



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Filipa Moreira Fraga

RELATÓRIO DE ESTÁGIO  
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Doutora Maria Manuela Santos Monteiro e pelo Professor Doutor Mário João Gonçalves Roque e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho de 2023





UNIVERSIDADE D  
**COIMBRA**

Filipa Moreira Fraga

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO**  
**MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS**

**Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Doutora Maria Manuela Santos Monteiro e pelo Professor Doutor Mário João Gonçalves Roque e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra**

Julho de 2023



## **Agradecimentos**

Ao longo do meu percurso académico muitos me apoiaram e permitiram que esta etapa esteja prestes a acabar, aos quais estou profundamente grata.

Começo por agradecer à Universidade de Coimbra por corresponder às expectativas que eu tinha. Esta instituição proporcionou-me as condições necessárias para aprofundar os meus conhecimentos e permitiu-me ter uma experiência enriquecedora que certamente contribuiu para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Professor Doutor Mário João Roque e à Doutora Maria Manuela Santos Monteiro e todos os colaboradores do Laboratório Santos Monteiro, por me terem orientado e ajudado com tudo o que precisei. Agradeço por toda a atenção dispensada e por todos os conhecimentos que me transmitiram nos últimos meses, assim como pela autonomia que me permitiram adquirir no laboratório, pelo acompanhamento, simpatia e compreensão que muito me ajudaram. O meu humilde agradecimento.

A todos os docentes do Mestrado em Análises Clínicas, por todo o conhecimento que partilharam e por incentivarem o pensamento crítico que foi uma ferramenta fundamental para o meu desenvolvimento académico e pessoal. A todos o meu sincero obrigada.

À minha família, em especial aos meus pais, irmã e avó, que me deram a possibilidade de frequentar a vida académica e que sempre me incentivaram. À Beatriz por todo o apoio e por acreditar em mim. À Maria por partilhar os últimos 5 anos de vida académica comigo, os quais nunca esquecerei. A todos pelo apoio, companheirismo e amizade.

O meu muito obrigada.



# Índice

Agradecimentos .....	i
Índice de Figuras.....	v
Índice de Tabelas.....	v
Lista de Abreviaturas .....	vii
Lista de Símbolos .....	x
Resumo .....	xi
1. Introdução.....	1
2. Caracterização do Laboratório .....	2
3. Fase Pré-analítica.....	3
3.1. Colheitas .....	3
4. Bioquímica .....	4
4.1. Parâmetros avaliados.....	7
4.1.1. Função Renal.....	7
4.1.2. Função Hepática.....	10
4.1.3. Estudo Lipídico .....	12
4.1.4. Função Pancreática .....	14
4.1.5. Estudo dos Hidratos de Carbono.....	15
4.1.6. Estudo das Proteínas.....	16
4.1.7. Metabolismo do Ferro.....	18
4.1.8. Outros parâmetros .....	20
4.2. Estudo Bioquímico da Urina .....	22
4.3. Módulo da Imunologia.....	23
4.3.1. Avaliação da Função Tiroideia .....	23
4.3.2. Marcadores Tumorais.....	24
4.3.3. Doenças Congénitas por agente infeccioso.....	26
4.3.4. Doenças Víricas.....	27
4.3.5. Estudo Hormonal.....	29
4.3.6. Vitaminas.....	31
4.4. AEQ e CQI.....	32
5. Hematologia.....	34
5.1. Hemograma .....	35
5.1.1. Observação de extensões de sangue periférico (esfregaços).....	39
5.2. Contagem de Reticulócitos.....	40
5.3. Velocidade de Sedimentação .....	40
5.4. Grupos Sanguíneos .....	41
5.5. Pesquisa de Anticorpos Irregulares Anti-eritrocitários.....	41
5.6. Estudo da Coagulação .....	42
5.6.1. Tempo de protrombina.....	43
5.6.2. Tempo de tromboplastina parcial ativado.....	43
5.7. AEQ e CQI.....	44
6. Caso clínico.....	45
7. Microbiologia .....	48
7.1. Equipamentos e Análises .....	48
7.2. AEQ e CQI.....	49

