



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Leandro José Marques Condesso

RELATÓRIO DE ESTÁGIO
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório de estágio no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas
orientado pelo Professor Mário João Gonçalves Roque e pela
Dra. Luísa Frazão e apresentado à Faculdade de Farmácia
da Universidade de Coimbra

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Leandro José Marques Condesso

Relatório de Estágio
Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de estágio no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas orientado pelo Professor Mário João Gonçalves Roque e pela Dra. Luísa Frazão e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2023

Agradecimentos

Gostaria de expressar a minha gratidão a todos os que contribuíram e presenciaram toda esta magnífica odisséia, cheia de memórias, bons e maus momentos, pessoas, aprendizagem e conquistas que levo para a vida.

Ao meu orientador Professor João Roque, pelo apoio e disponibilidade demonstrada e pelas perspicazes orientações que me concedeu para fazer deste relatório melhor.

Um agradecimento a todos os membros do meu local de estágio, Laboratório de Análises Clínicas Dra. Luísa Frazão, ao Nuno, Filipe, Daniel, Carlos, Sr. Alberto, Hugo, Luís, Patrícia e em especial à Dra. Luísa Frazão pelo apoio e orientações que me deram para melhorar enquanto profissional, mas acima de tudo pela amizade e pelo ótimo ambiente vivido no decorrer de todo o estágio.

Aos meus pais e ao meu irmão, por apesar dos poucos exemplos no ensino superior da família, ingressaram comigo nesta aventura nova e desconhecida, celebrámos juntos as vitórias e enfrentámos juntos as adversidades. Em especial ao meu irmão, a força que me deste e a confiança e fé inabalável que tiveste em mim, motivaram-me a querer mais e a ser melhor. Um obrigado nunca vai chegar por tudo o que fizeram por mim.

À família que escolhi, todos os amigos que esta cidade me deu e a todos os que já vinham de trás, partilhar este caminho com vocês só o fez ser mais gratificante e entusiasmante, pelas noites e aventuras loucas, pelo ombro amigo e pelo apoio e amor que sempre me fizeram sentir, levo todos comigo para a vida.

À Mati, por ter sido um feixe de luz num percurso, por si só já tão brilhante como este, pelo amor e tudo o que de novo me fez sentir, pelo carinho e pelo apoio nos maus momentos e por estar sempre presente com o maior sorriso nos melhores momentos, temos um novo mundo para descobrir e sei que vai a minha próxima grande aventura.

Ao NEF/AAC, o que começou como uma nova experiência a ter na faculdade e rapidamente se tornou um habitante assíduo no meu coração e uma autêntica segunda casa, o meu crescimento pessoal e profissional foi notório, todas as pessoas que contactei e aventuras que vivi não conseguiria ter em qualquer outro lugar. Têm para sempre guardado um espaço especial no meu coração.

A Coimbra, esta cidade que me recebeu de braços abertos e que em todos os seus recantos me permitiu viver os melhores momentos da minha vida, as lágrimas na despedida foram sentidas e a saudade que já sinto sei que irei sentir sempre.

Índice

RESUMO	9
ABSTRACT	11
ABREVIATURAS	13
INTRODUÇÃO	17
DESCRIÇÃO DO LABORATÓRIO	17
HEMATOLOGIA	18
Hemograma.....	18
Esfregaço de Sangue Periférico.....	23
Reticulócitos.....	24
Velocidade de Sedimentação.....	25
Teste de Coombs.....	26
Determinação de grupos sanguíneos.....	26
Testes de coagulação.....	27
ENDOCRINOLOGIA E IMUNOLOGIA	29
MICROBIOLOGIA	31
BIOQUÍMICA	32
Avaliação da função hepática.....	32
AST	32
ALT	33
Fosfatase alcalina (ALP).....	33
Gama Glutamil Transferase (GGT).....	33
Bilirrubina.....	34
Albumina.....	34
Amónia.....	35
Avaliação da função renal.....	35
Creatinina.....	35
Ureia.....	36
Ácido Úrico.....	37
Microalbuminúria.....	37
Análise sumária da urina.....	38
Equilíbrio eletrolítico (Ionograma).....	38
Sódio.....	38
Potássio.....	39
Cloreto.....	39
Avaliação laboratorial do risco cardiovascular:.....	40
Perfil lipídico.....	40

Colesterol Total	40
Colesterol – HDL	40
Triglicéridos	41
Lipoproteína (a)	41
Parâmetros não lipídicos	42
CK	42
hsPCR	42
Glucose	43
Prova de tolerância á glucose oral (PTGO)	44
Hemoglobina Glicada – HbA1c	44
Casos Clínicos	45
Caso Clínico 1 – LLC	45
Caso Clínico 2 – LMA	49
Caso Clínico 3- CMV	54
Caso Clínico 4 – Hemocromatose	59
Caso clínico 5 – Lesão hepática induzida por fármacos	62
BIBLIOGRAFIA	66

Índice de figuras

Figura 1 - Hematopoiese.....	23
Figura 2 - Execução prática de um esfregaço de sangue periférico.....	24
Figura 3 - Lâminas mal executadas A- Irregularidades na lâmina extensora; B- Deslizamento intermitente; C- Deslizamento muito rápido; D- Sangue insuficiente; E- Concentração no meio; F- Gordura na lâmina; G- Pressão desigual na lâmina; H- Sangue seco.	24
Figura 4 - Esfregaço com reticulócitos (ampliação de 100x).....	25
Figura 5 - Método Westergren para medição manual da velocidade de sedimentação.....	25
Figura 6 - Analisador de velocidade de sedimentação automático VES-MATIC 30.....	25
Figura 7 - ABO ID-card com um resultado A positivo.....	27
Figura 8 - Sedimento urinário.	38
Figura 9 - Mecanismo da aterosclerose.	42
Figura 10 - Metabolismo dos hidratos de carbono.....	44
Figura 11 - Eritrograma.....	46
Figura 12 - Leucograma e Plaquetas, evidenciando leucocitose e linfocitose.	47
Figura 13 – Bioquímica.....	47
Figura 14 - Esfregaço de sangue periférico.....	48
Figura 15 – Hemograma.....	51

Figura 16 - Bioquímica.	51
Figura 17 - Endocrinologia.	52
Figura 18 - Observação ao microscópico ótico 100x.	52
Figura 19 - Hemograma.	55
Figura 20 - Bioquímica.	56
Figura 21 - Painel Imunológico.	56
Figura 22 - Hemograma.	57
Figura 23 - Endocrinologia.	57
Figura 24 - Painel analítico para acompanhamento de gravidez de baixo risco.	58
Figura 25 - Hematologia.	59
Figura 26 - Hemograma e Coagulação.	60
Figura 27 - Bioquímica.	60
Figura 28 - Bioquímica.	61
Figura 29 - Imunologia, Endocrinologia e Genética.	61
Figura 30 - Hemograma.	63
Figura 31 - Hemograma.	64
Figura 32 - Bioquímica.	64

RESUMO

Neste relatório, realizado no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas lecionado na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, é apresentada uma visão geral do trabalho, técnicas, instrumentos e experiências que contactei e desenvolvi no estágio curricular do último ano deste Mestrado.

Realizei este estágio no Laboratório de Análises Clínicas Luísa Frazão com a orientação da Diretora Técnica Doutora Luísa Frazão, durante cerca de 6 meses. Contactei com as quatro principais áreas das análises clínicas: Bioquímica, Hematologia, Imunologia e Microbiologia.

Tive a oportunidade de aplicar os conhecimentos que adquiri ao longo de toda a minha formação e adquirir novos conhecimentos, rotinas e a realização de algumas técnicas manuais.

Os setores de Hematologia e Bioquímica vão ser os setores que irei abordar em pormenor, porque apesar de se tratar da parte do trabalho laboratorial que é mais automatizada e existir pouco trabalho manual a ser executado, foram as áreas que me interessaram mais pela sua importância no diagnóstico e pelos inúmeros casos clínicos que existem e pelas suas únicas variações de caso para caso. Também são desenvolvidos alguns casos clínicos que surgiram no laboratório no meu período de estágio.

ABSTRACT

In this report, carried out within the scope of the Master's Degree in Clinical Analysis taught at the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra, an overview of the work, techniques, instruments and experiences that I developed in the curricular internship of the last year of this Master's Degree is presented.

I did this internship at the Laboratório de análises clínicas Dra. Luisa Frazão, under the guidance of Technical Director Dra. Luísa Frazão, for about 6 months. I had contact with the four major areas of clinical analysis: Biochemistry, Hematology, Immunology and Microbiology.

I had the opportunity to apply the knowledge I acquired throughout my training and acquire new knowledge, routines and the realization of some manual techniques.

The sectors of Hematology and Biochemistry will be the sectors that I will discuss in more detail, because despite being the part of the laboratory work that is more automated and there is little manual work to be performed, they were the areas that interested me most due to their importance in the diagnosis and the numerous clinical cases that exist and their unique variations from case to case. Some clinical cases that arrived at the laboratory during my internship period are also developed.

ABREVIATURAS

4-AAP – 4-aminoantipirina

Ac – Anticorpo

AcHBc – Anticorpo HBc

AcHBe – Anticorpo HBe

AcHBs – Anticorpo HBs

ADP – Adenosina difosfato

Ag – Antígeno

AgHBe – Antígeno HBe

AgHBs – Antígeno HBs

AINE'S – Anti-inflamatórios não esteróides

ALT – Alanina aminotransferase

ALP – Fosfatase alcalina

AST – Aspartato aminotransferase

ATP – Adenosina trifosfato

BUN – Azoto ureico

CEA – Antígeno carcinoembrionário

CHE – Colesterol esterase

CHO – Colesterol oxidase

CK – Creatinoquinase

CMV – Citomegalovírus

CPS I – Carbamoilfosfato sintetase

DGS – Direção geral de saúde

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DPD – Sal de diazónio

DVI – Variante antígeno D parcial

EDTA-K3 – Ácido etilenodiaminotetracético tripotássico

G-CSF – Fator estimulante de colónias granulocíticas

GGT – Gamaglutamiltransferase

GLDH – Glutamato-desidrogenase

GM-CSF – Fator estimulante de colónias granulo-monocíticas

GV – Glóbulos vermelhos

HbA1c – hemoglobina glicada A1c
HCG – Gonadotropina coriônica humana
HCV – Vírus da hepatite C
HCT - Hematócrito
HDL – Lipoproteína de alta densidade
HFE – Gene da hemacromatose
HIV – Vírus da imunodeficiência humana
HPLC – *High-performance liquid chromatography*
HSC – *Hematopoietic stem cell*
hsPCR – Proteína C reativa de alta sensibilidade
IgE – Imunoglobulina E
IgG – Imunoglobulina G
IgM – Imunoglobulina M
INR – *International normalized ratio*
KESC – Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter
LDH – Lactato desidrogenase
LDL – Lipoproteína de baixa densidade
LLC – Leucemia linfóide crônica
LMA – Leucemia mieloide crônica
LPL – Lipoproteína lípase
MCH – Hemoglobina corpuscular média
MCHC – Concentração de hemoglobina corpuscular média
MCV – Volume corpuscular médio
M – CSF – Fator estimulante de colônias de macrófagos
MPV – Volume plaquetar médio
NAD⁺ – Nicotinamida adenina dinucleótido oxidada
NADH – Nicotinamida adenina dinucleótido reduzida
NK – *Natural killers*
OMS – Organização Mundial de Saúde
OTC – Ornitina transcarbamoilase
PCR – Proteína C reativa
PCT – Plaquetócrito
PDW – Platelets distribution width

PSA – Antígeno específico da próstata
PSOF – Pesquisa de sangue oculto
PTGO – Prova de tolerância oral à glucose
RDW – *Red cell Distribution Width*
RIQAS – *Randox International Quality Assessment Scheme*
RNA – Ácido ribonucleico
RPM – Rotações por minuto
RPR – *Rapid plasma reagin*
SIADH - Síndrome de secreção inapropriada de hormónia antidiurética
SIDA – Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
SNC – Sistema nervoso central
T3 – Triiodotironina
T4 – Tiroxina
tASO – Título da estreptolisina O
TFG – Taxa de filtração glomerular
TG - Triglicéridos
TP – Tempo de protrombina
APTT – Tempo de tromboplastina ativada
TSH – Hormona estimulante da tiróide
VDRL – *Veneral disease research laboratory*
VHA – Vírus da Hepatite A
VHC – Vírus da Hepatite C
VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade
WHO – *World Health Organization*

INTRODUÇÃO

Na área da saúde assiste-se a uma constante evolução, todos os dias novas descobertas científicas surgem e as análises clínicas não podem ficar para trás e por isso é crucial o constante desenvolvimento de novas metodologias mais rápidas, sensíveis e específicas para permitir um diagnóstico cada vez mais precoce e confiável.

Os profissionais de análises clínicas têm de encarar o seu papel como promotor de saúde e ter uma mente aberta e disponível para estar num constante estado de aprendizagem, estudo e evolução para acompanhar as novas técnicas e desenvolvimentos científicos, para garantir a segurança dos resultados e trabalho que exerce ao utente.

As análises clínicas, são uma parte primordial da saúde, servem como um fator decisivo em diagnósticos fornecendo aos clínicos as peças chaves para complementar exames físicos e historial clínico, mas têm um papel muito importante no controlo, prevenção e prognóstico dos utentes.

DESCRIÇÃO DO LABORATÓRIO

O Laboratório de Análises Clínicas Dra. Luísa Frazão é um laboratório de análises clínicas, localizado na zona do Solum, em Coimbra. Além deste laboratório central, possui postos de colheita, nomeadamente em Ançã, Cernache, Castanheira da Pêra, Pedrogão Grande e Pampilhosa da Serra.

É um laboratório relativamente pequeno, pelo que se optou por não haver divisão de setores, as valências de Hematologia, Bioquímica, Imunologia e Microbiologia situam-se no mesmo espaço, algo que beneficia em muito a polivalência de processos. Possui uma sala de colheitas para as amostras de sangue, uma sala de colheitas para Covid e 2 instalações sanitárias para colheita de urina ou esperma.

O fluxo de amostras gira em média das 30 a 50 amostras diárias, dependendo da atividade dos postos de colheita e das entidades com acordos com o laboratório (associações, empresas e lares).

Todos os processos são registados no sistema informático Apollo 3, ficando cada utente com um código de barras e número de processo único atribuído. As amostras são colhidas seguindo todas as boas práticas e normalmente num sistema a vácuo, minimizando desta forma possibilidades de contaminação e coagulação do sangue colhido. De seguida as amostras após

serem processadas e sofrerem pré-tratamento, seguem para os aparelhos para serem analisadas.

Na Hematologia, o laboratório possui o Moriba Pentra XL, um analisador automático responsável pela realização de hemogramas, o ACL 9000 que realiza provas de coagulação (TP, APTT e Fibrinogênio) e o analisador automático de velocidade de hemossedimentação Ves-Matic 30.

A área da Bioquímica, possui o analisador automático Beckman Coulter AU-480 com módulo ISE, o analisador Beckman Coulter Unicel DXI 600 para a endocrinologia, Biomerieux Vidas e o ImmunoCap 100 que realizam a parte de imunologia, alergias e autoimunidade. Ainda está presente o analisador da Menarini, HB Next que realiza a determinação da hemoglobina glicada.

Para a realização de urianálise é utilizado o analisador bioquímico de urina UNAMAX e a visualização de sedimento urinário é realizada num microscópio ótico.

HEMATOLOGIA

Hemograma

O hemograma, surge como um dos exames mais requeridos, pelas relevantes informações para o auxílio na realização de diagnósticos, monitorização de patologias já conhecidas no paciente e também pela sua rapidez, fácil interpretação e baixo custo. Desta análise podem surgir informações cruciais para o diagnóstico de anemias, infecções ativas, imunodeficiências, alergias e também monitorização de terapêuticas.

Esta análise é realizada a partir de uma amostra de sangue venoso, colhida para um tubo com anticoagulante, sendo o mais utilizado, o etilenodiaminotetracético tripotássico (EDTA-K3), que funciona como um quelante dos íons de cálcio, permite preservar a morfologia das células, previne a agregação plaquetar e impede a cascata de coagulação. Em utentes com historial de trombocitopenia ou para confirmação de resultados pode ser requerida uma colheita para um tubo com anticoagulante citrato (mais eficaz que o EDTA-K3) a 3,8% numa proporção 1/9.

No hemograma, ocorre a determinação de diversos parâmetros, como a contagem de elementos sanguíneos das diferentes linhagens (eritrócitos, leucócitos e plaquetas), o doseamento da hemoglobina, razão entre eritrócitos e o volume de plasma (hematócrito), índices eritrocitários (MCV, HCM, MCHC, RDW), bem como os plaquetários (MPV, PCT e

PDW) e a determinação das subpopulações de leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, basófilos e monócitos).

Com o avanço e implementação de tecnologia nos laboratórios, com um pequeno volume de sangue, cerca de 100 ul, conseguimos em aproximadamente 1 minuto, um resultado preciso e com uma probabilidade de erro muito baixa. Porém, continua a ser crucial a realização e observação de esfregaços periféricos, uma vez que podem adicionar informação vital para um diagnóstico e também para confirmação de valores anormais que surjam no hemograma.

