL e níveis elevados de partículas LDL pequenas e densas. Tudo isto está associado a um aumento do risco de acidentes cardiovasculares. O aumento dos triglicerídeos e colesterol pode surgir como consequência de uma dieta rica em gorduras e hidratos de carbono ou pode estar associado a doenças como a *Diabetes mellitus* (30).

**CASO CLÍNICO:** Homem, de 44 anos, dirigiu-se ao Laboratório Chau em Coimbra com o objetivo de quantificar o colesterol e triglicerídeos (Figura 29 e 30). Segundo as informações fornecidas, o utente não toma qualquer tipo de medicação.

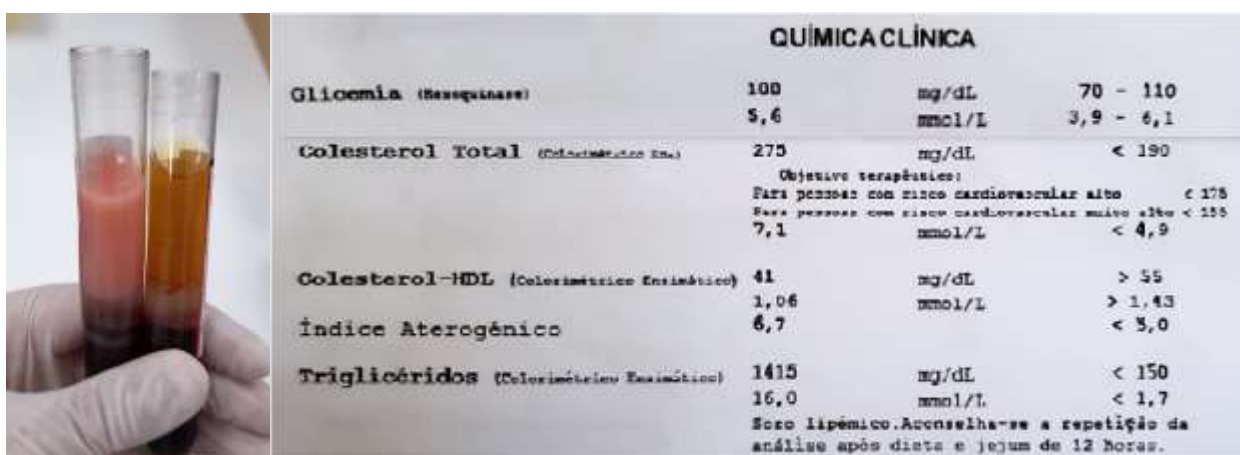


Figura 29 e 30 – Soro lipémico do utente e resultados das suas análises.

Como observado, o soro do utente estava lipémico, o que vai de encontro ao resultado altíssimo obtido dos triglicerídeos (1415 mg/dl > V.R). O colesterol total do utente está acima dos valores de referência e o colesterol HDL está abaixo do valor considerado aceitável, resultando num índice aterogénico elevado (Nota: índice aterogénico é calculado pela razão entre a concentração de colesterol total e de colesterol-HDL). Dado a falta de informações relativamente aos hábitos pessoais do utente, supõe-se que este utente tem uma dieta rica em gorduras e hidratos de carbono. Este utente está numa situação de risco aumentado para a ocorrência de acidentes cardiovasculares, pelo que os resultados são comunicados ao médico, o mais rapidamente possível.

- **DIABETES MELLITUS**

Atualmente, consegue-se identificar quatro tipos de *Diabetes mellitus*: tipo 1, tipo 2, “outros tipos específicos” e diabetes gestacional (31).

A diabetes *mellitus* tipo 1 é caracterizada pela destruição das células beta causada por um processo autoimune. O pâncreas, conseqüentemente, não consegue produzir quantidades adequadas de insulina. A insulina permite que a glicose seja transportada para o interior das células, pelo que a falta de insulina leva a que a glicose permaneça na corrente sanguínea e a sua concentração aumente (32). Mais de 95% das pessoas com diabetes *mellitus* tipo 1 desenvolvem a doença antes dos 25 anos, com incidência igual em ambos os sexos e prevalência aumentada na população branca (31).

Na diabetes *mellitus* tipo 2, as células do fígado tornam-se resistentes à insulina, causando redução da internalização de glicose. Frequentemente, o pâncreas aumenta a síntese de insulina em resposta ao aumento da glicemia, mas devido ao déficit de sinalização da insulina, não há translocação eficiente de transportadores GLUT4 para a membrana e a glicose permanece na corrente sanguínea. (32). Esta é a forma mais comum de diabetes *mellitus* e está altamente associada ao histórico familiar de diabetes, à idade avançada, à obesidade e à falta de exercício (31).

A diabetes de “tipos específicos” inclui o grupo de pessoas com defeitos genéticos da função das células beta ou com defeitos na ação da insulina. Inclui também pessoas com doenças no pâncreas, como pancreatite ou fibrose cística e pessoas com disfunção associada a outras endocrinopatias, como por exemplo, acromegalia (31).

A diabetes *mellitus* gestacional identifica mulheres que a desenvolvem durante a gestação. A maioria das mulheres classificadas com este tipo de diabetes apresenta uma homeostase da glicose normal durante a primeira metade da gravidez e desenvolve uma deficiência relativa de insulina durante a última metade da gravidez, levando à hiperglicemia. A hiperglicemia desaparece na maioria das mulheres após o parto, mas coloca-as em risco, bem como ao feto, de desenvolver diabetes *mellitus* tipo 2 mais tarde na vida (31).