8. Serologia.....	50
8.1. Equipamentos e Análises.....	50
8.2. AEQ e CQI.....	51
9. Conclusão.....	52
Referências bibliográficas .....	53

## **Índice de Figuras**

Figura 1 - Esquema do processo de trabalho realizado no LSM. ....	3
Figura 2 - Lista dos parâmetros avaliados no Módulo da Bioquímica. ....	5
Figura 3 - Lista dos parâmetros avaliados no Módulo de Imunologia. ....	6
Figura 4 - Lista das análises e técnicas realizadas na área de Hematologia. ....	34
Figura 5 - Esquema ilustrativo das alterações morfológicas dos eritrócitos, adaptado de (K.T. et. al, 2022). ....	39
Figura 6 - Imagem de um esfregaço com eliptócitos e acantócitos, analisado no LSM. ....	39
Figura 7 - Imagem de um esfregaço com um linfócito e plaquetas agregadas, analisado no LSM. ....	40
Figura 8 - Esquema representativo do modelo clássico da cascata de coagulação, adaptado de (Wiltrout, C. and Kondo, K., 2010). ....	42

## **Índice de Tabelas**

Tabela 1 - Quadro auxiliar do perfil eletroforético presente nos boletins de resultados. ....	17
Tabela 2 - Critérios de confirmação aplicados na área de Hematologia no LSM. ....	38
Tabela 3 - Histórico dos valores de VGM, HGB e RDW dos últimos anos – caso clínico. ....	45
Tabela 4 - Hemograma obtido em 2023 - caso clínico. ....	45



## Lista de Abreviaturas

Ac – Anticorpo

ADP – Difosfato de Adenosina (do inglês *Adenosine Diphosphate*)

AEQ – Avaliação Externa da Qualidade

Ag – Antígeno

ALP – Fosfatase Alcalina (do inglês *Alkaline Phosphatase*)

ALT – Alanina Aminotransferase

ANA – Anticorpos Anti-nucleares (do inglês *Antinuclear Antibody*)

Anti-Tg – Anti-tireoglobulina

Anti-TPO – Antiperoxidase Tireoidiana (do inglês *Thyroid Peroxidase Antibodies*)

APTT – Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (do inglês *Activated Partial Thromboplastin Time*)

ASLO – Anticorpo Antiestreptolisina O

AST – Aspartato Aminotransferase

ATCC – Coleção Americana de Culturas Tipo (do inglês *American Type Culture Collection*)

ATP – Adenosina Trifosfato (do inglês *Adenosine Triphosphate*)

BASO – Basófilos

CA – Antígeno Cancerígeno (do inglês *Cancer Antigen*)

CEA – Antígeno Carcinoembrionário (do inglês *Carcinoembryonic Antigen*)

CK – Creatina Cinase (do inglês *Creatine Kinase*; CK-MB,MM e BB)

CMIA – Imunoensaio Quimioluminescente de Micropartículas (do inglês *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*)

CMV – Citomegalovírus

CoA – Coenzima A

CQI – Controlo de Qualidade Interno

DGS – Direção Geral de Saúde

DM – Diabetes Mellitus

DMT1 – Diabetes Mellitus tipo 1

DMT2 – Diabetes Mellitus tipo 2

EOS – Eosinófilos

FEIA – Fluoroenzimoimunoensaio (do inglês *Fluorimetric Enzyme-linked Immunoassay*)

FSH – Hormona Folículo-Estimulante (do inglês *Follicle Stimulating Hormone*)

GGT – Gama Glutamiltransferase

HBV – Vírus da Hepatite B (do inglês *Hepatitis B Virus*)

hCG – Gonadotrofina Coriônica Humana (do inglês *Human Chorionic Gonadotropin*)

HCV – Vírus da Hepatite C (do inglês *Hepatitis C Virus*)

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade (do inglês *High-density Lipoprotein*)