Ao contrário de algumas análises, que requerem condições específicas de colheita, como jejum, respetivo momento no ciclo circadiano, etc... A nível do hemograma, a colheita pode ser realizada a qualquer altura do dia, apesar do recomendado ser a colheita matinal, podendo haver mínimas variações ao longo do dia. A nível da necessidade de jejum, existem diferentes estudos, mas a maioria defende que as alterações que pode causar são mínimas e clinicamente não relevantes.

A amostra de sangue, fica viável para análise, se devidamente conservada até 24 horas após a colheita, porém existem estudos que indicam que alguns parâmetros, nomeadamente, VPM e a CHMC, podem sofrer alterações nestas condições.

Uma regra não convencional, mas que pode servir de guia nas primeiras e mais inexperientes análises de hemogramas, é a regra dos três, que define que a Hb deve ser aproximadamente três vezes superior à contagem de glóbulos vermelhos e que o hematócrito deve ser também três vezes superior ao valor da Hb, alterações significativas destes valores devem ser investigadas.[1]

Os eritrócitos são células em formato de disco bicôncavo sem núcleo com um diâmetro típico entre 6 e 9 micrómetros, com um ciclo de vida médio de 120 dias, apresentando uma área de superfície superior ao seu volume, o que permite os eritrócitos mudem facilmente a sua forma, permitindo a passagem pelos capilares e também trocas gasosas. São formados na eritropoiese, que se realiza na medula óssea, tem início com uma célula indiferenciada pluripotente (HSC), que tem potencial de autorrenovação e existe numa proporção de 1/20 milhões. Todo este processo é regulado pela eritropoietina, produzida no rim em resposta a uma diminuição do nível de oxigénio e por fatores de transcrição e crescimento. O pronormoblasto é a primeira célula desta linhagem, que por divisões celulares vai dando origem a normoblastos mais pequenos e com maior teor de hemoglobina (coloração acidófila) no seu citoplasma, o núcleo é depois extrusado no normoblasto tardio na medula e formam-se reticulócitos (último precursor do GV), que ainda possuem vestígios de RNA ribossomal. [2]

A hemoglobina A1, maioritária no ser humano, é formada por quatro cadeias polipeptídicas, α_2 e β_2 , cada um ligado a um grupo heme, formado na mitocôndria com a ligação da protoporfirina ao ferro (Fe), a sua principal função é o transporte de oxigênio dos pulmões para os tecidos. Existem ainda a hemoglobina F, hemoglobina fetal, e a hemoglobina A2. É um critério crucial para o diagnóstico de qualquer anemia.

O hematócrito (HCT) é a percentagem de glóbulos vermelhos existente num dado volume de sangue, pode estar associado a uma alteração do número de eritrócitos ou ao volume plasmático. Pode estar diminuído em situações de desidratação ou hemólise da amostra.[2]

O Volume Corpuscular Médio (VCM) é o volume médio dos eritrócitos, no caso de estar aumentado é um caso de macrocitose e diminuído, microcitose. É um parâmetro que pode distinguir tipos de anemia e muito útil no encaminhamento do diagnóstico. No caso de macrocitose, podemos pensar em deficiências tanto de vitamina B12 como de ácido fólico, doenças hemolíticas imunes, entre outras. No caso de microcitose, é mais sugestivo de anemia por deficiência de ferro, talassemias, intoxicações por chumbo e outros. [2]

A Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) define a quantidade média de hemoglobina presente em cada eritrócito.

A Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) define a população eritrocitária como hipocrômica, normocrômica ou hiperocrômica e é obtida pela razão entre a concentração de hemoglobina pelo hematócrito.

A amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos (RDW) também conhecido como índice de anisocitose eritrocitária, avalia a variação de tamanho dos eritrócitos presentes na amostra.

O leucograma, parte constituinte do hemograma, avalia quantitativamente e qualitativamente os leucócitos. Os leucócitos podem ser divididos em 2 grupos: fagócitos e linfócitos. Os fagócitos fazem parte da resposta inata do sistema imunitário, surgem rapidamente e como primeira linha num processo infeccioso e os linfócitos que realizam a mediação da resposta imune adaptativa, que leva ao aparecimento de memória imunológica que irá permitir uma resposta mais rápida e extensa numa reinfeção com o mesmo agente (princípio utilizado na vacinação).

Os fagócitos ainda se podem subdividir em granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e os monócitos.

Os neutrófilos apresentam núcleo denso e polilobulado (dois a cinco lóbulos), possui um citoplasma abundante e com grânulos diversos (primários e secundários). O primeiro precursor que pode ser morfológicamente distinguido é o mieloblasto, uma célula com um núcleo extenso com uma cromatina fina e alguns nucléolos. Situações de neutrofilia surgem normalmente com processos de infecção bacteriana associado a processos febris, processos inflamatórios e de necrose, neoplasias, entre outros.[2]

A neutropenia, diminuição do número de neutrófilos, pode ser uma situação benigna (racial ou familiar), pessoas negras e do médio oriente tem valores tipicamente mais baixos ou tratar-se de alguma patologia autoimune ou por indução medicamentosa.

Os monócitos são as maiores células a circular no sangue periférico, possuem um núcleo grande oval ou reniforme, uma cromatina clara e um citoplasma extenso e azulado com inúmeros grânulos e vacúolos finos. O precursor dos monócitos na medula são os monoblastos e os promonócitos. Um aumento dos monócitos, monocitose, é muito comum em infecções bacterianas crônicas, como tuberculose, infecções por protozoários e doenças associadas a articulações, como a artrite reumatoide.

Os eosinófilos são algo similares aos neutrófilos, mas possuem uma coloração mais alaranjada, devido ao seu caráter acidófilo e quase nunca apresentam mais de três lóbulos. O aumento de eosinófilos, eosinofilia, deve-se maioritariamente a processos alérgicos, defesa contra parasitas e na resolução de inflamação e reparação de tecidos.[2]

Os basófilos são células com muitos grânulos citoplasmáticos negros (heparina e histamina) que cobrem o núcleo, possuem pontos de ligação para a imunoglobulina IgE, estando assim associados a reações anti-inflamatórias anafiláticas e alérgicas.

Todos estes granulócitos, são formados na granulopoiese, um processo regulado por diversos fatores de crescimento, como por exemplo, o fator estimulante de colônias granulocíticas (G-CSF), fator estimulante de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) e o fator estimulante de colônias de macrófagos (M-CSF).

Os linfócitos surgem posteriormente num processo imunológico e assistem a ação dos fagócitos, permitem formar memória imunológica para os antígenos a que se ligam. Dividem-se em linfócitos B, T e NK que partem do mesmo progenitor hematopoiético. Os linfócitos B sofrem diferenciação na medula óssea e circulam no sangue periférico, até reconhecerem antígenos. Já os linfócitos T só sofrem o processo de maturação no timo. Linfocitose geralmente é causada por infecções virais agudas ou crônicas, linfomas ou leucemias linfoides.

As plaquetas são formadas num processo denominado megacariopoiese, regulado pela trombopoietina produzida maioritariamente no fígado, em resposta á diminuição de plaquetas em circulação e pela destruição de plaquetas no baço. Esta hormona leva ao aumento do número e maturação dos megacariócitos, estes formam pseudópodes da sua membrana citoplasmática que se fragmentam dando origem ás plaquetas. A sua função é realizar um “tampão” em caso de lesão, para isso é crucial as plaquetas aderirem ao epitélio e depois agregarem-se para estancar a hemorragia, para ambos os processos é crucial a atuação do fator de Von Willebrand. O volume plaquetar médio (MPV) representa o tamanho médio das plaquetas e pode ser muito importante para a definição do diagnóstico. Nos casos de trombocitopenia detetada no aparelho, deve ser verificada manualmente a presença de coágulos e realizado um esfregaço de sangue periférico para investigar a presença de agregados plaquetar ou macroplaquetas.[2]

No Laboratório Dra. Luísa Frazão, a medição do hemograma é realizada num aparelho que executa a contagem hematológica automática ABX Pentra 80, utiliza como base a impedância e a citoquímica para determinar as características físicas e químicas das células sanguíneas com utilização de uma metodologia de citometria de fluxo.

A citometria de fluxo permite realizar uma contagem e caracterização rápida de um grande número de células baseadas no seu tamanho e complexidade (núcleo e grânulos) em suspensão num meio líquido que segue um fluxo. O aparelho usa uma alíquota de sangue total que é encaminhado por um mecanismo de fluxo laminar permitindo a passagem em linha das células uma por uma, depois é emitido um laser semiconductor que passa pelo fluxo, a luz que atravessa o fluxo é detetada por vários recetores, quando existem impedimentos (passagem das células) a luz é refletida em várias direções, isto permite averiguar o tamanho da célula (*forward-scatter*). Outra parte do feixe é refratado isto permite avaliar a granularidade e complexidade da célula (*side-scatter*).

Os resultados obtidos pelo analisador automático podem não ser suficientes para a realização do diagnóstico e todos os valores que apresentem alterações significativas, devem ser confirmadas pela realização e observação do esfregaço periférico para permitir visualizar a morfologia das células sanguíneas.

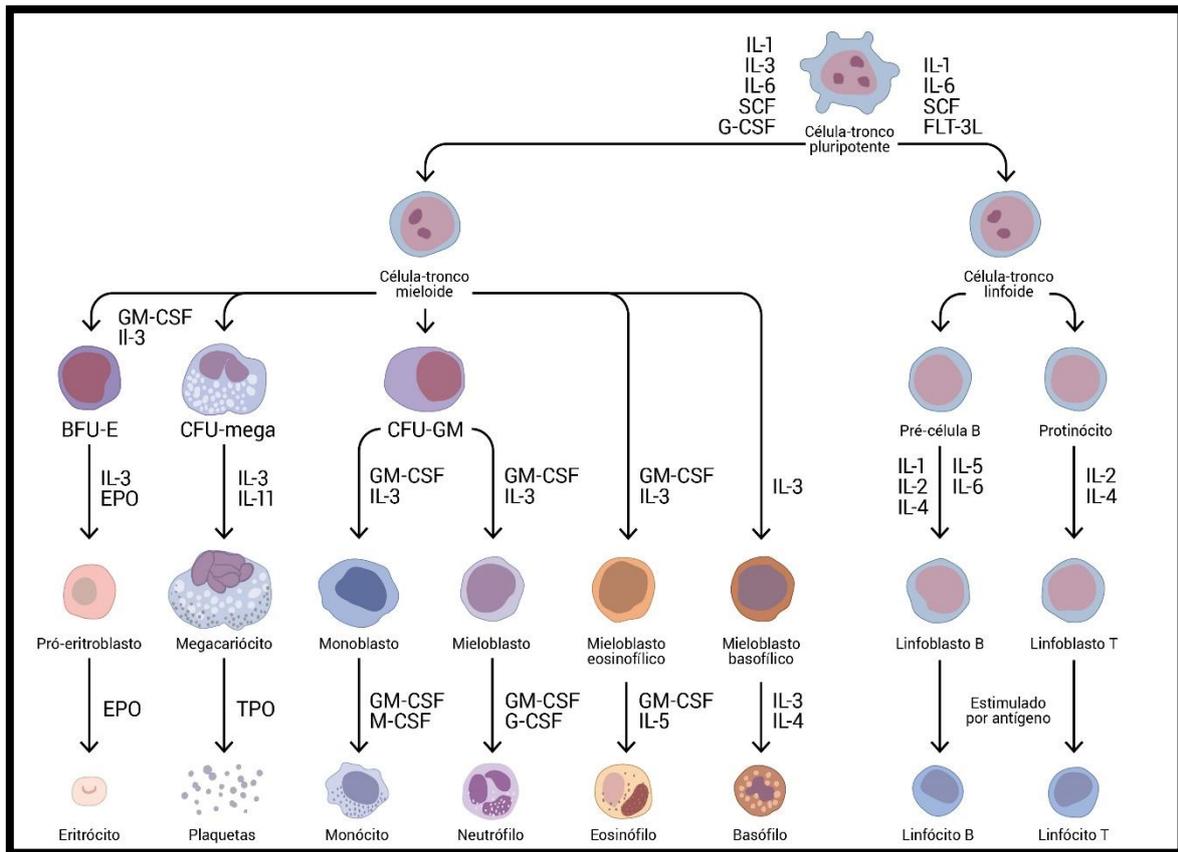


Figura 1 - Hematopoiese

Fonte: [2]

Esfregaço de Sangue Periférico

O esfregaço de sangue periférico é uma técnica manual de extrema importância para o diagnóstico de doença hematológica, pois permite a observação direta de todas as linhagens (eritrocítica, leucocítica e plaquetária) e avaliá-las quanto a alterações morfológicas (forma, tamanho, coloração e inclusões) e também avaliar a presença de células imaturas e confirmar alterações numéricas. Este esfregaço deve ser realizado de forma a apresentar uma textura homogênea, regular e uma espessura que diminua gradualmente ao longo da lâmina, permitindo a formação de uma franja e bordos bem definidos. Um esfregaço demasiado espesso irá dificultar a visualização, pois as células estarão amontoadas, e um esfregaço irregular poderá não ser homogêneo e apresentar zonas dispare de concentração de células e um esfregaço mal seco, pode dar origem a alterações morfológicas dos eritrócitos. É muito importante distinguir verdadeiras alterações morfológicas de artefactos que surjam por outras causas. [1]

O esfregaço de sangue periférico, depois de um processo de secagem, é corado pelo método de May-Grünwald Giemsa.

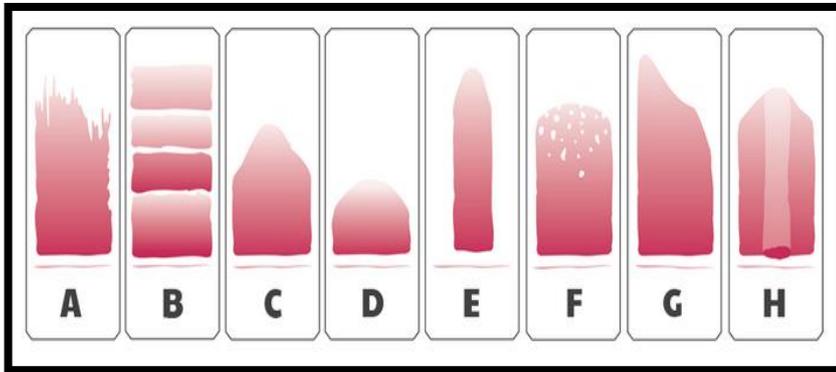


Figura 3 - Lâminas mal executadas A- Irregularidades na lâmina extensora; B- Deslizamento intermitente; C- Deslizamento muito rápido; D- Sangue insuficiente; E- Concentração no meio; F- Gordura na lâmina; G- Pressão desigual na lâmina; H- Sangue seco.

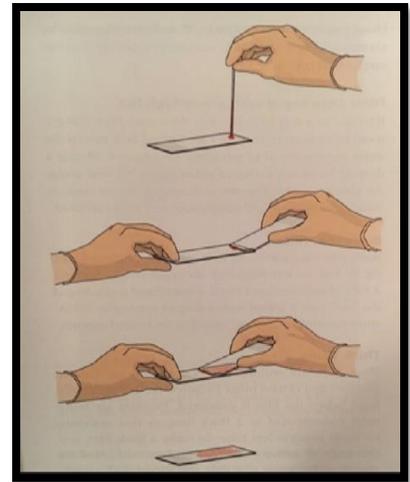


Figura 2 - Execução prática de um esfregaço de sangue periférico

Reticulócitos

Na reta final da eritropoiese, o normoblasto ortocromático perde o seu núcleo por extrusão, dando assim origem a um reticulócito, que normalmente circula no sangue periférico por 24 a 48 horas, o precedente do eritrócito. O reticulócito é uma célula anucleada que ainda contém RNA ribossomal no seu citoplasma, que pode ser evidenciado por um corante básico, como o azul brilhante de cresil, que neutraliza e precipita o RNA residual em filamentos que coram de azul escuro, e assim se distinguem de um citoplasma azul pálido.