## **PTGO**

A prova de tolerância à glicose (PTGO) é um método de avaliação da sensibilidade e resistência à insulina de um indivíduo. Envolve a toma de uma solução oral de glicose (75g diluídos em 300ml de água) seguida da quantificação seriada da glicemia aos 0 e 120 minutos. Nas grávidas, a quantificação seriada da glicemia ocorre aos 0, 60 e 120 minutos. Durante todo o teste, incluindo a colheita de sangue nos tempos em jejum e durante as 2 horas, os utentes

devem permanecer inativos, e o excesso de hidratação com água deve ser desencorajado, pois pode afetar os resultados do teste (32).

No laboratório José Manuel Chau, para se poder realizar a PTGO, o utente deve ter, no último mês, histórico na clínica da glicemia em jejum <140 mg/dL, para poder realizar a prova no próprio dia. Caso contrário, terá de se avaliar a glicemia em jejum para que o utente possa realizar a prova. Com uma glicose muito elevada, a toma de 75g de glucose pode causar um pico na glicemia, aumentando o risco de o utente sofrer uma crise hiperglicémica durante o teste, pelo que, nestes casos, a prova só poderá ser realizada com consentimento médico.

**CASO CLÍNICO:** Um homem, de 83 anos, não diagnosticado com diabetes *mellitus*, dirigiu-se a um posto de colheitas do Grupo Beatriz Godinho para realizar análises utilizadas no diagnóstico de diabetes, nomeadamente a HbA1c e a PTGO. Os resultados obtidos encontram-se na Figura 31.

QUÍMICA CLÍNICA				07/06/2022
<b>Hemoglobina Glicada (HbA1c) (Capilaridade)</b>				
HbA1c (NGSP/DCCT)	6,7	%	4,0 - 5,6	65
	5,7 - 6,4 Risco de Diabetes mellitus			
	> 6,5 Diabetes mellitus			
<b>HbA1c (IFCC)</b>				
HbA1c (IFCC)	50	mmol/mol	20 - 38	49
	39 - 46 Risco de Diabetes mellitus			
	> 48 Diabetes mellitus			
<b>Glicose média estimada (últ. 3 meses)</b>				
	146	mg/dL		140
	8,1	mmol/L		
<b>Prova de Tolerância à Glucose Oral (Hexoquinase)</b>				
<b>Ingestão de 75g de glucose</b>				
<b>Glicose no sangue</b>				
Aos 0 min.	121	mg/dL	70 - 110	
	6,7	mmol/L	3,9 - 6,1	
Aos 120 min. (2H)	241	mg/dL		
<b>DIABETES - Critérios de diagnóstico:*</b>				
	Glicémia Jejum		PTGO (2H) 75g	
	(mg/dL)		(mg/dL)	
Normal	< 110		< 140	
AGJ	110 - 125			
IDG	-		140 - 199	
Diabético	> 126** e/cu		≥ 200	
AGJ - Anomalia da glicémia em jejum				
IDG - Tolerância diminuída à glucose				
*Circular Normativa da D.G.S. 002/2011 de 14/01/2011.				
**O diagnóstico de diabetes numa pessoa assintomática deve ser realizado na base de um único valor anormal de glicémia de jejum devendo ser confirmado numa segunda análise, após uma a duas semanas.				

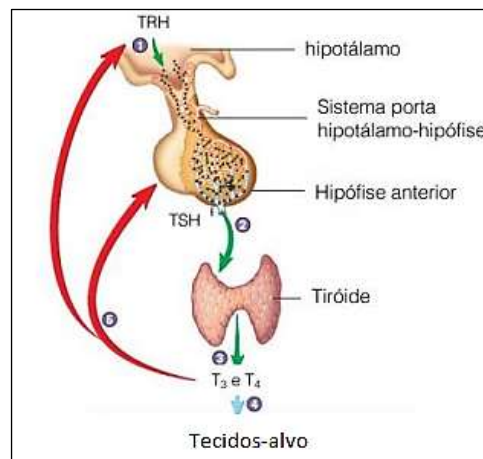
**Figura 31** – Resultados das análises do utente não diagnosticado com Diabetes *mellitus*.

Os resultados obtidos foram: HbA1c = 6,7%, glicose em jejum = 121mg/dl e PTGO (2h) = 241mg/dl.

Uma HbA1c superior a 6,5% juntamente com uma PTGO (2h) superior a 200 mg/dl, segundo a Circular Normativa da D.G.S. 002/2011, fazem o diagnóstico de Diabetes *mellitus*. No entanto, se o clínico assim o determinar, poderá ser realizada uma nova determinação da glicemia em jejum após uma a duas semanas para se confirmar o diagnóstico.

## • FUNÇÃO TIROIDEIA

A síntese da hormona tiroideia é regulada por mecanismos de feedback mediados pelo eixo hipotálamo-hipófise-tiroide. O hipotálamo liberta a hormona libertadora de tireotrofina (TRH) para o sistema porta hipotálamo-hipófise. Em resposta à TRH a hipófise anterior liberta TSH que vai estimular a tiroide a libertar as hormonas tiroideias (T3 e T4), que vão atuar sobre os tecidos-alvo. O aumento sérico de T3 e T4 vão inibir a libertação de TSH e da TRH (Figura 32). A T4 é libertada em muito maior quantidade do que a T3, no entanto, a maioria da T4 é convertida a T3 nos tecidos-alvos (33).



**Figura 32** – Mecanismos de *feedback* do eixo hipotálamo-hipófise-tiroide (34).

**Hipertiroidismo:** Distúrbios da glândula tiroideia podem resultar em excesso de produção de T3 e T4, juntamente com a diminuição compensatória de TSH (33).