HGB – Hemoglobina

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês *Human Immunodeficiency Virus*)

HTC – Hematócrito

Ig – Imunoglobulina

INR – Razão Normalizada Internacional (do inglês *International Normalised Ratio*)

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

IPST – Instituto Português do Sangue e da Transplantação

IR – Intervalo de Referência

ISI – Índice de Sensibilidade Internacional

LDH – Lactato Desidrogenase (do inglês *Lactate Dehydrogenase*)

LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade (do inglês *Low-density Lipoprotein*)

LH – Hormona Luteinizante (do inglês *Luteinizing Hormone*)

LSM – Laboratório Santos Monteiro

LYM – Linfócitos (do inglês *Lymphocytes*)

MCH – Hemoglobina Globular Média (do inglês *Mean Corpuscular Hemoglobin*)

MCHC – Concentração Média de Hemoglobina Globular (do inglês *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*)

MCV – Volume Globular Médio (do inglês *Mean Corpuscular Volume*)

MNPT – Média de Tempo de Protrombina Normal (do inglês *Mean Normal Prothrombin Time*)

MO – Microscopia Ótica

MONO – Monócitos

MPV – Volume Plaquetar Médio (do inglês *Mean Platelet Volume*)

NADH – Nicotinamida Adenina Dinucleótido

NEU – Neutrófilos

PCR – Proteína C Reativa

PDW – Dispersão do Volume Plaquetar (do inglês *Platelet volume Distribution Width*)

PLT – Plaquetas

POCT – Conhecido em Portugal por “Testes rápidos” (do inglês *Point-of-care Testing*)

PSA – Antígeno Específico da Próstata (do inglês *Prostate-Specific Antigen*)

PSOF – Pesquisa de Sangue Oculto nas Fezes

PT – Tempo de Protrombina (do inglês *Prothrombin Time*)

PTGO – Prova de Tolerância à Glicose Oral

PTH – Hormona Paratiroide (do inglês *Parathyroid Hormone*)

RBC – Contagem de Eritrócitos (do inglês *Red Blood Corpuscles (Cells)*)

RDW – Dispersão do Volume Eritrocitário (do inglês *Red cell Distribution Width*)

RIQAS – “*Randox International Quality Assessment Scheme*”

RNA – Ácido Ribonucleico (do inglês *Ribonucleic Acid*)

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SKML – Fundação de Controlo de Qualidade para Laboratórios de Diagnóstico Clínico (do holandês *Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek*)

T3 – Tri-iodotironina

T4 – Tiroxina / Tetraiodotironina

TBG – Globulina Ligante de Tiroxina (do inglês *Thyroxine Binding Globulin*)

TFG – Taxa de Filtração Glomerular

TIBC – Capacidade Total de Fixação do Ferro (do inglês *Total Iron Binding Capacity*)

TIG – Teste Imunológico para Gravidez

TPHA – Teste de Hemaglutinação para *Treponema pallidum* (do inglês *Treponema pallidum Hemagglutination Assay*)

TPO – Peroxidase da Tiróide (do inglês *Thyroid Peroxidase*)

TRH – Hormona Libertadora de Tireotrofina (do inglês *Thyrotropin-releasing Hormone*)

TSH – Hormona Estimuladora da Tiroide (do inglês *Thyroid Stimulating Hormone*)

UIBC – Capacidade Não Saturada de Ligação do Ferro (do inglês *Unsaturated Iron-binding Capacity*)

VBDS – Detecção Mecânica Baseada na Viscosidade (do inglês *Viscosity-based Detection System*)

VDRL – Estudo Laboratorial de Doenças Venéreas (do inglês *Venereal Disease Research Laboratory*)

VS – Velocidade de Sedimentação

WBC – Contagem de Leucócitos (do inglês *White Blood Corpuscles (Cells)*)

## **Lista de Símbolos**

% – por cento / percentagem

μ – micro

dl – decilitro

fl – fentolitro

g – grama

h – hora

l – litro

mg – miligrama

min – minuto

ml – mililitro

mm – milímetro

mmol – milimolar

n – nano

pg – picograma

s – segundos

S/CO – sinal/cut-off

U – unidade de atividade enzimática

UA – unidades arbitrárias

UI – unidade internacional

## **Resumo**

Este relatório foi elaborado no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Neste está descrita a experiência que adquiri durante 6 meses de estágio no Laboratório Santos Monteiro, em Lamego.