A contagem de reticulócitos é muito importante, pois permite avaliar a função medular e capacidade de produção de eritrócitos. Em suspeitas de anemia é um exame realizado para avaliar se se trata de uma anemia regenerativa (estimulação da medula para compensar a anemia, promovendo um aumento no número de reticulócitos), como é o exemplo de uma hemorragia ou anemias hemolíticas ou se é uma anemia não regenerativa (eritropoiese ineficaz, não existe aumento de reticulócitos), típico de leucemias, insuficiências renais ou anemias por deficiências de ferro, vitamina B12 ou folato.[2]

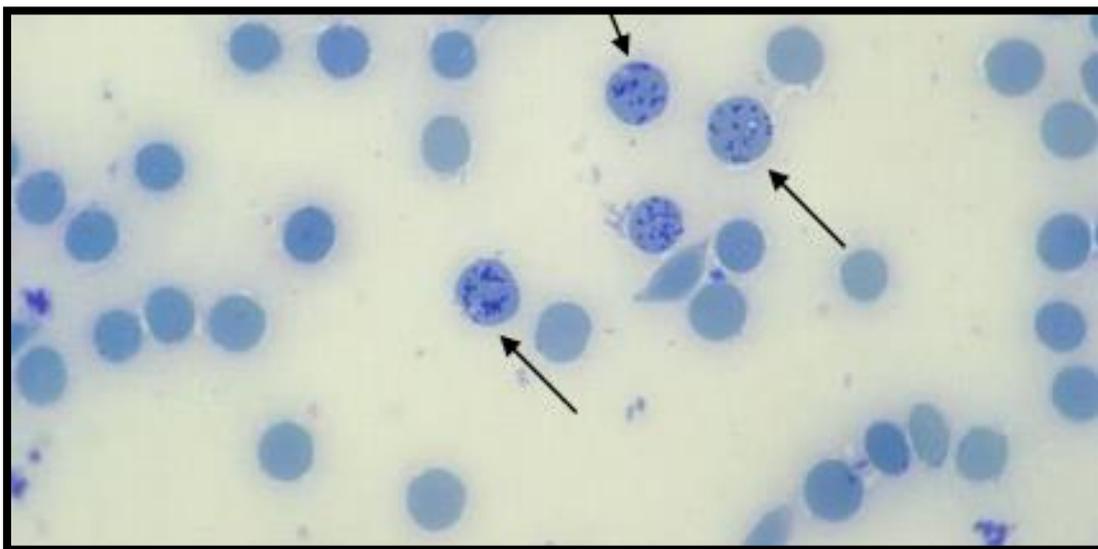


Figura 4 - Esfregaço com reticulócitos (ampliação de 100x).

Velocidade de Sedimentação

A velocidade de sedimentação mede a velocidade à qual os eritrócitos sedimentam num tubo num determinado intervalo de tempo. É uma metodologia inespecífica, porém é rápida, barata e útil para monitorização de processos inflamatórios. Os eritrócitos devido à composição da sua membrana tendem a repelir-se, uma vez que apresentam carga negativa, quando surgem proteínas de fase aguda (fibrinogénio, PCR, α 1-antitripsina e imunoglobulinas) como resultado de um processo inflamatório, estas ligam-se às membranas dos GV, originando uma alteração no potencial de membrana e à consequente aglomeração dos eritrócitos, que levam a um aumento da velocidade de sedimentação.

Neste Laboratório, é utilizado um analisador automático, Ves-Matic 30, onde todo o processo é automatizado, inclusive a agitação e leitura, e os resultados obtidos são comparáveis com os obtidos pelo método de Westergren modificado, mas com uma duração mais curta (33 minutos) e com uma capacidade para 30 amostras.

O método de Westergren é um método manual que permite quantificar a velocidade de sedimentação, utiliza sangue total num tubo com EDTA-K3, é inserido um tubo de Westergren, temos de puxar um êmbolo para criar vácuo, e o sangue sobe verticalmente ao longo do tubo. Esta metodologia tem a duração de uma hora e depois é realizada a leitura em milímetros entre o nível do plasma e o nível da coluna dos eritrócitos sedimentados. É um método já pouco utilizado em laboratórios automatizados, mas tem a sua utilidade quando a quantidade de sangue colhido se revela insuficiente para a análise automática.

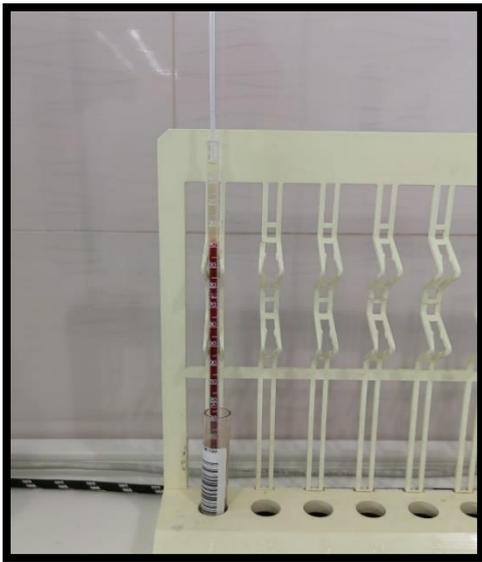


Figura 5 - Método Westergren para medição manual da velocidade de sedimentação.



Figura 6 – Analisador de velocidade de hemossedimentação automático VES-MATIC 30.

Teste de Coombs

O teste de Coombs pode ser realizado de forma direta ou indireta. No Teste de Coombs direto faz-se a pesquisa de anticorpos ligados ao eritrócito, para este efeito adicionamos ao sangue total, o reagente de Coombs que possui anticorpos anti-imunoglobulina humana e verifica-se a existência de aglutinação. No caso de existir aglutinação pode-se tratar de anemia hemolítica autoimune, de uma simples reação transfusional ou várias outras situações, como por exemplo, lúpus, mononucleose e artrite reumatoide.

O teste de Coombs indireto por sua vez é realizado no soro e tem como objetivo avaliar a presença de anticorpos anti-eritrocitários. É muito solicitado em situações de transfusão para avaliar compatibilidade e em grávidas para avaliar a presença de anticorpos anti-D, prevenindo assim a doença hemolítica do recém-nascido.

No laboratório são utilizados *ID-Card LISS/Coombs*, cards com 6 microtubos revestidos com anti-IgG e complemento C3d inseridos no gel.[3]

Determinação de grupos sanguíneos

Esta determinação baseia-se na identificação de antígenos do sistema AB0 presentes nos eritrócitos, podendo ser classificados fenotipicamente como sendo do grupo A, B, AB ou 0. No soro de cada um dos grupos existem anticorpos naturais, ou seja, no grupo A existem

anticorpos anti-B, no grupo B a presença de anticorpos anti-A, no grupo 0 anticorpos anti-A e anti-B e no grupo AB não existem anticorpos naturais. O teste é realizado numa amostra de sangue total e soros padrão de anticorpos específicos.

É também realizada uma pesquisa de antígenos eritrocitários do sistema Rh, esta pesquisa a presença de AgD nos eritrócitos, caso exista é considerado Rh positivo e não possui anticorpos contra o antígeno Rh. Se for negativo, o utente não possui anticorpos contra o antígeno Rh, porém pode desenvolvê-los, caso seja exposto a sangue Rh positivo, daqui surge a principal preocupação se uma mãe for Rh negativa e tiver tido uma primeira gravidez com um feto Rh positivo, poder desenvolver anemia hemolítica perinatal, se tiver uma nova gravidez de um feto Rh positivo.

No laboratório é utilizado o método *Card-ID DiaClon ABO/D*, que permite numa *card* e de uma vez, a determinação do perfil ABO/RhD e uma confirmação do RhD. O primeiro anti-D confirma a variante DVI, já o segundo anti-D é negativo para a variante DVI. Variante DVI é a variante mais comum de eritrócitos com fenótipo D parcial, se um doente for considerado AgD positivo, tendo a variante DVI, e receber uma transfusão de outro AgD positivo, irá formar anticorpos anti-D. [4]



Figura 7 - ABO ID-card com um resultado A positivo.

Testes de coagulação

Tempo de protrombina (TP) é utilizado para avaliar a via extrínseca (desencadeada por fatores tecidulares) e comum da cascata de coagulação e é sensível a fatores dependentes de vitamina K, como o fator II ou protrombina, fator V, fator VII, fator X e fibrinogénio. Mede em segundos

o tempo necessário para formar um coágulo de fibrina. Ao plasma do paciente, é adicionado tromboplastina e depois cloreto de cálcio. É utilizado para controlo de terapêuticas com antagonista da vitamina K, por exemplo, varfarina e também para avaliação da coagulação antes de algum processo cirúrgico. O seu valor é transformado em INR (*International Normalized Ratio*) para permitir a globalização da compreensão dos resultados, aumento destes valores também pode relevar insuficiência na síntese proteica a nível hepático.

O tempo de Tromboplastina Parcialmente Ativada (TTPA) avalia a via intrínseca (desencadeada pela trombina e colagénio) e comum (fator I, II, V, VIII, IX, X, XI e XII). Ao plasma do paciente são adicionados ativadores da via intrínseca e depois cloreto de cálcio para iniciar a cascata de reações. O resultado é fornecido em segundos e não existe uma padronização global.

O fibrinogénio (Fator I) é uma glicoproteína produzida a nível hepático, muito importante na formação da fibrina e consequentemente do coágulo. O resultado aparece em segundos, após a junção ao plasma do utente de trombina em excesso, que media a formação de fibrina. [5][6]

Todos estes testes utilizam amostras colhidas com anticoagulante citrato a 3,8% numa proporção 1/9 e a colheita tem de ter a proporção indicada de anticoagulante e sangue.

ENDOCRINOLOGIA E IMUNOLOGIA

O principal objetivo da endocrinologia é avaliar o funcionamento do sistema endócrino e os seus distúrbios. Este sistema é composto por várias glândulas, que produzem e libertam hormonas diretamente para a corrente sanguínea, tendo cada uma a sua função específica e concentração enquadrada dentro de condições particulares.

No Laboratório, estes doseamentos são efetuados nos aparelhos Unicel Dxl 600, Biomérieux Vidas e através de técnicas manuais.

O UniCel Dxl realiza ensaios através de quimioluminescência e utiliza como fase sólida partículas paramagnéticas revestidas com anticorpos específicos adsorvidos à superfície. As partículas são dispensadas num tubo de reação com características próprias, que serve como recipiente de incubação, lavagem e desenvolvimento do sinal. Em seguida, a amostra é incubada com o anticorpo marcado com uma enzima, permitindo a ligação. Esta mistura é separada da partícula, fazendo com que o material excedente se acumule numa câmara superior do tubo. Seguem-se uma série de lavagens para assegurar que a partícula fica isolada de qualquer fração não ligada. A fração que se encontra ligada é então quantificada utilizando um substrato quimioluminescente que, ao reagir com a enzima que se encontra ligada á partícula, promove a emissão de luz. A intensidade de luz emitida é detetada por um luminómetro, que permite calcular uma concentração tendo por base uma curva padrão.

Os testes mais realizados nesta área, são parâmetros para avaliação da função tiroideia (TSH, T3 E T4), antígenos específicos da próstata (PSA total e livre) e a realização de testes imunológicos de gravidez (deteção de hCG) realizados em testes rápidos qualitativos em cassete por imunocromatografia de fluxo lateral.

Um sistema imunitário competente consegue detetar e eliminar agentes agressores, como microrganismos e células anormais do próprio corpo, sendo ao mesmo tempo competente para reconhecer as células normais e viáveis.

A resposta imune contra agentes estranhos ao organismo possui três linhas de defesa. A primeira é constituída pelas barreiras físicas: a pele, as mucosas, as secreções e as células ciliadas. A segunda linha de defesa é designada Imunidade Inata. Esta resposta imunitária é considerada inespecífica pois é composta por células e substâncias químicas que estão presentes nos locais mais comuns da invasão microbiana, controlando assim o crescimento e propagação de agentes patogénicos. As células fagocíticas, as células *natural killers* (NK) e o sistema de complemento fazem parte da resposta inata. A terceira linha de defesa é a

imunidade adquirida que reconhece, elimina e cria memória para os invasores, mediada por linfócitos B e T.

Nos laboratórios, a maioria das técnicas baseia-se no uso e na detecção de anticorpos. No caso do Homem, a produção de anticorpos depende dos agentes patogénicos e do local onde decorre a infeção, ocorrendo uma alteração da classe dos anticorpos de acordo com os parâmetros da infeção. Os anticorpos ligam-se ao agente patogénico, induzindo a sua eliminação pelas células fagocíticas (neutrófilos e macrófagos) ou pelo sistema do complemento (ocorre a ativação de vários fatores que resulta no recrutamento de fagócitos e na eliminação dos agentes patogénicos). Estas sequências de respostas imunológicas estão envolvidas na resolução de infeções por bactérias, parasitas e alguns vírus.[7]

Em meio laboratorial são muito utilizadas as técnicas manuais de imunologia e a maioria dessas técnicas utiliza as reações de aglutinação. As reações de aglutinação resultam na formação de complexos antígeno-anticorpo em que os antígenos que se encontram à superfície das células (ou partículas em latex) formam complexos com os anticorpos da amostra (quando estes são produzidos) formando aglutinações. Neste laboratório, algumas análises são realizadas com base em reações de aglutinação, tais como o Fator Reumatóide, VDRL e o método não treponémico *Rapid Plasm Reagin* (RPR), entre outras.

MICROBIOLOGIA

Nesta área o grande objetivo passa por realizar análises bacteriológicas, parasitológicas e micológicas de diversos produtos biológicos, urina, fezes, exsudados (vaginais, nasais, uretrais, entre outros) sangue e esperma. Neste setor praticamente todo o trabalho desenvolvido são técnicas manuais, desde a sementeira de meios, esfregaços e colorações, observações ao microscópico e realização de antibiogramas.

O principal objetivo é identificar microrganismos responsáveis por um processo patológico e obter o seu perfil de suscetibilidade a antibióticos, garantindo um processo terapêutico seguro e sem resistências.

O exame mais requisitado desta área é a urocultura, dado que as infeções urinárias são muito frequentes na comunidade, os agentes etiológicos mais comuns são as enterobactérias, com maior destaque para a *Escherichia coli*. A urina por si só é normalmente um fluido biológico estéril, porém no processo de micção pode arrastar microrganismos na passagem pela uretra, levando a contaminações que podem induzir erros de leitura das urocultura. Para evitar estas situações a colheita deve ser realizada com algum cuidado, nomeadamente higienizar cuidadosamente com água e sabão a zona vaginal ou peniana, desperdiçar o primeiro jato de urina, colhendo para o recipiente estéril o jato intermédio. A urina chega ao laboratório em recipiente esterilizado, é realizada a análise sumária para avaliar a presença de nitritos, eritrócitos, pH e leucócitos e realizada a sementeira no meio CPSE, meio cromogéneo com uma base rica de variadas peptonas que permite uma identificação presuntiva de várias bactérias, tendo em conta a cor e forma das colónias no meio.

Nas fezes são realizados 3 procedimentos: pesquisa de sangue oculto (PSOF), coprocultura e pesquisa parasitológica.

A pesquisa de sangue oculto nas fezes, é realizado por um teste imunocromatográfico de fluxo lateral para deteção de hemoglobina. Este teste é útil para o rastreio de patologias gastrointestinais.

Na coprocultura, as fezes são enriquecidas num meio de selenito e depois são cultivados nos meios Salmonella e Hektoen para pesquisa de *Salmonella spp* e *Shigella spp*, a não ser que haja informação médica para pesquisa de outros elementos.

Na pesquisa parasitológica, realiza-se uma observação a fresco e depois é usado o método de concentração de Ritchie, observado diretamente ao microscópio, na busca de parasitas e estruturas parasitárias.

BIOQUÍMICA

A área da bioquímica clínica é das mais abrangentes de um laboratório de análises clínicas, isto devido ao grande número de parâmetros que avalia como enzimas, iões, metabolitos, entre outros, o que permite ter uma visão global de praticamente todas as funções do organismo.

A amostra principal é o soro, que no laboratório é obtido por colheita de sangue total para um tubo com ativador de coagulação e gel de separação, que após a retração do coágulo (tubo em repouso por cerca de 30 a 45 minutos), é centrifugado a 3000 rpm durante 9 minutos a 4°C, porém também se analisam amostras como urina.

No laboratório, as determinações são efetuadas no analisador químico automático Beckman-Coulter AU480 que tem acoplado um módulo ISE com eletrodos seletivos de iões.

Quase todas as medições são realizadas por metodologias de espectrofotometria, que permite medir a absorvância. À exceção dos iões que são analisados por potenciometria, que avalia diretamente a concentração de iões numa solução, calculando a diferença de potencial de um eletrodo de referência para um eletrodo seletivo. De seguida são abordados alguns desses parâmetros bioquímicos.

Avaliação da função hepática

O fígado é um órgão com um papel fundamental no nosso organismo, com funções excretoras, de desintoxicação, síntese, entre outras. Torna-se assim um órgão muito suscetível a lesões.