**Hipotiroidismo:** No hipotireoidismo primário, a diminuição da produção de T3/T4 pela glândula tiroideia causa um aumento compensatório de TSH. O hipotiroidismo secundário é causado por distúrbios da hipófise, causando diminuição da libertação de TSH e diminuição dos níveis de T3/T4. O hipotiroidismo terciário é causado por distúrbios hipotalâmicos, resultando numa diminuição dos níveis de TRH, e consequentemente da diminuição dos níveis de TSH e T3/T4 (33).

O hipotiroidismo, geralmente é acompanhado de diversos sintomas, como bradicardia, intolerância ao frio, fadiga e aumento de peso. Em contraste, o hipertiroidismo é acompanhado de perda de peso, intolerância ao calor, diarreia, tremores e fraqueza muscular. Os testes

iniciais de escolha para rastrear qualquer anormalidade da tiroide são um teste de TSH e tiroxina livre (T4 livre). Estes determinam se a anormalidade surge centralmente da glândula tiroideia (primária), perifericamente da hipófise (secundária) ou do hipotálamo (terciária) (33).

## DOENÇA DE GRAVES

A doença de Graves é a causa mais comum de hipertiroidismo. É uma doença autoimune causada pela produção de anticorpos contra o recetor de TSH, que estimulam o crescimento da glândula tiroideia e a libertação da hormona tiroideia. Os utentes terão níveis anormalmente aumentados de T4 e T3 e uma diminuição da TSH. Um teste de imunoglobulina IgG recetor de TSH positivo confirma o diagnóstico (33).

## TIROIDITE DE HASHIMOTO

É a causa mais comum de hipotiroidismo. É causada pela destruição autoimune da glândula tiroideia. São produzidos autoanticorpos anti-tiroideios (anti-tiroglobulina e anti-TPO) que causam a morte celular das células foliculares. A tiroidite de Hashimoto é diagnosticada por ecografia, deteção de autoanticorpos e testes de função tiroideia (33).

CASO CLÍNICO: Uma mulher de 39 anos foi fazer análises à tiroide ao Laboratório Chau a março de 2023. Informou que toma medicação para a ansiedade, para a tiroide e antidepressivos. Os resultados obtidos de T4 livre e TSH estão descritos na Figura 33. A senhora tinha histórico clínico no laboratório de novembro de 2022.

FUNÇÃO TIROIDEIA				21-11-2022	12-04-2023
FT4-Tiroxina Livre (EQL)	1,09	ng/dL	0,93 - 1,70	1,40	
	14,03	pmol/L	12,00 - 22,00		
TSH-H.Tireoestimulante (EQL)	12,20 (A)	mUI/L		4,37	4,14
			12 - 20 Anos: 0,51 - 4,30		
			≥ 21 Anos: 0,27 - 4,20		

**Figura 33** – Resultados obtidos da T4 livre e da TSH do caso clínico apresentado em cima.

Em novembro de 2022 a senhora tinha histórico de uma TSH de 4,37mUI/L e nota-se um agravamento, pois o resultado aumentou drasticamente para 12,20mUI/L. A FT4 apesar de estar dentro dos valores de referência, desde novembro de 2023, decaiu ligeiramente de 1,4 para 1,09ng/dL.

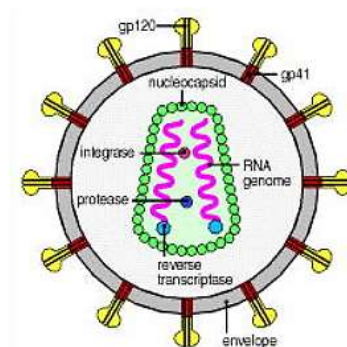
Estes dados sugerem que a utente pode estar perante um caso de hipotiroidismo primário, pois há o aumento de TSH para compensar a diminuição das hormonas tiroideias. Como a

senhora informou que tomava medicação para a tireoide, perante os resultados obtidos, poderá ser necessário ajustar a dose da medicação ou confirmar se a utente estará a cumprir com o tratamento.

- **SEROLOGIA INFECIOSA**

## **HIV**

O vírus da imunodeficiência humana já infetou mais de 75 milhões de pessoas em todo o mundo, e cerca de 37 milhões de pessoas vivem com o vírus. O HIV é um retrovírus (genoma constituído por uma cadeia simples de RNA) (Figura 34) e replica o RNA viral através do processo de transcrição reversa, onde as moléculas de dupla cadeia de DNA são geradas a partir do RNA, sendo por isso capazes de integrar o genoma do hospedeiro (35,36).



**Figura 34** – Esquema do vírus HIV (36).

Aproveitando as enzimas do hospedeiro, o HIV é transcrito, as proteínas são produzidas e clivadas e os viriões maduros são libertados. O HIV atinge principalmente as células T CD4<sup>+</sup> e após um evento de transmissão, o HIV instala-se nos tecidos da mucosa e em poucos dias migra para os órgãos linfoides, causando a perda progressiva destas células. Por volta do décimo dia, o vírus torna-se detetável no sangue e continua a disseminar-se exponencialmente, atingindo o pico, geralmente por volta do trigésimo dia. É a partir deste momento que os níveis de anticorpos se tornam detetáveis (35).

Após vários anos, uma imunodeficiência profunda surge e os indivíduos desenvolvem uma complicação infecciosa ou oncológica característica, passando a definir-se como AIDS (35).

No Laboratório José Manuel Chau, é feita a pesquisa de anticorpos HIV-1 e HIV-2 e também a pesquisa do antígeno HIV p24 através de um imunoensaio de quarta geração.



## VÍRUS DA HEPATITE B

O vírus da hepatite B (HBV) é um vírus de DNA de cadeia dupla, circular, parcialmente incompleto e é uma causa comum de doença hepática e cancro hepático. A infeção ocorre através do contacto com sangue infetado e algumas secreções corporais infetadas, sendo as principais vias de transmissão do HBV a via sexual, a via parentérica e a transmissão vertical (de mãe para filho) durante o parto (37).

A progressão da infeção pelo vírus da Hepatite B é complexa, e existem vários marcadores que permitem avaliar a progressão da doença. Os primeiros marcadores a aparecer no soro são o DNA do vírus, o HBsAg e o HBeAg. O HBsAg pode ser detetado na segunda e terceira semanas após a exposição, e sua persistência é um marcador de cronicidade. O HBeAg está correlacionado com a presença de altos níveis de replicação e infeciosidade. Poucas semanas após o aparecimento dos marcadores virais, os níveis séricos de alanina e aspartato aminotransferase (ALT, AST) começam a aumentar e pode aparecer icterícia. O HBeAg geralmente é eliminado precocemente, no pico da doença clínica, enquanto o HBsAg e o DNA do HBV persistem no soro (Figura 35) durante os sintomas clínicos e são eliminados com a recuperação (37).

Os anticorpos para as proteínas do HBV surgem em diferentes padrões durante a hepatite B aguda. O anticorpo anti-HBc usualmente aparece pouco depois do AgHBs, sendo o anticorpo inicial principalmente imunoglobulina da classe M (IgM), que vai diminuindo conforme os níveis de IgG anti-HBc vão aumentando. O anticorpo anti-HBe, por norma, aparece logo após a eliminação do HBeAg, no pico da doença clínica. Assim, a perda de HBeAg e o aparecimento de anti-HBe é um marcador serológico favorável durante a hepatite B aguda, indicando o início da recuperação. O anticorpo para anti-HBs surge tardiamente durante a infeção, durante a recuperação ou na convalescença, após a eliminação do HBsAg (Figura 35) (37).

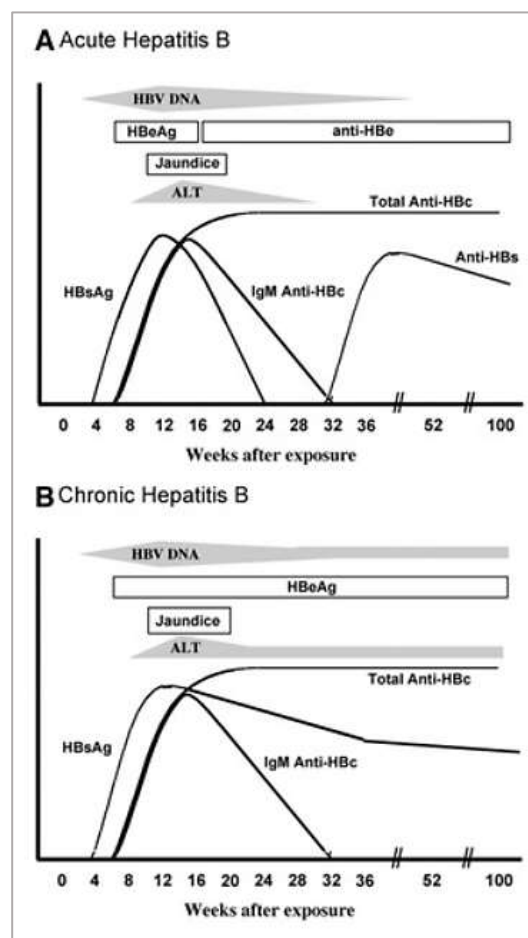


Figura 35 – Perfis sorológicos de hepatite B aguda (A) e crônica (B) (37).

Os pacientes que desenvolvem hepatite B crónica têm um padrão inicial semelhante de marcadores serológicos. Há o aparecimento de HBV DNA, HBsAg, HBeAg e anti-HBc. No entanto, a replicação viral persiste e o HBsAg, HBeAg e HBV DNA continuam a ser detetáveis no soro várias semanas/anos após a infeção (Figura 35) (37).

Com estes marcadores serológicos, consegue-se interpretar os resultados obtidos em análises a marcadores da Hepatite B (Figura 36).

Ag	Ac	Ag	Ac	Ac	Ac	INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS
HBs	HBs	HBe	HBe	HBc	HBc IgM	
-	-	-	-	-	-	Sem infeção de HBV no passado
-	+	-	-	-	-	Imunidade a HBV (vacinado)
-	+	-	+/-	+	-	Infeção no passado, não portador
+	-	-	+/-	+	-	Portador Crónico de HBV, infeção activa improvável
+	-	+	-	+	-	Portador Crónico de HBV, infeção activa
+	-	+	-	+	+	Infeção Aguda HBV

**Figura 36** – Interpretação dos marcadores da Hepatite B.

### TESTE V.D.R.L./RPR – SÍFILIS

A sífilis é uma doença sexualmente transmissível causada pela bactéria *Treponema pallidum*. Se tratada inadequadamente, pode resultar em doenças cardiovasculares e neurológicas, assim como sífilis congénita (38).