AST

É uma enzima que não é específica do fígado, está presente em vários outros tecidos como músculos, pâncreas e eritrócitos. Porém é muito utilizada juntamente com a ALT para diagnóstico e monitorização de lesão hepatocelular. Valores elevados podem ser detetados em situações isquémicas (presença maioritária na mitocôndria) e toxicidade, nomeadamente em variadas situações como cirrose, hepatites, dano muscular, entre outras. Aumentos mais ligeiros podem ser detetados com consumo de álcool ou induzido por fármacos. [8]

Nesta metodologia, a AST catalisa a transaminação do aspartato e do 2-oxoglutarato, formando L-glutamato e oxaloacetato, o oxaloacetato sofre uma redução para L-malato pela MDH, enquanto o NADH é convertido em NAD⁺, a diminuição da absorvância devido ao uso do NADH é avaliado a 340nm e é proporcional á atividade da AST na amostra.[9]

ALT

Apesar de não ser uma aminotransferase restrita ao fígado, a sua atividade é muito superior no fígado que em qualquer outro órgão, o que indica que qualquer alteração poderá maioritariamente ser atribuído a algum problema a nível hepático, é considerada o marcador com maior sensibilidade para hepatotoxicidade. No entanto, a influência de fontes exteriores ao fígado nos valores de ALT promove o risco de falsos positivos. Está presente no citoplasma dos hepatócitos, sendo um marcador mais sensível que a AST para dano hepatocelular. Valores elevados estão sempre associados a necrose hepatocelular seja de origem viral, tóxica ou por isquémia. [8]

A metodologia baseia-se no facto de a ALT catalisar uma transferência do grupo amina da alanina para o 2-oxoglutarato formando piruvato e glutamato, o piruvato reage com o NADH numa reação catalisada pela lactato desidrogenase (LDH) dando origem a lactato e NAD⁺. A diminuição de absorvância devido ao consumo de NADH medido a 340 nm é proporcional á atividade da ALT na amostra.[10]

Fosfatase alcalina (ALP)

A ALP é uma proteína membranar envolvida no transporte de metabolitos através de membranas celulares, está maioritariamente concentrado nos tecidos ósseos e hepático. No fígado está maioritariamente presente no epitélio dos canalículos biliares e encontra-se aumentado em processos de colestase ou lesões hepatobiliares, mas é sempre importante tentar detetar a origem deste aumento, uma vez que pode surgir devido a outros tecidos ou origem fisiológica, fazendo avaliação conjunta com outros biomarcadores, como a GGT. Em casos agudos de obstrução biliar há um aumento comitente de transaminases e bilirrubina conjugada. [8]

A atividade da fosfatase alcalina é diretamente proporcional á taxa de conversão de p-nitro-fenilfosfato (incolor) em p-nitrofenol na presença de zinco e magnésio e medido a 410 e 480 nm. [11]

Gama Glutamil Transferase (GGT)

A GGT é uma peptidase membranar, responsável por realizar a reposição da glutathione intracelular(importante antioxidante), é mais encontrada nos túbulos renais, porém está presente noutros tecidos, mas os aumentos séricos costumam estar mais relacionados com a sua presença no epitélio dos canalículos biliares, o seu aumento pode estar associado ao aumento da idade, IMC e consumo de álcool bem como a outras condições não hepáticas

(falha renal ou pulmonar), mas em casos de colestase e obstruções hepatobiliares, tende a aumentar juntamente com a ALP e outros biomarcadores de função hepática. Isolado não possui grande valor diagnóstico. [8]

A metodologia baseia-se numa reação de transferência do grupo gama-glutamil do substrato formando um novo composto corado, a taxa de absorvância 410/480 nm é diretamente proporcional á atividade da GGT. [12]

Bilirrubina

Aumento das bilirrubinas são um dos fatores mais indicativos de falha de função hepática, porém pode estar aumentada noutras situações como hemólise ou deficiências genéticas.

A bilirrubina resulta da degradação do grupo heme, principal constituinte da hemoglobina. Como é insolúvel circula ligada á albumina e é transportada até ao fígado, onde é conjugada com ácido glucorónico, transforma-se em bilirrubina conjugada (direta) e é solúvel, e pode assim ser eliminada pela bÍlis. No intestino, é metabolizada e excretada nas fezes, sendo que uma mínima parte é reabsorvida no intestino e excretada no rim, no caso de surgir uma situação de colestase ou obstrução biliar, maior parte da excreção passa a ser feita por via renal, surge acumulação de bilirrubina conjugada(direta) e icterícia.

A análise de bilirrubina, é realizada por avaliação da bilirrubina total (ambos os tipos de bilirrubina) e a bilirrubina conjugada, sendo a não conjugada calculada tendo em conta estes valores. A interpretação destes valores deve ser comitente com outros marcadores hepáticos, hiperbilirrubinémia associada a valores elevados de transaminases, sugerem lesões agudas de origem isquémica ou tóxica, enquanto hiperbilirrubinémia com valores elevados de ALP sugerem um cenário de lesão colestática. [8]

Método: A bilirrubina direta é medida por uma reação direta com um sal de diazónio (DPD) em meio ácido que forma azobilirrubina (composto corado), o valor de bilirrubina direto é proporcionalmente direto com o desenvolvimento de cor medida a 570/660 nm. [13]

A bilirrubina total segue o mesmo processo, porém é utilizada cafeina para acelerar a reação e um surfactante para solubilizar a bilirrubina não conjugada. [14]

Albumina

A albumina é a principal proteína plasmática, é sintetizada nos hepatócitos e é muito importante para assegurar pressão oncótica, manutenção do pH e transportador de aminoácidos, metais, cálcios e bilirrubina. Podemos avaliar a função de síntese do fígado pela

concentração de albumina, porém esta também pode ser afetada por desequilíbrio eletrolítico, desidratação e insuficiências renais.

Normalmente é pedido juntamente com o tempo de protrombina, que aparece aumentado em caso de insuficiência hepática.

Método: Uma reação a pH 4.2, o verde de bromocresol reage com a albumina, gerando um complexo de cor verde intenso, um aumento de absorvância devido a este complexo medido a 600/800 nm é proporcional á concentração de albumina. [15]

Amónia

A amónia é um produto resultante do catabolismo de proteínas proveniente tanto da via exógena (dieta) como endógena (turnover proteico). Apresenta um potencial altamente tóxico para o organismo, é de imediato transformado a nível hepático em ureia (ciclo da ureia) para poder ser excretado. Pode ser usado para avaliar a função de desintoxicação do fígado.

Situações de hiperamonémia podem ser muito perigosas, pois pode levar a acumulações no tecido cerebral e apresentar efeitos nefastos no SNC. Pode ter causas adquiridas (doenças hepáticas, fármacos, etc...) ou congénitas (deficiências nas enzimas do ciclo da ureia). Deficiência na carbamoilfosfato sintetase (CPSI) leva a hiperamonémia tipo I e deficiências na ornitina transcarbamoilase (OTC) leva a acidúria orótica.

Método: A análise é efetuada por uma reação enzimática direta, como indicado na reação abaixo, o reagente também possui LDH em excesso, garantido assim que piruvato endógeno não interfere na reação. [16]



Avaliação da função renal

Os rins são muito importantes para toda a homeostasia do organismo, permitem filtrar toxinas, permite regular a pressão sanguínea e o equilíbrio eletrolítico do corpo e têm um papel preponderante a produzir as hormonas que atuam na hematopoiese(eritropoietina) e no metabolismo ósseo.

Creatinina

A creatinina é um produto metabólico resultante da creatina e fosfocreatina presentes no metabolismo muscular, esta em condições normais é rapidamente eliminada pelo rim. A

produção de creatinina é diretamente proporcional á massa muscular, assim varia pouco de dia para dia, mas apresenta variações relacionadas com idade, sexo e etnia. Isto implica que em certas situações valores normais de creatinina, não excluem a existência de uma insuficiência renal. Alto consumo de carne pode aumentar os níveis de creatinina.

A medição da creatinina é usada no diagnóstico e acompanhamento de patologias renais, sendo úteis para a avaliação da função glomerular do rim, todavia não apresenta sensibilidade para lesões renais precoces. aparecendo aumentado em situações que já existe um comprometimento notório da TFG.

As creatininas, juntamente com o BUN, são importantes para fazerem a diferenciação entre a azotemia (é um nível sanguíneo alto de produtos nitrogenados no sangue) obstrutiva pré e pós-renal. Uma subida de BUN sem aumento da creatinina é indicativo de azotemia pré-renal, em situações pós-renais (obstrução do fluxo urinário) os níveis de creatinina, BUN e ureia estão aumentados.

Se conjugarmos o valor desta medição com a creatinúria de 24 horas, podemos calcular a clearance de creatinina que permite aferir a taxa de filtração glomerular, um parâmetro muito importante para diagnóstico e monitorização de insuficiências renais.

A medição da creatinina é realizada por uma reação na qual esta reage com o picrato, num meio alcalino, formando um complexo corado, a taxa de mudança de absorvância a 520/800 nm é proporcional á creatinina na amostra. Como se trata de uma reação espectrofotométrica, podemos ter interferência de compostos cromogéneos no soro do utente, como corpos cetónicos e bilirrubina. [17][18]

Ureia

É sintetizada no fígado, no ciclo da ureia, pela ação da OTC e CPSI como produto final do metabolismo proteico. Está dependente da ingestão proteica e do próprio metabolismo endógeno de proteínas. Uma parte da ureia é eliminada por filtração glomerular a restante volta a ser difundida em circulação. Podemos considerar assim, que a concentração de ureia no sangue está relacionada com a taxa de filtração glomerular e pela taxa de síntese da ureia.

O aumento da ureia no sangue pode acontecer devido a perdas hídricas e aumento no catabolismo proteico(pré-renal). Pode ser causado também por glomerulonefrite aguda e necrose a nível tubular(renal) ou por obstruções do trato urinário(pós-renal). Este analito é frequentemente realizado conjuntamente com a creatinina para se tentar realizar um diagnóstico diferencial da função renal.

Método: A ureia é hidrolisada enzimaticamente pela urease dando origem a amónia e dióxido de carbono, a amónia reage com o α -oxoglutarato que é convertido a glutamato numa reação catalisada por GLDH, ao mesmo tempo o NADH é oxidado. A alteração de absorvância a 340 nm pela perda de NADH é proporcional á ureia presente na amostra. [19]

Ácido Úrico

É formado a partir do catabolismo das purinas, a sua concentração no sangue depende da dieta e síntese endógena de purinas, sofrendo influencia também da sua taxa de eliminação (filtração glomerular com reabsorção nos túbulos). Pode estar aumentado devido á alterações renais, são muito utilizados em diagnóstico e controlo de várias patologias como leucemia, terapia citotóxicas e gota.

Método: O ácido úrico é convertido pela uricase em alantoína e peróxido de hidrogénio, este último reage com o 4-aminoantipirina (4-AAP) na presença de N,N-bis(4-sulfobutil)-3,5-dimetilanilina e sal dissódico, produzindo um cromóforo que é lido a 660/800 nm, a quantidade de corante formada é proporcional á concentração de ácido úrico. [20]

Microalbuminúria

A quantificação da microalbuminúria permite um método mais precoce e sensível para deteção de comprometimento renal, é importante no acompanhamento de nefropatia diabética e lesão glomerular, pode ser requisitada a análise numa urina de 24 horas e associar o resultado a um débito urinário ou numa amostra isolada de urina (já existem estudos que demonstram que se trata de uma metodologia confiável, com resultados mais precisos se utilizada a primeira urina da manhã. Usar uma razão albuminúria/creatinúria também ajuda a anular o efeito negativo da falta de um débito urinário).

Em indivíduos com rins saudáveis e funcionais, a quantidade de albumina na urina é muito baixa, pois é praticamente toda reabsorvida nos túbulos proximais. Microalbuminúria define-se como um ligeiro aumento, acima dos níveis normais de albumina na urina, mas ainda abaixo dos valores detetados por metodologias convencionais (< 300 μ g Albumina/24h).

Método: É utilizado um método imunológico de turbidimetria, em que há formação de imunocomplexos com a albumina em solução, originando um desvio da luz similar ao seu tamanho, forma e concentração, a redução da luz incidente é proporcional á concentração de albumina na amostra. [21]

Análise sumária da urina

A análise sumária de urina, ou urina do tipo II, é uma análise de urina que se divide em duas fases: análise físico-química e análise de sedimento. A análise físico-química permite avaliar a parâmetros tais como a glicose, bilirrubina, cetonas, urobilinogénio, sangue, pH, densidade total, proteinúria, nitritos e leucócitos, utilizando uma tira de reagente, lida com uso de técnicas de fotometria pelo analisador automático UNAMAX.

Por último a amostra é centrifugada (3000 rpm a 10 minutos), e o sedimento é visualizado ao microscópio para observar e contar eritrócitos, leucócitos, células epiteliais e avaliar a presença de cilindros, bacteriúria, cristais, fungos, leveduras, parasitas e estruturas a estes pretencentes.

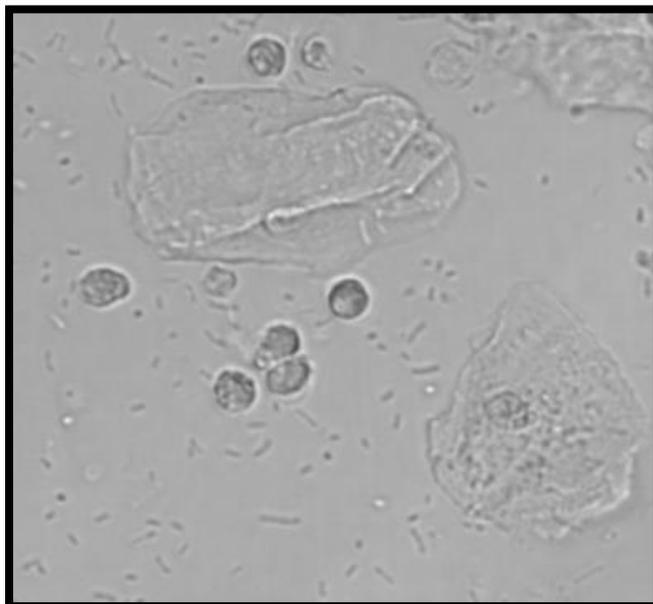


Figura 8 - Sedimento urinário.

Equilíbrio eletrolítico (Ionograma)

Sódio

O Sódio é o principal catião no fluido extracelular e juntamente com os aniões que o ligam, constitui cerca de 90% da osmolaridade do fluido extracelular, com concentrações entre 135 e 145 mmol/L. A sua homeostasia é crucial para garantir um bom funcionamento do organismo, principalmente na manutenção do equilíbrio eletrolítico.

O rim é o regulador principal dos níveis de sódio, com o sistema renina-angiotensina-aldosterona, a regular a sua maior excreção ou reabsorção, garantindo a estabilidade do volume do fluido extracelular.

Um aumento no valor sérico de sódio, pode ser observada em casos de insuficiência cardíaca, renal e hepática, hiperaldosteronismo e gravidez.

Uma diminuição no valor sérico do sódio pode ser observada em perdas gastrointestinais (vômitos, diarreia, entre outras), doença renal, terapia com diuréticos, diabetes, queimaduras e SIADH. [22]

Potássio

O potássio é o principal íão que determina a osmolaridade intracelular. Sendo um fator decisivo na polarização das membranas celulares, que por sua vez, controlam diversos processos celulares, como condução de impulsos nervosos e contrações musculares. Isto significa que pequenas variações, podem ter efeitos muito nefastos no organismo.

Hipocaliémia, pode ser causada por alcalose metabólica, uso de diuréticos e aumento da excreção (perdas urinárias e gastrointestinais).

Hipercaliémia, pode ser causada por hemólise (pseudohipercaliémia), acidose metabólica, traumatismos e diminuição da excreção. [22]

Cloreto

É o anião extracelular que existe em maior concentração na corrente sanguínea, os seus valores séricos estão quase sempre diretamente ligados com os valores de sódio, se existir um aumento de sódio irá existir um aumento de cloreto para compensar e manter o equilíbrio eletrolítico.

As situações que podem levar a aumento ou diminuição do seu valor sérico são similares às que atuam na alteração de valores do sódio. [22]

Estes iões são quantificados por métodos potenciométricos, no modulo ISE, onde são utilizados elétrodos específicos para cada íão com uma solução de referência interna, quando entra em contacto com a amostra é gerado um potencial elétrico na membrana do elétrodo, que é convertida em voltagem que quando comparado com a solução interna pode ser convertido em concentração do íão na amostra.

Avaliação laboratorial do risco cardiovascular:

Perfil lipídico

Colesterol Total

O colesterol é crucial para o organismo e é sintetizado de forma permanente. Pode ser encontrado na composição das membranas das células e funciona como precursor na síntese de hormonas esteróides e ácidos biliares. Em circulação é maioritariamente transportado pelas LDL (lipoproteínas de baixa densidade) até aos tecidos, contribuindo em casos de desregulação para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, em sentido reverso, as lipoproteínas de alta densidade (HDL) transportam o colesterol até ao fígado prevenindo a aterosclerose e outras perturbações lipídicas.

A sua avaliação individual não tem grande valor preditivo relativamente ao risco coronário.

Método: Os ésteres de colesterol no soro sofrem hidrólise pela colesterol esterase (CHE). O colesterol livre produzido sofre uma oxidação pela colesterol oxidase (CHO) em colest-4-en-3-ona e ao mesmo tempo forma-se peróxido de hidrogénio (H₂O₂), o qual reage oxidativamente com 4-aminoantipirina e fenol na presença de peroxidase para produzir um cromóforo, que é medido espectrofotometricamente a 540/600 nm. [23]

Colesterol – HDL

Vários estudos clínicos e epidemiológicos demonstraram existir uma forte ligação entre nível elevados de HDL e a diminuição de incidência de doenças cardiovasculares. Isto deve-se à capacidade do HDL se ligar às restantes apolipoproteínas e tecidos periféricos, retirando colesterol e realizando um transporte reverso até ao fígado, onde o colesterol é degradado. Isto apresenta um papel protetor contra o desenvolvimento de aterosclerose.