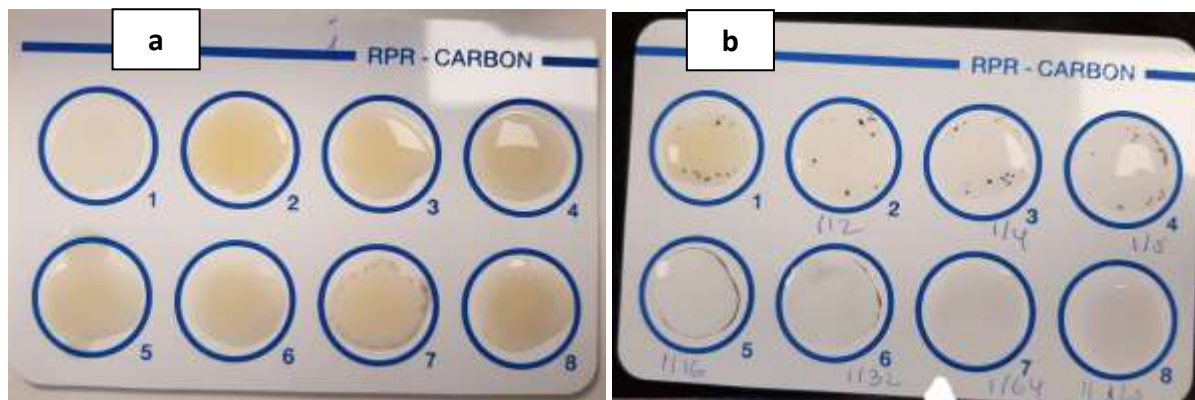
No Laboratório Chau, o teste de V.D.R.L./RPR é feito através do Kit *Lorne RPR Syphilis*<sup>®</sup> que é um teste serológico não-treponémico para deteção de sífilis. O *RPR Carbon Antigen*<sup>®</sup> (Figura 37) contém partículas de carvão revestidas com cardiolipina, que em contacto com o anticorpo, formam agregados, visíveis a olho.



**Figura 37** – Kit *RPR Carbon Antigen*<sup>®</sup> utilizado na pesquisa de sífilis.

**EXEMPLO PRÁTICO:** Na Figura 38a estão presentes em cada poço de reação, 50µl de soro de 8 utentes diferentes, e observa-se a agregação de partículas de carbono no utente 7. No Laboratório Chau, após a deteção da agregação no teste inicial, é feita a titulação de anticorpos

através de diluições do soro. Observou-se que este utente apresentava um teste de V.D.R.L./RPR positivo de título 1/64 (Figura 38b).



**Figura 38** – Soros dos 8 utentes (35a) e título de anticorpos do utente 7 (35b).

## MONONUCLEOSE INFECIOSA

A mononucleose infecciosa é uma doença que resulta da infeção primária pelo vírus *Epstein-Barr* (EBV). Alguns dos principais sintomas são dor de garganta, aumento dos linfonodos, fadiga e febre. A infeção aguda é acompanhada de grandes linfócitos periféricos atípicos, que são linfócitos T CD8+ ativados, que estão a responder a células infetadas por EBV. O diagnóstico de mononucleose infecciosa é importante devido à gravidade da doença e das suas sequelas (p.e esplenomegalia), principalmente em idosos e crianças (39).

No Laboratório Chau faz-se a pesquisa de anticorpos heterófilos específicos para a mononucleose, utilizando o *Test NADAL® IM Latex*, um teste de aglutinação qualitativa. Contém partículas de latex revestidas com extrato antigénico de membranas de eritrócitos de carne bovina, que aglutinam quando em contacto com os anticorpos heterófilos.

**EXEMPLO PRÁTICO:** Na Figura 39, observa-se o exemplo de reação feita no soro de um utente.



**Figura 39** – Reação de aglutinação na pesquisa de mononucleose infecciosa.

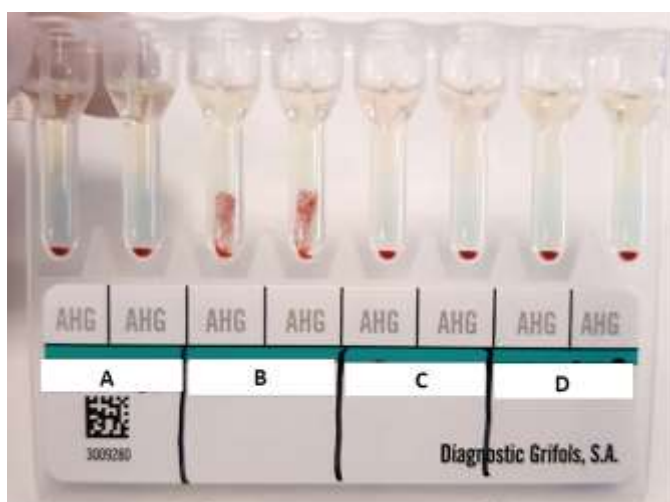
No poço 1 encontra-se 50µl de soro do utente, no poço 2 o controlo positivo da reação e no poço 3 o controlo negativo. Neste exemplo, a reação é negativa para a presença de anticorpos heterófilos específicos para a mononucleose infecciosa.

## TESTE DE COOMBS

O teste de *Coombs* é usado para detetar a presença de anticorpos anti-D contra glóbulos vermelhos circulantes no corpo, que induzem a hemólise, podendo causar anemia hemolítica autoimune. O teste de antiglobulina pode ser um teste direto de antiglobulina ou um teste indireto de antiglobulina (40).

O princípio do teste direto de *Coombs* é detetar a presença de anticorpos anti-D ligados diretamente aos eritrócitos. O teste indireto de *Coombs*, por outro lado, é usado para detetar anticorpos anti-D não ligados a eritrócitos, que estão livres no soro. A amostra de soro isolada é incubada com células reagente 0 Rh(D) positivo padronizadas, e a presença de aglutinação após centrifugação indica um resultado positivo (40).

No laboratório, faz-se maioritariamente a pesquisa de anticorpos contra eritrócitos circulantes, através do teste de *Coombs* indireto. Para fazer o teste de *Coombs* indireto e direto é utilizado o *DG Gel Coombs* da *GRIFOLS*<sup>®</sup> (Figura 40). No teste de *Coombs* indireto coloca-se em cada poço 50µl de células reagente 0 Rh(D) positivo padronizadas juntamente com 25µl de soro do utente. Os poços são depois incubados a 37°C durante 15 min e seguidamente centrifugados para se observar a aglutinação dos eritrócitos, caso esta exista.



**Figura 40** – Gel *Coombs* da *GRIFOLS*<sup>®</sup> com 4 testes realizados com soros de 4 utentes distintos.

EXEMPLO PRÁTICO: Na Figura 40, o utente B corresponde a uma senhora grávida que foi fazer análises ao Laboratório Chau. Verifica-se a presença de aglutinação das células reagente 0 Rh (D) positivo padronizadas na presença do soro da utente, pelo que o teste de *Coombs* indireto é positivo. Isto significa que há positividade a algum dos antigénios do grupo Rh.

A maioria destes resultados positivos na gravidez resultam da imunização (vacina) com a imunoglobulina anti-Rh (D), utilizada para evitar incompatibilidades entre o sangue da mãe e o sangue do feto. A incompatibilidade não diagnosticada/tratada, pode causar a doença hemolítica do recém-nascido, pois os anticorpos da mãe nesta situação tendem a atacar os eritrócitos do feto caso este seja Rh (D) positivo.

## **SETOR DE URIANÁLISE**

Quando as amostras de urina chegam ao laboratório, os frascos e os tubos são direcionados para o setor de Urianálise. Nesse momento é registado no sistema informático a entrada de cada frasco de urina, pela leitura do código de barras associado ao processo de cada utente. Os frascos/tubos de urina são separados consoante as análises requeridas, nomeadamente, sumária de urina (urina tipo II), microalbuminúria, urocultura ou doseamentos bioquímicos na urina de 24 horas.

Alguns tipos de análises, como por exemplo, a pesquisa de metanefrinas urinárias, não são avaliadas no laboratório de Coimbra, pelo que estas amostras são encaminhadas para o laboratório central do Grupo Beatriz Godinho, Laboratório Labeto, ou para outros laboratórios subcontratados.

A sumária de urina é avaliada no aparelho UNAMAX da *Menarini Diagnostics*<sup>®</sup>. No caso de surgirem alterações, o aparelho SEDIMAX da *Menarini Diagnostics*<sup>®</sup> avalia automaticamente o sedimento da mesma amostra, o qual será posteriormente analisado e validado pelo técnico (Figura 41).



**Figura 41** – Aparelhos UNAMAX e SEDIMAX da *Menarini Diagnostics*<sup>®</sup>.

Faz parte da avaliação sumária de urina o doseamento qualitativo da presença de: leucócitos, urobilinogénio, bilirrubina, eritrócitos, nitritos, pH, densidade, proteínas, glicose e corpos cetónicos na urina. No sedimento é avaliada e quantificada a presença de células epiteliais, cristais, leucócitos, cilindros, eritrócitos e de outros elementos, tais como leveduras e bactérias.

## **SETOR DE MICROBIOLOGIA**

O setor de microbiologia recebe as mais variadas amostras para o exame bacteriológico. Para além das urinas direcionadas para urocultura, também recebe amostras como: fezes, expetorações, exsudatos uretral/vaginal/nasal, esperma e exsudatos de feridas.

### **• UROCULTURA**

Para responder às uroculturas, as urinas são semeadas inicialmente em meio CPSE, meio cromogénico para o isolamento, contagem e identificação direta ou presuntiva de enterobactérias, causadoras de infeção do trato urinário. Os outros tipos de amostras recebidas no laboratório são semeados em meios de cultura específicos, consoante o tipo de microrganismo que se pretende pesquisar. Os meios de cultura são fornecidos pelas casas comerciais BioMérieux®.

### **• ANTIBIOGRAMA**

Para a identificação do organismo que está presente na amostra, é necessário fazer o antibiograma, que é realizado no sistema *Vitek* e possibilita avaliar quais os antibióticos a que o microrganismo é sensível, permitindo ao utente ter uma terapêutica dirigida para o combate à infeção.

### **• SANGUE OCULTO NAS FEZES**

O teste de pesquisa de sangue oculto nas fezes é realizado no equipamento *HM-JACKarc* da *Menarini Diagnostics*® (Figura 42). Esta análise é maioritariamente utilizada no *screening* de cancro colorretal (40).



**Figura 42** – Aparelho *HM-JACKarc* da *Menarini Diagnostics*® utilizado na pesquisa de sangue oculto nas fezes.

## **FASE PÓS-ANALÍTICA**

A fase pós-analítica refere-se a todos os procedimentos que se seguem à fase analítica, nomeadamente a revisão sistemática e a interpretação de informação de acordo com o utente em questão (realizada por especialistas do laboratório), a transmissão dos resultados ao utente/médico prescritor e alertar para alterações importantes nos parâmetros analíticos (1). No caso de os valores apresentarem alterações significativas e/ou que constituam perigo para o utente, há a informação imediata desses valores ao mesmo ou ao médico prescritor da análise, ficando estas notificações registadas.