É importante que a sua avaliação seja realizada juntamente com o colesterol total, porém um valor de HDL baixo, por si só já é um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Método: o ensaio baseia-se em duas fases. Na primeira fase, todo o colesterol não HDL é solubilizado e consumido pelos reagentes, dando origem a um composto incolor. Na segunda fase, é utilizado um detergente único que seletivamente solubiliza as lipoproteínas do HDL, e o colesterol fica livre para a reação com a colesterol esterase, dando origem a um composto cromogéneo, que é detetado espectrofotometricamente a 600/700 nm, sendo o aumento na absorvância proporcional à concentração de colesterol HDL. [24]

Triglicéridos

Os triglicéridos são a principal fonte de lípidos que incluímos na nossa dieta e funcionam como reserva de energia para o organismo, sendo armazenados a nível do tecido adiposo.

Os TG podem ser ingeridos na dieta ou sintetizados no fígado. Se forem de origem exógena vão ser absorvidos a nível intestinal e incorporados em quilomicrons, estes em circulação vão sofrer ação da LPL (lipoproteína lípase) que vai catabolizar os triglicéridos em ácidos gordos e glicerol, tais componentes podem ser oxidados no musculo ou incorporados no tecido adiposo, os quilomicrons remanescentes vão até ao fígado onde são degradados. Se forem de origem endógena vão ser incorporados em lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), sendo depois transportados na corrente sanguínea, onde vão sofrendo ação da LPL e eventualmente se transformem em LDL. As LDL devido á sua baixa densidade e alto teor de colesterol, facilmente invadem e se alojam na túnica íntima dos vasos sanguíneos, local onde sofrem processos oxidativos, dão origem ao processo de aterosclerose (figura 9).

Sendo assim, a deteção de hipertrigliceridémia está fortemente associada ao aumento de risco cardiovascular, devido ao aumento da produção hepática de VLDL para incorporar este excesso de TG, levando ao aumento de LDL, Quilomicrons e IDL em circulação.

A sua avaliação é muito importante para acompanhar e classificar as variadas dislipidemias e na avaliação de risco cardiovascular. [25]

Método: O procedimento baseia-se numa série de reações enzimáticas juntas (hidrólise, fosforilação e oxidação) gerando um composto cromogéneo que absorve a 660/880 nm. [26]

Lipoproteína (a)

A lipoproteína (a) é um complexo que apesar de similar ás LDL, tem na sua composição uma apolipoproteína (a). A estrutura molecular da apo (a) é semelhante à do plasminogénio (compete com a plasmina para o local de ligação á fibrina) uma proteína muito importante no processo de fibrinólise (dissolução de coágulos). Assim possui um risco aterogénico muito elevado, porque produz os mesmos efeitos das LDL, inibe a fibrinólise, está mais suscetível a dano oxidativo, apresenta grande capacidade de ligação ao endotélio dos vasos e mobilização de macrófagos que dão origem á formação de “*foam cells*”. [27]

A determinação deste analito, é realizado num laboratório externo.

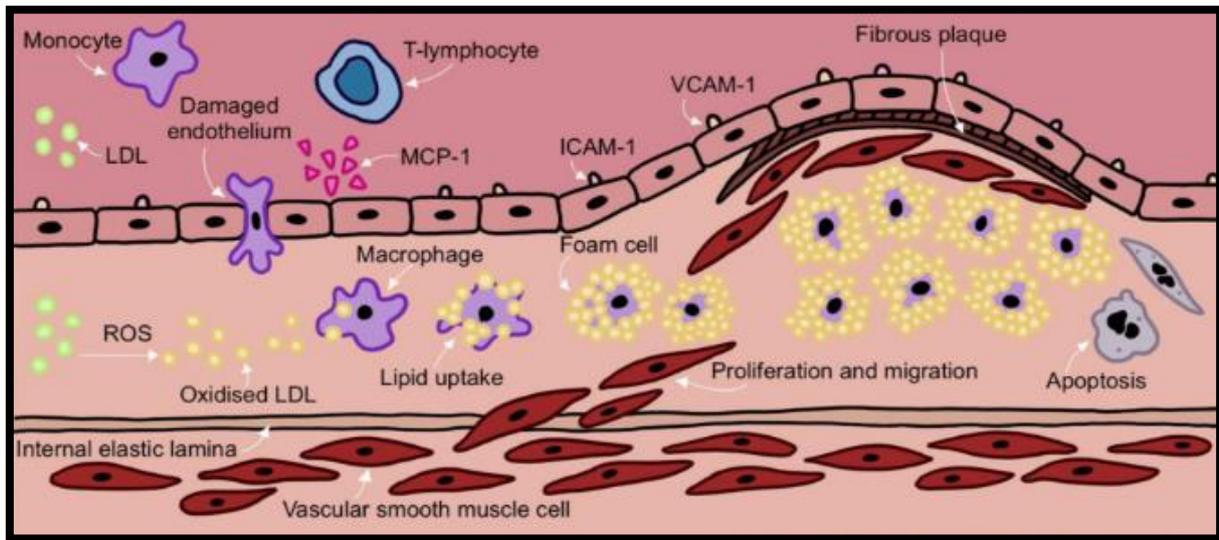


Figura 9 - Mecanismo da aterosclerose. Fonte: [28]

Parâmetros não lipídicos

CK

A enzima creatinoquinase (CK) é uma enzima que se encontra principalmente no músculo esquelético, cardíaco e tecido cerebral. Possui 3 isoenzimas (CK-BB, CK-MB E CK-MM), a mais específica e utilizada como biomarcador de lesão cardíaca é a CK-MB, isto porque a CK-BB é encontrada maioritariamente a nível cerebral e a CK-MM a nível do músculo-esquelético.

É utilizada para diagnosticar o enfarte de miocárdio, atinge um pico de concentração entre 24 a 36 horas após o *onset* da angina do peito e dependendo da extensão da lesão, pode chegar a valores 10 vezes superiores a valores normais. Porém pode estar aumentado em muitas outras situações, como por exemplo, exercício físico intenso.

Método: A CK catalisa reversivelmente a transferência de um grupo fosfato da creatina fosfato para a adenosina difosfato (ADP) originando creatina e adenosina trifosfato (ATP). Este ATP é usado para produzir glucose-6-fosfato e ADP, ao reagir com glucose. Esta glucose-6-fosfato, sofre depois uma oxidação e simultaneamente o NADP é reduzido a NADPH. Esta formação de NADPH, aumenta a absorvância a 340/660 nm. [29]

hsPCR

A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda positiva que funciona como marcador de inflamação sistémica, aumentando os seus valores em diversos tipos de lesão ou infeção. A

medição de PCR de alta sensibilidade, permite a deteção de concentrações séricas de PCR em níveis muito baixos não detetados por metodologias convencionais.

A hsPCR têm sido um biomarcador muito estudado para deteção e previsão de risco cardiovascular e enfarte de miocárdio. Isto porque foi provado que estava presente ativamente no processo aterogénico, além da deteção de inflamação, e que se detetava PCR em quantidade muito baixas, após lesões no miocárdio.

Porém como o seu aumento não é específico, deve ser sempre realizado juntamente com outros biomarcadores e tendo em conta a história clínica do paciente.[30]

Método: É utilizado um método imunológico, baseado na turbidimetria, em que há formação de imunocomplexos com o PCR em solução, originando um desvio da luz similar ao seu tamanho, forma e concentração, a redução da luz incidente é proporcional á concentração de PCR na amostra. [31]

Diagnóstico e controlo da Diabetes

Glucose

A glicose é um tipo de carbohidrato, um monossacarídeo, principal responsável pela energia e nutrição das células do organismo. É obtida pelo consumo de hidrato de carbono, e a sua concentração em circulação é controlada por 2 hormonas: Insulina e Glucagina.

Em situação pós-pandrial, a glicose resultante da digestão alimentar é direcionada para as células do corpo e para o fígado, onde é transformada em glicogénio e pentoses-fosfato que são armazenadas no tecido adiposo. Em jejum, os níveis sanguíneos são controlados pelo fígado, mantendo a sua concentração dentro dos valores normais, ativando vias como a gliconeogénese e glicogenólise para gerar aumentos de glucose (figura 10).

Hiperglicémia está maioritariamente associada a uma insuficiência (quantidade ou eficácia) da insulina, nomeadamente na *Diabetes Mellitus*. Patologia que se caracteriza por uma subida anormal da glicemia no sangue, muitas vezes ultrapassando o limiar renal e originando glicosúria. É recomendado para diagnóstico da diabetes e acompanhamento da terapia, bem como noutras alterações do metabolismo dos hidratos de carbono como por exemplo gestação, hepatites e pancreatites.

Situações de hipoglicémia está associado a defeitos enzimáticos congénitos, ingestão de álcool e disfunção hepática, insulinas, septicémias, insuficiência renal crónica entre outros. [32][33]

O diagnóstico de diabetes é realizado com uma medição de glicémia em jejum ≥ 126 mg/dl ou com presença de sintomas clássicos e uma glicemia ocasional ≥ 200 mg/dl. O diagnóstico de diabetes numa pessoa assintomática não deve ser realizado na base de um único valor anormal de glicemia de jejum, deve ser repetido cerca de 15 dias depois em nova amostra. [34]

Prova de tolerância á glucose oral (PTGO)

Segundo as normas da DGS, a PTGO pode servir para diagnosticar diabetes, usando uma colheita em jejum e outra 2 horas após a ingestão de 75 g de glucose. Valores superiores a 200 mg/dl, diagnosticam o paciente como diabético.

Em grávidas, é obrigatória a realização de uma PTGO, com colheita em jejum, 1 hora depois e 2 horas depois. Valores em jejum acima de 92 mg/dl, superiores a 180 mg/dl após 1 hora ou 153 mg/dl após 2 horas, realizam o diagnóstico de diabetes gestacional. [34]

Hemoglobina Glicada – HbA1c

A hemoglobina glicada forma-se na reação irreversível entre a glicose e a hemoglobina (glicolisação). Num não-diabético, pode existir até cerca de 6,5 % da HbA1c, acima deste valor temos uma possível situação de diabetes (tem de ser confirmado com nova amostra após 15 dias) ou uma necessidade de revisão da medicação em diabéticos acompanhados. Este valor indica uma média ponderada entre 60 a 90 dias (tempo médio do eritrócito é 120 dias), assim é muito útil para avaliar o controlo da glicémia a médio e longo prazo. [34]

A HbA1c é medida num analisador automático, usando a metodologia HPLC (*High performance liquid chromatography*) com troca iónica, separando as variantes da hemoglobina pela sua carga e realizando depois o cálculo da percentagem.

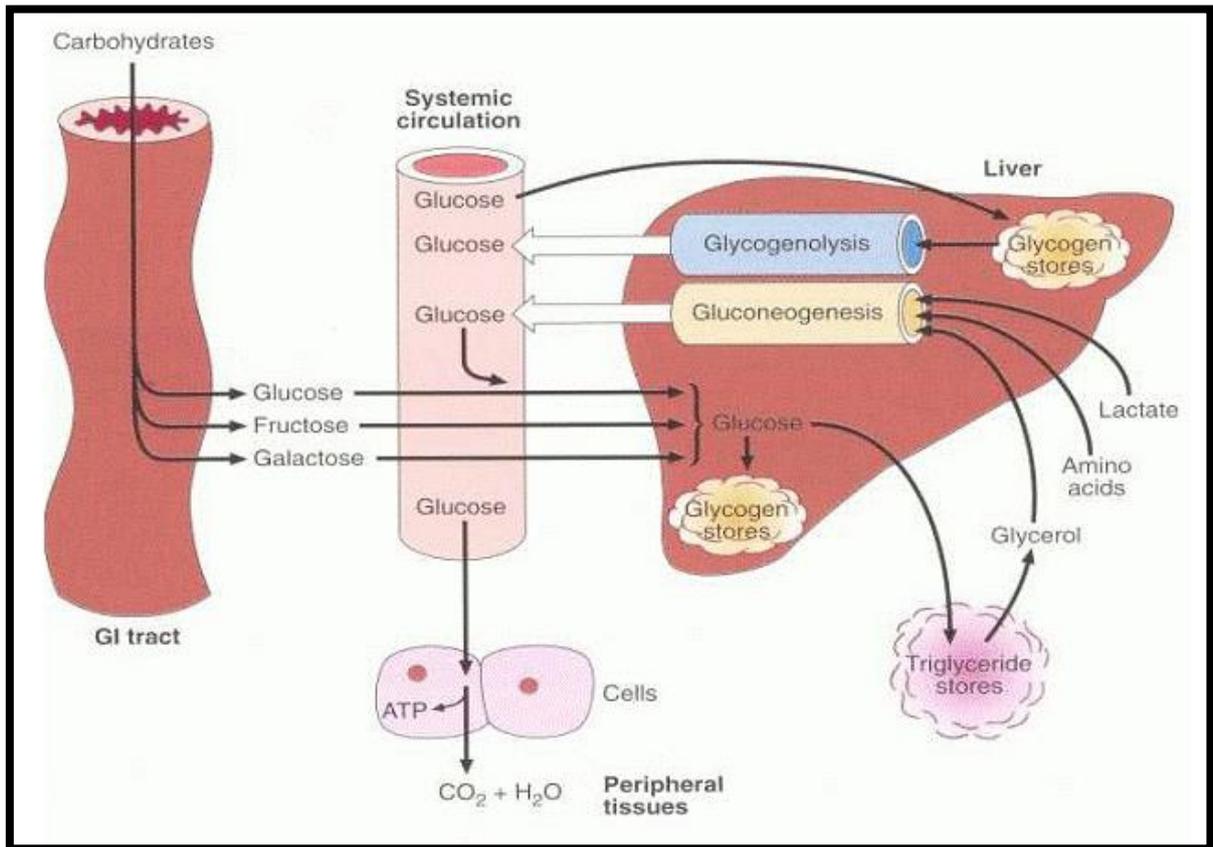


Figura 10 - Metabolismo dos hidratos de carbono

Casos Clínicos

Caso Clínico I – LLC

Introdução

A leucemia linfóide crónica é um dos tipos de leucemia mais frequentes, tendo maior incidência em pacientes que se encontram entre os 60 e 80 anos de idade, uma vez que se trata de uma condição que pode apresentar um prognóstico benigno, o diagnóstico maior parte das vezes é realizado em idades mais tardias e normalmente, em procedimentos de rotina. [2]

Esta leucemia, caracteriza-se por uma hiperplasia de linfócitos B fenotipicamente característicos, na medula óssea e a sua acumulação no sangue periférico, medula óssea, nódulos linfáticos e outros tecidos. [2]

Apresenta alguns sintomas e sinais não específicos e mais típicos de anemia, como fadiga, fraqueza e perda ponderal. Pode surgir também linfadenopatia (aumento dos nódulos linfóides devido á acumulação de linfócitos) e esta surge normalmente de forma discreta. Hepato e esplenomegalia, podem surgir também devido á infiltração e acumulação nestes tecidos por linfócitos (mais comum em estádios mais tardios da doença). Devido á

hipogamaglobulinemia, a imunossupressão pode surgir como um fator a ter em conta, levando a uma disfunção do sistema imunitário, surgindo recorrentes infecções bacterianas e virais. [35]

Descrição do caso

Uma utente do sexo feminino de 72 anos apresentou-se para realização de análises clínicas, num painel de rotina, sem ter histórico de análises realizadas no laboratório. No momento da colheita, relatou alguns sintomas, tais como, alguma fadiga a realizar tarefas simples do quotidiano e alguns casos de fraqueza, bem como alguns episódios de sudorese noturna.

Foi realizado o hemograma, que apresentou resultados dentro dos valores de referência em todos os parâmetros do eritrograma (figura 11).

Porém no leucograma (figura 12), surgiram resultados anormais, nomeadamente, uma acentuada leucocitose e uma linfocitose. Os restantes elementos do leucograma, bem como, as plaquetas apresentavam valores normais.

A nível da análise bioquímica da utente (figura 13), foram realizados alguns biomarcadores que não demonstraram qualquer alteração no funcionamento renal e um equilíbrio eletrolítico normal. Foi também realizado, uma avaliação de triglicéridos e glicose, bem como hemoglobina glicada, aqui surge uma hipertrigliceridemia e uma ligeira hipercolesterolemia.

Perante a avaliação destes resultados foi realizado um esfregaço de sangue periférico (figura 14) para confirmação do resultado obtido pelo aparelho, bem como avaliação morfológica das células presentes no sangue periférico.

Neste esfregaço foi observado um intenso predomínio de células (linfócitos), pequenas, monomórficas e com uma relação núcleo/citoplasma aumentada. Foram também observadas Manchas de Gumprecht.