No final do dia, são feitas as manutenções/limpezas diárias dos equipamentos utilizados, assim como o armazenamento adequado das amostras de acordo com o estipulado internamente.

Todas estas fases, desde o início da fase pré-analítica até ao fim da fase pós-analítica são essenciais para garantir resultados fiáveis e em tempo útil que vão contribuir para um diagnóstico médico correto.



## **CONCLUSÃO**

Durante os dois anos de Mestrado em Análises Clínicas, consegui consolidar e adquirir diversos conhecimentos de áreas de Hematologia, Bioquímica, Imunologia e Microbiologia e de métodos de diagnóstico utilizados atualmente.

A 9 de janeiro de 2023, integrei como estagiária o Grupo de Laboratórios Beatriz Godinho Saúde, no Laboratório José Manuel Chau em Coimbra, e tive a oportunidade de vivenciar, aprender e experienciar as práticas utilizadas num laboratório de análises clínicas.

Este Estágio Curricular, permitiu-me o contacto diário com utentes, especialistas e técnicos de análises, equipamentos, e normas administrativas em vigor que foram o maior contributo que poderia ter para o início da minha experiência profissional na área. Foi uma experiência extremamente gratificante pela qual estou imensamente grata.



## **BIBLIOGRAFIA**

- 1- ZEMLIN, Annalise E. - Errors in the Extra-Analytical Phases of Clinical Chemistry Laboratory Testing. *Indian J Clin Biochem*, Vol. 33, N°2 (2018), p. 154-162. [Acedido a 17 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29651205/>
- 2- PLEBANI, Mario - Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. *Clin Biochem Rev*. Vol. 33, n° 3 (2012), p. 85-88. [Acedido a 15 de fevereiro de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/>
- 3- MATSON, Phillip L. - Internal quality control and external quality assurance in the IVF laboratory. *Human Reproduction*, Vol.13, n°4 (1998), p. 156-165. [Acedido a 17 de março de 2023]. Disponível na Internet: [https://academic.oup.com/humrep/article/13/suppl\\_4/156/611170](https://academic.oup.com/humrep/article/13/suppl_4/156/611170)
- 4- HOFFBRAND, Victor; PETTIT, John – *Color Atlas of Clinical Hematology*. 3ª Ed., Brasil, Manole, 2001. ISBN 85-204-1167-3.
- 5- BILLETT, Henny H. - Hemoglobin and Hematocrit. In: WALKER, H Kenneth; HALL, W Dallas, HURST, J Willis, *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*, 3ª Ed., Boston: Butterworths, 151, 1990, ISBN-10: 0-409-90077-X.
- 6- SARMA, P. Ravi - Red Cell Indices. In: WALKER, H Kenneth; HALL, W Dallas, HURST, J Willis, *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*, 3ª Ed., Boston: Butterworths, 152, 1990, ISBN-10: 0-409-90077-X.
- 7- STICCO, Kristin L; PANDYA, Nirzari K; LYNCH, David T. - Basophilia. StatPearls, StatPearls Publishing, 2022. [Acedido a 19 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535365/>
- 8- ESPINOZA, Valerie E; EMMADY, Prabhu D. - Histology, Monocytes. StatPearls, StatPearls Publishing, 2022. [Acedido a 19 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557618/>
- 9- HARRISON, Paul - Platelet function analysis. *Blood Rev*. Vol. 19, n°2 (2005), p. 111-123. [Acedido a 17 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268960X04000311>

10- BAIN, Barbara J. - Blood Cells A Pratical Guide, 5ª Ed., Londres, Wiley Blackwell, 2015. ISBN: 978-1-118-81729-2.

11- KORNILUK, Aleksandra *et al.* - Mean Platelet Volume (MPV): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. *Mediators of Inflammation*, Vol. 2019 (2019), p. 1 - 4 pages. [Acedido a 17 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2019/9213074/>

12- POGORZELSKA Karolina *et al.* - Characteristics of platelet indices and their prognostic significance in selected medical condition – a systematic review. *Advances in Medical Sciences*, Vol. 65 (2020), p. 310-315. [Acedido a 17 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1896112620300171>

13- SAKURAI, S., SHIOJIMA, I., TANIGAWA, T. and NAKAHARA, K. - Aminoglycosides prevent and dissociate the aggregation of platelets in patients with EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *British Journal of Haematology*, Vol. 99 (1997), p. 817-823. [Acedido a 1 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1365-2141.1997.4773280.x>

14- LYNCH, Edward C. - Peripheral Blood Smear. In: WALKER, H Kenneth; HALL, W Dallas, HURST, J Willis, *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*, 3ª Ed., Boston: Butterworths, 155, 1990, ISBN -10: 0-409-90077-X.

15- PERROTTA, Augustine L., FINCH, Clement A. - The Polychromatophilic Erythrocyte. *American Journal of Clinical Pathology*, Vol. 57, nº4, (1972), p. 471- 477. [Acedido a 19 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://academic.oup.com/ajcp/issue/57/4>

16- SIMON, Michael W. - The atypical lymphocyte. *International Pediatrics*, Vol. 18, nº 1, (2003), p. 20-22. [Acedido a 19 de março de 2023]. Disponível na Internet: [http://www.int-pediatrics.org/PDF/Volume\\_18/18\\_1/20\\_22ip1803\\_WEB.pdf](http://www.int-pediatrics.org/PDF/Volume_18/18_1/20_22ip1803_WEB.pdf)