Eritrograma			
Eritrócitos	4.2	x10¹²/L	3.8 - 5.8
Hemoglobina	13.2	g/dL	11.5 - 16.5
Hematócrito	38.6	%	37.0 - 47.0
V.G.M.	92.0	fL	83.0 - 97.0
H.G.M.	31.4	pg	27.0 - 32.0
C.M.H.G.	34.1	g/dL	32.0 - 36.0
R.D.W.	13.1	%	< 14.9

Figura 11 - Eritrograma

Leucograma			
Contagem de leucócitos	30.50	x10 ⁹ /L	4.00 - 11.00
Neutrófilos	17.3	% 5.3 x10 ⁹ /L	2.1 - 7.6
Eosinófilos	0.7	% 0.2 x10 ⁹ /L	< 0.2
Basófilos	0.8	% 0.2 x10 ⁹ /L	< 0.2
Linfócitos	77.1	% 23.5 x10 ⁹ /L	1.0 - 4.2
Monócitos	4.1	% 1.3 x10 ⁹ /L	0.1 - 1.2
Plaquetas			
Plaquetas	278	x 10 ³ /μL	150 - 380
MPV	8		

Figura 12 - Leucograma e Plaquetas, evidenciando leucocitose e linfocitose.

BIOQUÍMICA			
Glicose	111	mg/dL	74 - 106
Hemoglobina Glicada A1c (IFCC)	46	mmol/mol	19 - 48
Hemoglobina Glicada A1c (DCCT)	6.4	%	3.9 - 6.5
Creatinina	1.1	mg/dL	0.7 - 1.1
Ácido úrico	5.8	mg/dL	2.6 - 6.0
Colesterol total	217	mg/dL	< 190
Triglicéridos	371	mg/dL	< 150
Ionograma sérico			
Sódio	141	mEq/L	135 - 148
Potássio	5.0	mEq/L	3.5 - 5.3
Cloro	102	mEq/L	98 - 109
TGO/AST	26	ug/L	< 31
TGP/ALT	38	ug/L	< 34
Gama-glutamil transferase (GGT)	23	ug/L	< 38
BIOQUÍMICA URINA			
Albuminúria	1.77	mg/L	< 2.00

Figura 13 – Bioquímica.

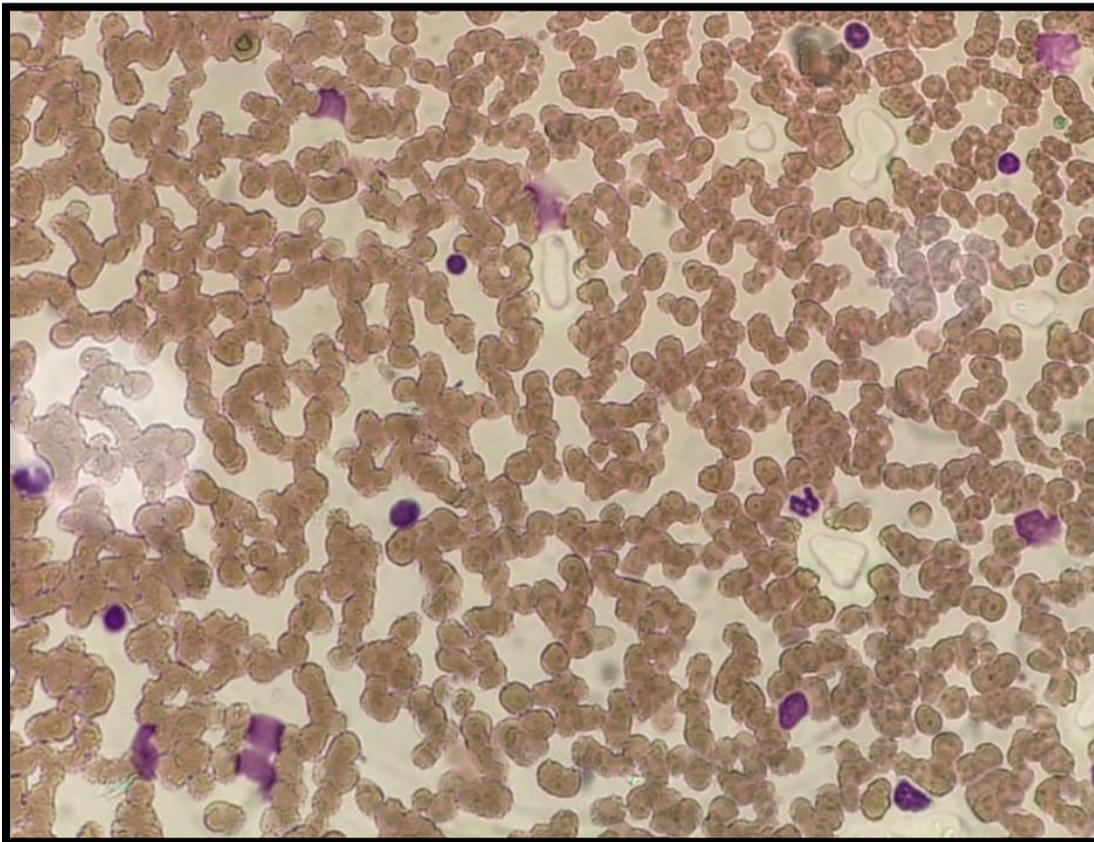


Figura 14 - Esfregaço de sangue periférico.

Discussão

A utente surgiu no laboratório para realizar um painel analítico de rotina, após algumas queixas não específicas, neste caso, fadiga, fraqueza e sudorese noturna.

A primeira hipótese colocada, foi a possibilidade de existência de uma anemia, tal hipótese, foi descartada tendo em base os resultados do eritrograma, porém no leucograma surgem evidências de uma leucocitose e linfocitose acentuadas, o que rapidamente altera a hipótese de diagnóstico para uma possível leucemia.

Para proceder á confirmação dos resultados obtidos pelo método automatizado e avaliação da morfologia celular do sangue periférico, foi realizado um esfregaço, que evidenciou uma supremacia de células, com morfologia típica de linfócitos, pequenas, monomórficas com uma relação núcleo/citoplasma aumentada e sem nucléolos visíveis. Tal observação confirmou a presença de uma leucemia da linhagem linfoide. Foram visualizadas também, múltiplas manchas de Gumprecht, achado característico de uma LLC.

O diagnóstico de uma LLC, segundo a OMS, requer a presença de ≥ 5000 Linfócitos B/ μl no sangue periférico numa duração não inferior a 3 meses e confirmação por imunofenotipagem da clonicidade dos linfócitos B em circulação. A nível do esfregaço periférico é muito comum encontrar linfócitos maduros e pequenos com relação núcleo/citoplasma elevada, sem nucléolos evidentes e cromatina parcialmente agregada, as manchas de Gumprecht são também uma visualização muito evidente deste tipo de patologia. [36]

Para efeitos de prognóstico e avaliação de estratégias terapêuticas a seguir, os pacientes são avaliados por um sistema de classificação de estadios de Rai ou Binet. Porém, devido aos progressos científicos no tratamento e diagnóstico destas patologias, estes sistemas de classificação tornam-se insuficientes para definir estratégias. [37]

Tendo em conta, os valores analíticos e exame físico da utente, esta LLC estaria num estadio de baixo risco e com um prognóstico favorável sem necessidade de tratamento.

Conclusão

Este caso relata uma possível Leucemia Linfóide Crónica (LLC), descoberta num contexto de laboratório externo e em análises de rotina. Para confirmação do diagnóstico, estudos de imunofenotipagem, não realizados pelo laboratório, teriam de ser realizados.

Caso Clínico 2 – LMA

Introdução

As leucemias são um grupo de patologias que se distinguem pela acumulação de células precursoras da linhagem leucocitária tanto na medula óssea como em circulação no sangue periférico. [2]

Frequentemente, as leucemias são devido a anormalidades genéticas que causam problemas na hematopoiese, seja em mutações em genes isolados ou a nível estrutural dos cromossomas, mas também pode resultar de uma anterior quimioterapia ou exposição a químicos cancerígenos.[38] Existem diversos tipos de leucemia, podem ser do tipo crónico ou agudo, dentro destas ainda se pode dividir por linhagens, mieloide ou linfóide, e depois surgem diversos outros subtipos baseados na análise citogenética e molecular das células. [39]

A LMA, é a forma mais comum de leucemia aguda em adultos, sendo a idade média, 65 anos, é caracterizada por se traduzir numa anemia, normalmente, normocrómica e normocítica, acompanhado por trombocitopenia e com uma evidente leucocitose, na observação do

esfregaço de sangue periférico, é possível observar um número variável de células precursoras da linhagem mieloide, mais tipicamente blastos. Estes blastos, seja no sangue periférico ou na medula óssea, são avaliados pela sua morfologia, imunofenotipagem e análise molecular, para poder confirmar o diagnóstico, caracterização do subtipo da leucemia, avaliação de prognóstico. [2]

Descrição

Um utente do sexo masculino, 69 anos de idade, apresentou-se no laboratório para realizar análises de caráter rotineiro e verificação da sua situação diabética, medicamente controlada. No momento da colheita, mencionou a presença de alguma dor abdominal, mau estar generalizado com perda de apetite e alguns episódios febris. No exame físico, levado a cabo, verificou-se também uma perda ponderal do utente.

Foi realizado um hemograma (figura 15), sendo logo denotado uma anemia normocrômica e normocítica e uma manifesta hiperleucocitose, acompanhada por uma destacada trombocitopenia, apenas 14×10^3 plaquetas. Importante também relevar a elevada velocidade de sedimentação. Devido a estes valores foi realizado um esfregaço de sangue periférico. De referir, que na figura não é apresentada a fórmula leucocitária, devido á enorme disparidade dos valores e presença de células imaturas.

No painel bioquímico (figura 16), surge apenas em destaque a LDH e a PCR que se encontram elevadas, com a velocidade de sedimentação também aumentada. Todos os restantes parâmetros analisados encontram-se dentro dos valores de referência. Na endocrinologia (figura 17) apenas foi detetado um deficit moderado de vitamina D.

Na realização e observação do sangue periférico (figura 18) foi observado um destacado predomínio de células com características de imaturidade da série monocítica, provavelmente promonócito e monoblastos, mas seriam necessários estudos de imunofenotipagem e histoquímicos para a sua caracterização. Não se observou qualquer tipo de aglutinação de plaquetas ou macroplaquetas.

	Resultado / Unidades	Valores de Referência
HEMATOLOGIA		
Hemograma		
Eritrograma		
Eritrócitos	2.4 x10 ¹² /L	4.5 - 6.5
Hemoglobina	7.8 g/dL	13.0 - 18.0
Hematócrito	23.9 %	40.0 - 54.0
V.G.M.	99.0 fL	83.0 - 97.0
H.G.M.	32.2 pg	27.0 - 32.0
C.M.H.G.	32.7 g/dL	32.0 - 36.0
R.D.W.	13.3 %	< 14.9
Leucograma		
Contagem de leucócitos	73.50 x10 ⁹ /L	4.00 - 11.00
Plaquetas		
Plaquetas	13 x 10 ³ /μL	150 - 340
MPV	8	
Observações	Predomínio de células com características de imaturidade da série monocítica (promonócitos?monoblastos?). Sugerem-se estudos histoquímicos, citogenéticos e/ou imunofenotipagem. Não se observaram plaquetas aglutinadas.	
Velocidade de Sedimentação		
VS à 1ª hora	126 mm/hora	< 15

Figura 15 – Hemograma.

Ácido úrico	7.7 mg/dL	3.5 - 7.2
Colesterol total	120 mg/dL	< 190
Colesterol das HDL	29 mg/dL	Aconselhável >60
Índice Aterogénico	4.14	< 5.00
Colesterol das LDL	78 mg/dL	< 100
Triglicéridos	67 mg/dL	< 150
Ionograma sérico		
Sódio	145 mEq/L	135 - 148
Potássio	4.3 mEq/L	3.5 - 5.3
Cloro	106 mEq/L	98 - 109
Cálcio	8.2 mg/dL	8.8 - 10.6
Magnésio	2.3 mg/dL	1.8 - 2.6
Proteína C Reactiva (Ultrasensível)	13.65 mg/dL	< 0.10 Novas
Creatina Quinase (CK)	54 ug/L	< 171
Desidrogenase lática (LDH)	517 ug/L	< 248
TGO/AST	23 ug/L	< 35
TGP/ALT	22 ug/L	< 45
Gama-glutamil transferase (GGT)	36 ug/L	< 55
Fosfatase Alcalina	86 ug/L	50 - 130
Bilirrubina Total	0.47 mg/dL	0.30 - 1.20

Figura 16 - Bioquímica.

ENDOCRINOLOGIA			
25(OH) Vitamina D	21.9	ng/mL	
			Deficit severo: < 20 Deficit moderado: 20 - 29 Valores recomendados: 30 - 100 Valores tóxicos: > 100 Nota: Os níveis de Vitamina D apresentam importantes variações segundo a estação do ano. Os valores no Inverno podem ser 40-50% inferiores devido à menor exposição às radiações UV. Em pessoas com mais de 60 anos, os valores diminuem entre 15-30%
TSH	1.17	mUI/l	1.18
			População geral: 0.38 - 5.33 Grávidas (1ªT): 0.05 - 3.70 Grávidas (2ªT): 0.31 - 4.35 Grávidas (3ªT): 0.41 - 5.18
T3 Livre	3.60	pg/mL	4.05
T4 Livre	1.14	ng/dL	0.91
MARCADORES TUMORAIS			
PSA Total (Ag. Específico da Próstata)	0.66	ng/mL	0.72
		< 4.00	

Figura 17 - Endocrinologia.

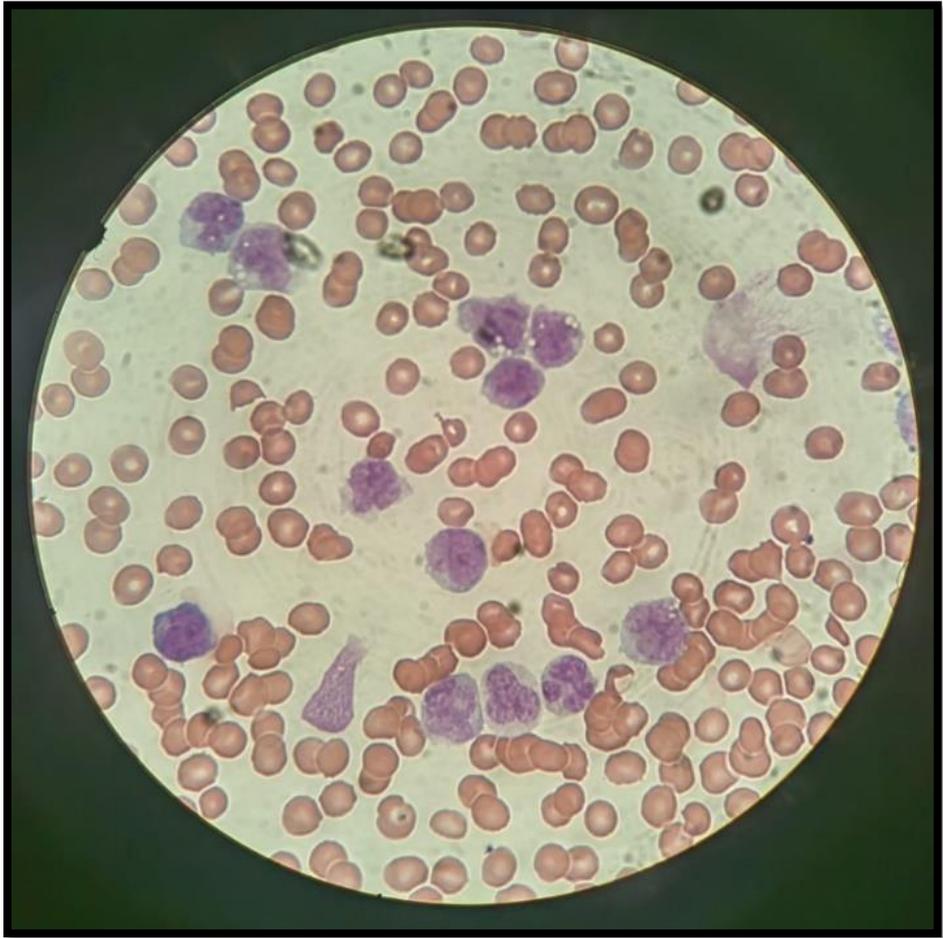


Figura 18 - Observação ao microscópio ótico 100x.

Discussão

O utente foi ao laboratório para realizar análises de rotina, no momento revelou sentir dores abdominais, mau estar generalizado e alguns episódios febris, no exame físico foi denotado perda ponderal no utente, é um painel sintomático pouco específico.

Foi realizado um hemograma, que pelos resultados apresentados, indicou a presença de uma anemia normocrómica e normocítica acompanhada por uma intensa trombocitopenia e uma elevada hiperleucocitose, parâmetros hematológicos que são bastante indicativos de uma possível leucemia.

No painel bioquímico e endocrinológico realizado, os marcadores inflamatórios e de dano celular PCR e LDH estavam elevados, todos os restantes parâmetros estavam dentro dos valores de referência.

Perante estes valores, foi realizado um esfregaço de sangue periférico, a observação de um predomínio de células imaturas da série monocítica, promonócitos e monoblastos e confirmação da trombocitopenia, lança um diagnóstico sugestivo de leucemia mieloide aguda. Pela aparente morfologia de blastos observada, poderíamos supor tratar-se de uma leucemia monocítica aguda, LMA- 5. [39]

De acordo com os atuais critérios de classificação das LMA pela OMS (2016), os promonócitos também são contabilizados como blastos e a leucemia aguda é definida quando a percentagem de blastos (ou blastos equivalentes) for superior a 20% de total das células nucleadas em sangue periférico ou aspirado medular. [39]

Para confirmação do diagnóstico e caracterização do subtipo da LMA, teriam de ser realizados posteriormente estudos citoquímicos e de imunofenotipagem dos blastos presentes.

Neste caso, sendo um paciente com 69 anos e com diabetes, e apresentando uma leucocitose acima dos $50 \times 10^9/L$, o prognóstico é pouco favorável e o utente deve ser encaminhado de imediato para um serviço especializado de hematologia, para confirmação de diagnóstico e definição de terapêutica a seguir.

Conclusão

Este caso relata uma possível Leucemia Monocítica Aguda (LMA-5), descoberta num contexto de laboratório externo e em análises de rotina, com queixas leves e inespecíficas do utente.

Para confirmação do diagnóstico, estudos de imunofenotipagem e citoquímicos, bem como moleculares não realizados pelo laboratório, teriam de ser realizados.

Caso Clínico 3- CMV

Introdução

O Citomegalovírus (CMV) é um membro da família Herpesviridae. A infecção por este vírus ocorre por contacto com fluidos biológicos (saliva, urina, leite materno, transfusões, esperma, entre outros) e infeta maioritariamente leucócitos e células endoteliais. A presença de imunidade não garante proteção, uma vez que o vírus pode permanecer latente sofrendo periódicas reativações ou nova infecção por novas estirpes. Esta infecção, num indivíduo imunocompetente, normalmente apresenta um perfil assintomático, podendo causar episódios febris, fadigas, inchaço nas glândulas e alterações hepáticas, mas geralmente complicações surgem apenas em indivíduos imunocomprometidos e em recém-nascidos, podendo causar surdez do recém-nascido, atrasos psicomotores, calcificações intracerebrais e anemias.[40][41]

Infeções com CMV durante a gravidez, podem não ter qualquer efeito no feto (90 a 80%), mas também podem ter efeitos nefastos (10 a 20%), levando em casos extremos até à morte intrauterina. As infeções no primeiro semestre, são especialmente perigosas, pela maximização da exposição fetal ao vírus. O rastreio de citomegalovirus não está incluso no programa analítico de acompanhamento da gravidez de baixo risco, uma vez que não existe um tratamento adequado para a primoinfecção em gravidez e existe possibilidade de reinfeção em mulheres seropositivas, sendo mais utilizado em consultas de pré- concepção onde em caso de infecção pode se suspender as intenções de gravidez, até haver seroconversão da mesma. Se ocorrer primoinfecção no primeiro trimestre pode mesmo ser sugerido a interrupção medicamente assistida da mesma. [40][42]

Descrição do caso

Uma utente com 35 anos, que se deslocou ao laboratório para realizar análises que lhe foram pedidas numa clínica de fertilidade, onde estava a ser acompanhada tendo em vista engravidar.

Foi realizado um hemograma (figura 19) que nos indica para uma ligeira linfocitose, estando todos os restantes parâmetros dentro dos valores de referência.

Executou-se um painel bioquímico (figura 20) que demonstrou um aumento das transaminases, e uma ferritina ligeiramente elevada.

As análises de endocrinologia, virologia e serologia (figuras 21 e 23) também não demonstraram alterações pertinentes para este caso.

Nas análises imunológicas, típicas de um painel analítico de uma consulta de pré- concepção, foram analisados anticorpos para os vírus que mais causam infecções pré-natais (rubéola, toxoplasma e citomegalovirus). A utente surge como seropositivo para a rubéola e seropositiva (IgG em *borderline* para o CMV, porém surge com um valor positivo de IgM para o CMV, foi realizada uma repetição depois de nova centrifugação (descartar a possibilidade de reação inespecífica) e confirmado este resultado após uma nova colheita.

	Resultado / Unidades		Valores de Referência
HEMATOLOGIA			
Hemograma			
Eritrograma			
Eritrócitos	4.5	x10 ¹² /L	3.8 - 5.8
Hemoglobina	14.0	g/dL	11.5 - 16.5
Hematócrito	40.7	%	37.0 - 47.0
V.G.M.	91.0	fL	83.0 - 97.0
H.G.M.	31.3	pg	27.0 - 32.0
C.M.H.G.	34.3	g/dL	32.0 - 36.0
R.D.W.	12.6	%	< 14.9
Leucograma			
Contagem de leucócitos	9.20	x10 ⁹ /L	4.00 - 11.00
Neutrófilos	40.6 %	3.7 x10 ⁹ /L	2.1 - 7.6
Eosinófilos	1.4 %	0.1 x10 ⁹ /L	< 0.2
Basófilos	0.2 %	0.0 x10 ⁹ /L	< 0.2
Linfócitos	49.7 %	4.6 x10 ⁹ /L	1.0 - 4.2
Monócitos	8.1 %	0.7 x10 ⁹ /L	0.1 - 1.2
Plaquetas			
Plaquetas	194	x 10 ³ /μL	150 - 380
MPV	9		

Figura 19 - Hemograma

BIOQUÍMICA			
Glicose	81	mg/dL	74 - 106
Creatinina	0.7	mg/dL	0.7 - 1.1
Ácido úrico	4.7	mg/dL	2.6 - 6.0
Ferritina	135	µg/L	10 - 120
TGO/AST	85	ug/L	< 31
TGP/ALT	114	ug/L	< 34

Figura 20 - Bioquímica.

IMUNOLOGIA			
Toxoplasmose			
Ac. anti-Toxoplasmose (IgG)	0.00	UI/mL	negativo: < 7.5 borderline: 7.5 - 10.5 positivo: > 10.5
Ac. anti-Toxoplasmose (IgM)	0.17	Índice	Positivo: > 1.00 Indeterminado: 0.80 - 1.00 Negativo: < 0.80
Ácido Fólico Sérico	8.7	ng/mL	3.1 - 19.9
Serologia da Rubéola (IgG/IgM)			
Ac. Anti-Rubéola (IgG)	28.1	UI/mL	Negativo: < 10 Borderline: 10 - 15 Positivo: > 15
Ac. Anti-Rubéola (IgM)	0.9	AU/mL	Negativo: < 10 Borderline: 10 - 15 Positivo: > 15
Ac. Anti-Citomegalovirus			
Ac. Anti-CMV (IgG)	6.00	UA/mL	Negativo: < 4 Borderline: 4 - 6 Positivo: > 6
Ac Anti-CMV (IgM)	2.06	Índice	Resultado repetido e confirmado em 2ª colheita. Sugere-se execução da prova da Avidéz da IgG Negativo: < 0.70 Borderline: 0.70 - 0.90 Positivo: > 0.90
Anticorpos anti-Tiroideus			
anti-Tg	0.0	IU/mL	< 4.0
anti-TPO	4.1	IU/mL	< 9.0

Figura 21 - Painel Imunológico.

ENDOCRINOLOGIA			
25(OH) Vitamina D	29.1	ng/mL	
			Deficit severo: < 20 Deficit moderado: 20 - 29 Valores recomendados: 30 - 100 Valores tóxicos: > 100
			Nota: Os níveis de Vitamina D apresentam importantes variações segundo a estação do ano. Os valores no Inverno podem ser 40-50% inferiores devido à menor exposição às radiações UV. Em pessoas com mais de 60 anos, os valores diminuem entre 15-30%
TSH	2.12	mUI/l	1.85
			População geral: 0.38 - 5.33 Grávidas (1ªT): 0.05 - 3.70 Grávidas (2ªT): 0.31 - 4.35 Grávidas (3ªT): 0.41 - 5.18
T4 Livre	0.82	ng/dL	0.61 - 1.12 1.02
SEROLOGIA			
V.D.R.L.	Negativo		
VIROLOGIA			
Ag. s da Hepatite B (AgHBs)	0.33 (Negativo)		Negativo < 1.00
Ac. Anti-HIV 1/2	0.30 (Negativo)		Negativo < 1.00

Figura 23 - Endocrinologia.

Discussão

Neste caso, tivemos uma utente que realizava acompanhamento numa clínica de fertilidade para engravidar e que se deslocou ao laboratório para realizar um painel analítico típico de uma consulta de preconceção e acompanhamento de gravidez de baixo risco, figura 24. [43]

Foi realizado um hemograma, que demonstrou apenas uma ligeira linfocitose, a nível bioquímico surge em destaque um aumento das transaminases e um aumento da ferritina, que podem indicar algum tipo de processo infeccioso e/ou inflamatório com dano hepatocelular. Todos os restantes parâmetros endocrinológicos, virológicos e serológicos estavam dentro dos valores de referência. No painel imunológico, foi detetada seropositividade IgG para a Rubéola e para o Citomegalovirus, este último em valor *borderline*, e foi verificada a presença de anticorpos IgM para o CMV, que podem ser indicativos de uma primoinfeção ativa. Estes valores foram reconfirmados após nova centrifugação, com o intuito de despistar qualquer reação inespecífica que possa ter ocorrida e com nova colheita requerida à utente.

Conjugando a ligeira linfocitose, com o aumento das transaminases e ferritina e o valor IgM positivo para o CMV, o diagnóstico mais sugestivo é de uma infeção ativa com citomegalovirus. Para confirmar este diagnóstico, é necessário recorrer a uma prova de avididade da IgM, esta aumenta com o tempo de contacto com o antigénio, um valor baixo é indicativo de uma

infecção recente, pois esta pode se manter em valores positivos por vários meses após a infecção primária. [44]

Se houver a confirmação de infecção, o recomendado seria a utente deixar a infecção sofrer seroconversão e só depois seguir com o planeamento da gravidez, evitando assim riscos para o feto.

1º Trimestre	
<13 semanas	
1. Citologia cervical - Conforme recomendações do Plano Nacional de Prevenção e Controlo das Doenças Oncológicas 2007-2010 para as mulheres não grávidas	
2. Tipagem ABO e fator Rh	8. Serologia Toxoplasmose - IgG e IgM (se desconhecido ou não imune em consulta preconcepcional)
3. Pesquisa de aglutininas irregulares (teste de Coombs indireto)	9. Ac VIH 1 e 2
4. Hemograma completo	10. AgHBs
5. Glicémia em jejum	11. Urocultura com eventual TSA
6. VDRL	
7. Serologia Rubéola - IgG e IgM (se desconhecido ou não imune em consulta preconcepcional)	
2º Trimestre	
18-20 semanas	
12. Serologia Rubéola (IgG e IgM, nas mulheres não imunes)	
24-28 semanas	
13. Hemograma completo	16. Pesquisa de aglutininas irregulares (teste de Coombs indireto)
14. PTGO c/ 75g (colheita às 0h, 1h e 2 horas)	
15. Serologia Toxoplasmose - IgG e IgM (não imunes)	
3º Trimestre	
32-34 Semanas	
17. Hemograma completo	20. Ac. VIH 1 e 2
18. VDRL	21. AgHBs (as grávidas não vacinadas e cujo rastreio foi negativo no 1º trimestre)
19. Serologia Toxoplasmose - IgG e IgM (nas mulheres não imunes)	
35-37 Semanas	
22. Colheita (1/3 externo da vagina e ano-retal) para pesquisa de <i>streptococcus</i> β hemolítico do grupo B	

Figura 24 - Painel analítico para acompanhamento de gravidez de baixo risco.

Fonte: Norma 37/2011 da Direção-Geral da Saúde

Conclusão

Este caso relata um possível caso de infecção aguda de citomegalovirus, numa utente com 35 anos que se encontrava numa clínica de fertilidade para engravidar. Seria uma situação de alto risco para o feto, caso a utente tivesse engravidado com primoinfecção de CMV, uma vez que infecções no primeiro semestre podem dar origem a infecções transmitidas verticalmente dando origem a malformações no feto, que podem levar até á morte intrauterina.

Caso Clínico 4 – Hemocromatose

Introdução

Hemocromatose é uma patologia associada a excesso de depósitos de ferro que podem causar problemas em vários órgãos como o coração, fígado, tireoide e pele. O excesso de ferro é depositado nas células como hemossiderina, isto acaba por levar a morte celular o que leva a problemas no órgão onde se encontra.

Hemocromatose hereditária é uma doença autossómica recessiva, ocorre com mutações no gene HFE, que causa um aumento na absorção de ferro mesmo com um consumo na dieta normal. As mutações mais comuns são a C282Y e a H63D.

Manifestações clínicas são muito dependentes dos órgãos afetados e da extensão da lesão, os pacientes normalmente são assintomáticos até idade adulta, o diagnóstico é complicado e normalmente tem de partir de uma suspeita, combinada com um histórico familiar e alguns sintomas. As mulheres podem apresentar sintomatologia mais tardiamente, devido á sua menstruação, em que há excreção de ferro.[45]

Descrição do caso

Utente de 76 anos, deslocou-se a um posto de colheita, para realizar análises prescritas pelo seu médico, no momento da colheita relatou alguma fadiga e algumas dores articulares.

Foi realizado um painel analítico extenso, como pode ser visto nas Figuras. Destaque apenas para um aumento da ferritina sérica.

Na análise genética, foi realizada uma pesquisa do gene da hemocromatose (HFE) do cromossoma 6.

HEMATOLOGIA			
Hemograma			
Eritrograma			
Eritrócitos	4.4	x10 ¹² /L	4.5 - 6.5
Hemoglobina	14.9	g/dL	13.0 - 18.0
Hematócrito	43.0	%	40.0 - 54.0
V.G.M.	97.0	fL	83.0 - 97.0
H.G.M.	33.6	pg	27.0 - 32.0
C.M.H.G.	34.6	g/dL	32.0 - 36.0
R.D.W.	10.9	%	< 14.9
Leucograma			
Contagem de leucócitos	5.20	x10 ⁹ /L	4.00 - 11.00
Neutrófilos	63.7	%	3.3 x10 ⁹ /L
Eosinófilos	3.8	%	0.2 x10 ⁹ /L
Basófilos	0.0	%	0.0 x10 ⁹ /L
Linfócitos	29.2	%	1.5 x10 ⁹ /L
Monócitos	3.3	%	0.2 x10 ⁹ /L
Plaquetas			
Plaquetas	215	x 10 ³ /μL	150 - 340
MPV	8		
Esfregaço de sangue periférico			
Observações	Não se observaram alterações citomorfológicas		
Reticulócitos	1.6	%	0.8 - 2.0
Velocidade de Sedimentação			
VS à 1ª hora	11	mm/hora	< 15
Tempo de Protrombina			
Tempo de Protrombina	15.0	segundos	
Tempo de controlo	13.9	segundos	
Taxa	86	%	
I.N.R.	1.08		
PTT-Tempo Parcial de Tromboplastina			
PTT - Tempo de controlo	27.2	segundos	
	28.4	segundos	

Figura 26 - Hemograma e Coagulação

BIOQUÍMICA			
Triglicéridos	203	mg/dL	< 150
Ionograma sérico			
Sódio	140	mEq/L	135 - 148
Potássio	4.8	mEq/L	3.5 - 5.3
Cloro	102	mEq/L	98 - 109
Cálcio	9.5	mg/dL	8.8 - 10.6
Fósforo	2.3	mg/dL	2.5 - 4.5
Magnésio	2.0	mg/dL	1.8 - 2.6
Proteína C Reactiva (Ultrasensível)	0.21	mg/dL	< 0.10
Novas unidades e valores de referência.			
Creatina Quinase (CK)	81	ug/L	< 171
Desidrogenase lática (LDH)	148	ug/L	< 248
TGO/AST	25	ug/L	< 35
TGP/ALT	26	ug/L	< 45
Gama-glutamil transferase (GGT)	35	ug/L	< 55
Fosfatase Alcalina	53	ug/L	50 - 130
Bilirrubina Total	0.49	mg/dL	0.30 - 1.20
Bilirrubina Directa	0.05	mg/dL	< 0.20

Figura 27 - Bioquímica.

BIOQUÍMICA			
Albuminemia	4.7	g/dL	3.5 - 5.2
Proteínas Totais	6.9	g/dL	6.6 - 8.3
Electroforese das Proteínas Séricas			
Proteínas Totais	6.9	g/dL	6.6 - 8.3
Albumina/Globulinas		1.72 g/dL	1.25 - 1.95
Albumina	63.2	%	55.8 - 66.1
Alfa 1-Globulina	4.1	%	2.9 - 4.9
Alfa 2-Globulina	8.4	%	7.1 - 11.8
Beta-Globulina	11.5	%	7.9 - 13.7
Gama-Globulinas	12.8	%	11.1 - 18.8
Ureia	45	mg/dL	17 - 43
Creatinina	1.6	mg/dL	0.8 - 1.4
Ácido úrico	5.7	mg/dL	3.5 - 7.2
Ferritina	557	µg/L	20 - 300
Ferro Total	111	µg/dL	70 - 180
Receptor Solúvel Transferrina	0.92	mg/L	0.76 - 1.76
Saturação Transferrina	33	%	20 - 50
Capacidade Total de Fixação do Ferro (TIBC)	339	µg/dL	250 - 450
Capacidade Fixação Ferro não Saturado (UIBC)	228	µg/dL	155 - 355
Ferro Total	111	µg/dL	70 - 180
Colesterol total	188	mg/dL	< 190
Colesterol das HDL	52	mg/dL	Aconselhável >60
Índice Aterogénico	3.62		< 5.00

Figura 28 - Bioquímica.