17- MACDONALD, Denis; RICHARDSON, Harold; RABY, Anne - Practice Guidelines on the Reporting of Smudge Cells in the White Blood Cell Differential Count. *Arch Pathol Lab Med*, Vol. 127, Nº1 (2003), p. 105. [Acedido a 19 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://meridian.allenpress.com/aplm/article/127/1/105/453574/Practice-Guidelines-on-the-Reporting-of-Smudge>

- 18- NITIN, Sinha - HbA1c and factors other than diabetes mellitus affecting it. Singapore Medical Journal, Vol. 51, N°8 (2010), p. 616-622. [Acedido a 19 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20848057/>
- 19- IGREJAS, Lara - Curso de formação teórica SEBIA Portugal: Introdução em HbA1c: marcador de diagnóstico e monitorização; HbA1c: Interpretação de traçados. Laboratório de Análises Clínicas José Manuel Chau, em Coimbra a 29 de março de 2023.
- 20- BRIGDEN, M L. - Clinical utility of the erythrocyte sedimentation rate. American family physician, Vol. 60, N°5 (1999), p.1443 -1450. [Acedido a 19 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10524488/>
- 21- WINTER, William E. *et al.* - Coagulation Testing in the Core Laboratory. Laboratory medicine, Vol. 48, n°4 (2017) p. 295-313. [Acedido a 20 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29126301/>
- 22- FRANCHINI, Massimo; BONFANTI, Carlo - Evolutionary aspects of ABO blood group in humans. Clinica Chimica Acta, Vol. 444 (2015), p. 66-71. [Acedido a 20 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898115000790>
- 23- BECK, Laurence H. - Changes in Renal Function with Aging. Clinics in Geriatric Medicine, Vol. 14, N°2 (1998), p. 199-210. [Acedido a 28 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749069018301137>
- 24- RIOS, Danielle R. *et al.* - Creatinine filtration kinetics in critically ill neonates. Pediatric research, Vol. 89, N°4 (2021), p. 952-957. [Acedido a 29 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32454515/>
- 25- WEINER, I. David *et al.* - Urea and Ammonia Metabolism and the Control of Renal Nitrogen Excretion. Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN, Vol. 10, N° 8 (2015), p. 1444-1458. [Acedido a 29 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25078422/>
- 26- TREFTS, Elijah *et al.* - The liver. Current biology, Vol. 27, N°21 (2017), p.1147-1151. [Acedido a 27 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29112863/>

- 27- CARVALHO, Joana R.; MACHADO, Mariana Verdelho - New Insights About Albumin and Liver Disease. *Annals of Hepatology*, Vol. 17, N°4 (2018), p. 547-560. [Acedido a 27 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1665268119304776>
- 28- HALL, Philip; CASH, Johnny - What is the Real Function of the Liver 'Function' Tests?. *Ulster medical journal*, Vol. 81, N°1 (2012), p. 30-36. [Acedido a 26 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3609680/pdf/umj0081-0030.pdf>
- 29- GOWDA, Shivaraj, *et al.* - A review on laboratory liver function tests. *The Pan african medical journal* Vol. 3, N°17 (2009). [Acedido a 27 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2984286/>
- 30- SANDESARA, Pratik B, *et al.* - The Forgotten Lipids: Triglycerides, Remnant Cholesterol, and Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk. *Endocrine Reviews*, Vol. 40, N°2 (2019), p. 537-557. [Acedido a 25 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://academic.oup.com/edrv/article/40/2/537/5126386>
- 31- MAYFIELD, J. - Diagnosis and classification of diabetes mellitus: new criteria. *American family physician*, vol. 58, N°6 (1998), p. 1355-1370. [Acedido a 25 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9803200/>
- 32- EYTH, Emily; BASIT, Hajira; SWIFT, Cathi - Glucose Tolerance Test. *StatPearls*, StatPearls Publishing, 2023 [Acedido a 25 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532915/>
- 33- SHAHID, Muhammad A.; ASHRAF, Muhammad, A.; SHARMA, Sandeep. - Physiology, Thyroid Hormone. *StatPearls*, StatPearls Publishing, 2023. [Acedido a 1 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500006/>
- 34- VANPUTTE, C.; REGAN, J; RUSSO, A. - *Ise Seeley'S Anatomy & Physiology - 10ª Edição*. McGraw Hill Education, 2016. ISBN-9781265129583
- 35- DEEKS, S., OVERBAUGH, J., PHILIPS, A. *et al.* - HIV infection. *Nature Reviews, Disease Primers*, Vol, 1, N°15035 (2015). [Acedido a 27 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.nature.com/articles/nrdp201535/>

- 36- JANEWAY, Charles A. *et al.* - Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5ª Ed. New York: Garland Science, 2001. ISBN-10: 0-8153-3642-X
- 37- LIANG, T. Jake - Hepatitis B: The virus and disease. *Hepatology*, Vol. 49 (2009), p.13-21. [Acedido a 28 de março de 2023]. Disponível na Internet: <https://aasldpubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hep.22881>
- 38- BROWN, David L., FRANK, Jennifer E. -Diagnosis and management of syphilis. *American family physician*, Vol. 68, N°2 (2003), p. 283-290. [Acedido a 1 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12892348/>
- 39- DUNMIRE, Samantha K. *et al.* - Infectious Mononucleosis. *Current topics in microbiology and immunology*, Vol. 390, N°1 (2015), p. 211-240. [Acedido a 1 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26424648/>
- 40- YOUNG, Graeme P.; SYMONDS, Erin L.; ALLISON, James E. *et al.* - Advances in Fecal Occult Blood Tests: The FIT Revolution. *Digestive Diseases and Sciences*, Vol. 60 (2015), p. 609–622. [Acedido a 2 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10620-014-3445-3>