IMUNOLOGIA			
Ácido Fólico Sérico	7.8	ng/mL	3.1 - 19.9
Beta 2-Microglobulina	2.6	µg/mL	1.1 - 2.5
Anticorpos anti-Tiroglobulina anti-Tg	0.2	IU/mL	< 4.0
Anticorpos anti-TPO anti-TPO	1.5	IU/mL	< 9.0
ENDOCRINOLOGIA			
Tiroglobulina	12.15	ng/mL	3.68 - 64.15
Calcitonina	4.1	pg/mL	< 18.2
MARCADORES TUMORAIS			
Cyfra 21.1	2.39	ng/mL	< 3.30
Antígeno Carcino-Embrionário (CEA)	0.86	ng/mL	< 4.10
			Não fumadores < 3.8 Fumadores < 5.5 Patologias não malignas com valores aumentados: cirrose, outras hepatopatias, colite ulcerosa e polipos.
Alfa-Fetoproteína	2.53	IU/mL	< 6.00
CA 19.9	22.58	U/mL	< 35.00
CA 72.4	7.7	U/mL	< 8.2
			- Em doenças hepáticas ou tumores benignos do ovário, os valores podem estar elevados. - Nos tratamentos com anticorpos monoclonais podem-se obter valores falsamente aumentados ou diminuídos.
GENÉTICA			
Gene HFE (mutação C282y, H63d) Hemocromatose familiar			
Resultado	No estudo molecular do gene da hemocromatose (HFE), localizado no cromossoma 6, comprovou-se que o utente : -- NÃO É PORTADOR DA MUTAÇÃO C282Y -- É PORTADOR HETEROZIGOTO DA MUTAÇÃO H63D		

Figura 29 - Imunologia, Endocrinologia e Genética.

Discussão do caso

Um utente de 76 anos surgiu num posto de colheita, com uma prescrição médica atipicamente extensa e com algumas queixas de fadiga e dores articulares.

Depois da realização dos parâmetros hematológicos, bioquímicos, imunológicos e endocrinológicos, não houve alterações com significado clínico, exceto um aumento no nível da ferritina (557 µg/dl).

Na análise genética, a pesquisa ao gene da hemocromatose (HFE) alocado no cromossoma 6, o resultado detetado foi que o utente era portador heterozigótico da mutação H63D.

Dado que a hemocromatose hereditária, apresenta sintomas inespecíficos e muito subtis, é difícil ter uma suspeita definida, tal como neste caso, que praticamente todos os parâmetros analisados revelaram valores normais. A presença de uma ferritina elevada, devia guiar a nossa atenção para o ferro em jejum e saturação da transferrina, para avaliar se estava a existir sobrecarga de ferro, porém em mutações heterozigóticas do gene HFE isto é pouco comum.

Conclusão

Este caso clínico relata um caso de uma hemocromatose congénita do tipo I, por mutação heterozigótica H63D do gene HFE.

Caso clínico 5 – Lesão hepática induzida por fármacos

Introdução

O fígado humano é um dos órgãos mais suscetíveis a danos tóxicos do nosso organismo, uma vez que possui inúmeras funções de síntese no organismo, múltiplos complexos enzimáticos e recebe sangue provindo da veia porta-hepática, fazendo com que tudo o que foi absorvido por estômago e intestino passe pelo fígado antes de chegar a circulação, onde grande parte dos xenobióticos são conjugados para facilitar a sua excreção. Neste processo de metabolização, em passos intermediários geram-se normalmente metabolitos altamente reativos e tóxicos, que podem causar dano no hepatócito e stress oxidativo. Felizmente o fígado apresenta uma enorme capacidade regenerativa. [46]

O fígado pode apresentar um vasto leque de manifestações clínicas, passando por anormalidades na função hepática, mas sem sintomatologia ou lesão hepática aguda com icterícia ou com possibilidade de insuficiência hepática.

Apesar de todos os fármacos que são disponibilizados no mercado passarem por processos regulatórios extensos, sendo a toxicidade hepática um dos problemas que mais moléculas elimina na fase pré-clínica, estes ainda são das causas mais comuns de lesão hepática aguda. Esta lesão pode ser previsível, normalmente dose-dependente e com um decorrer de lesão controlado ou uma reação idiossincrática, ou seja, imprevisível e aguda. [47]

Estas lesões hepáticas induzidas por fármacos, podem surgir de 3 formas, lesões colestáticas, hepatocelulares ou mistas. Os idosos fazem parte dos grupos de risco, devido á cada vez maior prescrição de fármacos e uma capacidade metabólica diminuída. Quanto a fármacos, os antimicrobianos principalmente com polimedicação com AINE's são a causa mais comum de danos hepáticos. Também os antidepressivos, devido ao seu uso cada vez mais recorrente e usos recreativos levam também a situações mais comuns. O paracetamol sendo uma molécula sem necessidade de prescrição e amplamente utilizada pela população, aparece como uma problemática em ascensão. O uso de estatinas, suplementos alimentares, ervas medicinais e diuréticos também podem ter efeitos colaterais na função hepática. [47][48]

Descrição do caso

Utente com 75 anos foi ao laboratório para realizar um painel analítico de rotina, para avaliar o seu estado, pois estava de momento a realizar terapia com um antibiótico (não especificado).

Foi realizado então um hemograma (figura 31) onde se pode observar uma ligeira anemia, que já constava no histórico deste utente no laboratório.

Nas análises bioquímicas (figura 32), observa-se um aumento das transaminases (ALT e AST), da fosfatase alcalina (ALP) e também da gama-glutamil transferase (GGT), as bilirrubinas surgem em valores normais.

O utente realizou também o mesmo painel, 2 meses antes do início da terapêutica, altura em que todos estes valores estavam dentro dos valores de referência. Voltou a realizar análises 2 meses depois após resultados e todos os parâmetros regressaram a valores normais.

	Resultado / Unidades	Valores de Referência
HEMATOLOGIA		
Hemograma		
Eritrograma		
Eritrócitos	4.4 x10 ¹² /L	4.5 - 6.5
Hemoglobina	12.0 g/dL	13.0 - 18.0
Hematócrito	37.1 %	40.0 - 54.0
V.G.M.	85.0 fL	83.0 - 97.0
H.G.M.	27.5 pg	27.0 - 32.0
C.M.H.G.	32.5 g/dL	32.0 - 36.0
R.D.W.	12.5 %	< 14.9
Leucograma		
Contagem de leucócitos	5.90 x10 ⁹ /L	4.00 - 11.00
Neutrófilos	63.2 % 3.7 x10 ⁹ /L	2.1 - 7.6
Eosinófilos	4.4 % 0.3 x10 ⁹ /L	< 0.2
Basófilos	0.1 % 0.0 x10 ⁹ /L	< 0.2
Linfócitos	25.3 % 1.5 x10 ⁹ /L	1.0 - 4.2
Monócitos	7.0 % 0.4 x10 ⁹ /L	0.1 - 1.2
Plaquetas		
Plaquetas	217 x 10 ³ /μL	150 - 340
MPV	11	

Figura 31 - Hemograma

BIOQUÍMICA			
Glicose	133	mg/dL	74 - 106
Hemoglobina Glicada A1c (IFCC)	53	mmol/mol	19 - 48
Hemoglobina Glicada A1c (DCCT)	7.0	%	3.9 - 6.5
Creatinina	1.4	mg/dL	0.8 - 1.4
Colesterol total	131	mg/dL	< 190
Triglicéridos	78	mg/dL	< 150
Ionograma sérico			
Sódio	141	mEq/L	135 - 148
Potássio	3.8	mEq/L	3.5 - 5.3
Cloro	100	mEq/L	98 - 109
TGO/AST	61	ug/L	< 35
TGP/ALT	117	ug/L	< 45
Gama-glutamil transferase (GGT)	151	ug/L	< 55
	Resultado tecnicamente comprovado.		
Fosfatase Alcalina	281	ug/L	50 - 130
Bilirrubinas			
Bilirrubina Total	0.37	mg/dL	0.30 - 1.20
Bilirrubina Directa	0.06	mg/dL	< 0.20
Bilirrubina Indirecta	0.31	mg/dL	< 0.70

Figura 32 - Bioquímica.

Discussão do caso

O utente masculino com 75 anos foi ao laboratório realizar análises, no momento da colheita, informou que vinha fazer um controlo a uma terapêutica antibiótica que se encontrava a realizar. Realizou o mesmo painel 2 meses antes desta colheita e 2 meses depois apresentou valores dentro dos intervalos de referência. Importante denotar que o utente não revelou ter hábitos alcoólicos.

Segundo os resultados analíticos podemos, pelo aumento das transaminases, presumir que houve um dano hepatocelular e com o aumento da gama-glutamil transferase e fosfatase alcalina um certo dano colestático também, porém sem efeito nas funções hepáticas, podendo presumivelmente estar perante uma lesão hepática mista induzida por fármacos. [47]

Após o cessar da medicação (cerca de 2 meses depois) os valores de ALT, AST, ALP e GGT todos regressaram a valores normais, o que significa que houve um processo regenerativo e que a causa do dano terá sido o fármaco em utilização.

Conclusão

Este caso relata uma presumível lesão hepática mista induzida por fármacos, neste caso, um antibiótico não especificado. Ao fim de 2 meses após cessar a toma do mesmo, a lesão foi regenerada e todos os valores hepáticos regressaram a valores normais.

BIBLIOGRAFIA

1. Celkan, T.T.: What does a hemogram say to us?, (2020)
2. Hoffbrand, Victor. Moss, P.: Hoffbrands Essential Haematology, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15003161> <http://cid.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/cid/cir991> <http://www.scielo.cl/pdf/udecada/v15n26/art06.pdf> <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84861150233&partnerID=tZOtx3yI>, (2012)
3. Bula técnica DiaMed-ID: Card-ID “LISS/Coombs” – Teste de antiglobulina direto e indireto. B004014.
4. Bula técnica Card DiaClon ABO/D - Determinação dos grupos sanguíneos ABO com determinação dupla de RhD
5. Ng, V.L.: Prothrombin Time and Partial Thromboplastin Time Assay Considerations. Clin. Lab. Med. 29, 253–263 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.cll.2009.05.002>
6. Dorgalaleh, A., Favalaro, E.J., Bahraini, M., Rad, F.: Standardization of Prothrombin Time/International Normalized Ratio (PT/INR), (2021)
7. Cruvinel, W. de M., Mesquita Júnior, D., Araújo, J.A.P., Catelan, T.T.T., Souza, A.W.S. de, Silva, N.P. da, Andrade, L.E.C.: Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. Rev. Bras. Reumatol. 50, 434–447 (2010). <https://doi.org/10.1590/s0482-50042010000400008>
8. Fu, S., Wu, D., Jiang, W., Li, J., Long, J., Jia, C., Zhou, T.: Molecular biomarkers in drug-induced liver injury: Challenges and future perspectives. Front. Pharmacol. 10, (2020). <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01667>
9. Krimer, P.M.: Aspartate aminotransferase (AST). In: Clinical Veterinary Advisor: The Horse. pp. 908–909 (2011)
10. Beckman Coulter: ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALT) Intended Use, (2009)
11. Beckman Coulter: ALP. (2022)
12. Beckman Coulter: gamma-Glutamyltransferase (GGT). (2009)
13. Beckman Coulter: DBili Direct Bilirubin

14. Clinical Chemistry Abbott Architect: Total Bilirubin. 1–8 (2006)
15. Beckman Coulter: Albumin. (2009)
16. Beckman Coulter: Ammonia. (2009)
17. TJAN, H.L., TOBIAS, G.J., LEVIN, R., HOPPER, J.: Creatinine clearance in clinical medicine. *Calif. Med.* 98, 121–128 (1963)
18. Beckman Coulter: Creatinine
19. Beckman Coulter: UREA NITROGEN (BUN) (2012)
20. Beckman Coulter: Uric Acid. (2019)
21. Beckman Coulter: Microalbumin. (2009)
22. KAPLAN, L. A.; PESCE, A. J.; KAMIERCZAK, S.C.: *Clinical chemistry: theory, analysis, correlations.* (2003)
23. Beckman Coulter: CHOLESTEROL. (2011)
24. Beckman Coulter: HDL-CHOLESTEROL. (2009)
25. Chait, A., Ginsberg, H.N., Vaisar, T., Heinecke, J.W., Goldberg, I.J., Bornfeldt, K.E.: Remnants of the triglyceride-rich lipoproteins, diabetes, and cardiovascular disease. *Diabetes.* 69, 508–516 (2020). <https://doi.org/10.2337/dbi19-0007>
26. Beckman Coulter: Triglycerides
27. Leal, D.: Lipoproteína (a) - Um importante marcador de risco cardiovascular (2022)
28. Batty, M., Bennett, M.R., Yu, E.: The Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis, <https://www.mdpi.com/2073-4409/11/23/3843/htm>, (2022)
29. Beckman Coulter: Creatine kinase, (2007)
30. Silva, D., Pais De Lacerda, A.: High-sensitivity C-reactive protein as a biomarker of risk in coronary artery disease, (2012)
31. Beckman Coulter: CRP LATEX. (2009)
32. Beckman Coulter: Glucose
33. CARBOHYDRATE METABOLISM. In: Janson LW, Tischler ME. eds. *The Big Picture: Medical Biochemistry.* McGraw Hill; 2018. Accessed September 05, 2023.

<https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2355§ionid=185844537>,

<https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=185844537&bookid=2355#185844586>

34. Direção-Geral da Saúde: Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus - Portal das Normas Clínicas, <https://normas.dgs.min-saude.pt/2011/01/14/diagnostico-e-classificacao-da-diabetes-mellitus/>
35. Ashkan Emadi, Jennie York Law: Leucemia linfocítica crônica (LLC) - Hematologia e oncologia - Manuais MSD edição para profissionais (2022)
36. Rawstron, A.C., Bennett, F.L., O'connor, S.J.M., Kwok, M., Fenton, J.A.L., Phil, D., Plummer, M., De Tute, R., Owen, R.G., Richards, S.J., Jack, A.S., Hillmen, P.: Monoclonal B-Cell Lymphocytosis and Chronic Lymphocytic Leukemia *Abstract. N Engl J Med.* 359, 575–83 (2008)
37. Hallek, M., Al-Sawaf, O.: Chronic lymphocytic leukemia: 2022 update on diagnostic and therapeutic procedures. *Am. J. Hematol.* 96, 1679–1705 (2021).
<https://doi.org/10.1002/AJH.26367>
38. Pelcovits, A., Niroula, R.: Acute Myeloid Leukemia: A Review. *Rhode Isl. Med. Soc.* 3 (2020)
39. Jung, J., Cho, B.S., Kim, H.J., Han, E., Jang, W., Han, K., Lee, J.W., Chung, N.G., Cho, B., Kim, M., Kim, Y.: Reclassification of acute myeloid leukemia according to the 2016 who classification. *Ann. Lab. Med.* 39, 311–316 (2019).
<https://doi.org/10.3343/alm.2019.39.3.311>
40. Bahçeci, İ., Karaca, E., Duran, Ö.F., Aksoy, D., İbik, Y.E., Kırıcı, U.B.: Bölgemizde Doğurganlık Çağındaki Kadınlarda Toxoplasma, Rubella ve Sitomegalovirüs Seroprevalansı. *Turkiye parazitolojii Derg.* 47, 11–15 (2022).
<https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2022.07379>
41. Centre of Disease Control and Prevention: About cytomegalovirus and congenital CMV infection, <https://www.cdc.gov/cmV/overview.html> (2020)
42. Carlson, A., Norwitz, E.R., Stiller, R.J.: Cytomegalovirus infection in pregnancy: should all women be screened? *Rev. Obstet. Gynecol.* 3, 172–9 (2010).
<https://doi.org/10.3909/riog0131>

43. George, F.: Norma 37/2011 | Direção-Geral da Saúde
44. Bonalumi, S., Trapanese, A., Santamaria, A., D'Emidio, L., Mobili, L.: Cytomegalovirus infection in pregnancy: review of the literature. *J. Prenat. Med.* 5, 1–8 (2011)
45. Beutler, E., Lee, P.: Hemochromatosis. In: *Molecular Diagnostics: Techniques and Applications for the Clinical Laboratory*. pp. 177–190. StatPearls Publishing (2009)
46. Clemens, M.M., McGill, M.R., Apte, U.: Mechanisms and biomarkers of liver regeneration after drug-induced liver injury. In: *Advances in Pharmacology*. pp. 241–262. NIH Public Access (2019)
47. Katarey, D., Verma, S.: *Drug-induced liver injury*, (2016)
48. Todorović Vukotić, N., Đorđević, J., Pejić, S., Đorđević, N., Pajović, S.B.: *Antidepressants- and antipsychotics-induced hepatotoxicity*, (2021)