O estágio iniciou-se a 2 de janeiro de 2023 e terminou a 30 de junho de 2023. Durante este tempo tive a oportunidade de obter conhecimentos valiosos nas grandes áreas das Análises Clínicas, nomeadamente a Microbiologia, Serologia, Hematologia e Bioquímica. Foi-me também proporcionada a experiência de conhecer o funcionamento do Setor Técnico, Sistema de Gestão de Qualidade e ainda uma prática importante no Setor das Colheitas.

A nível estrutural o relatório descreve de forma resumida a organização do laboratório e o aproveitamento do tempo de estágio. Em seguida, é exposto o conhecimento adquirido e as atividades realizadas nas diferentes áreas, com mais detalhe na Hematologia e Bioquímica.

**Palavras-Chave:** Análises Clínicas, Diagnóstico, Hematologia, Bioquímica

## **Abstract**

This report was written as part of the Master's degree in Clinical Analysis at the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra. It describes the experience I gained during a 6-month internship at Santos Monteiro Laboratory in Lamego.

The internship started on January 2<sup>nd</sup> of 2023 and ended on June 30<sup>th</sup> of 2023. During this time, I had the opportunity to gain valuable knowledge in the main areas of Clinical Analysis, including Microbiology, Serology, Haematology and Biochemistry. I also had the experience of understanding the workings of the Technical Department, Quality Management System, and an important practice in the Collection Department.

Structurally, the report provides a brief portrayal of the laboratory's organization and the use of the internship time. This is followed by a depiction of the knowledge acquired and the activities carried out in the different areas, with a more detailed description of the Haematology and Biochemistry areas.

**Keywords:** Clinical Analysis, Diagnosis, Haematology, Biochemistry



## **I. Introdução**

As Análises Clínicas são uma ciência multidisciplinar importante que auxilia os profissionais de saúde no diagnóstico, tratamento e acompanhamento de doenças das diversas áreas da medicina, bem como na prevenção de doenças nomeadamente metabólicas. A variedade de parâmetros das diferentes áreas permite ao clínico conhecer alterações no funcionamento do organismo.

Nos últimos anos é notável a evolução em termos de automatização nos procedimentos de laboratório que trazem inúmeras vantagens na qualidade dos resultados, mas esta menor intervenção humana a nível prático não pode descurar o conhecimento por parte dos profissionais acerca do significado, validação e interpretação de um resultado analítico.

No estágio realizado no Laboratório Santos Monteiro, sob a orientação da Doutora Manuela Santos Monteiro, foi-me permitido expandir e aplicar todos os conhecimentos que obtive ao longo do meu percurso académico acompanhando a rotina do laboratório, e adquirir a qualificação necessária para executar e interpretar análises Bioquímicas, Serológicas, Hematológicas e da Microbiologia.

Estruturalmente, este relatório inicia por descrever o laboratório e a sua organização, é também abordada a importância da área pré-analítica e, de seguida, descrito o trabalho realizado em cada área assim como quais os procedimentos de controlo de qualidade, com mais detalhe na Bioquímica e Hematologia.

## **2. Caracterização do Laboratório**

O estágio foi realizado no Laboratório Santos Monteiro, em Lamego, que iniciou a sua atividade em 1958. Mais tarde, em 2000, a Diretora Técnica Senhora Doutora Maria Manuela Tenreiro dos Santos Monteiro Borges Pires, especialista em Análises Clínicas pela Ordem dos Farmacêuticos, criou o Setor da Qualidade, e em 2002 recebeu acreditação pelo Instituto Português da Qualidade, seguindo a Norma NP EN ISO 17025, posteriormente cancelada devido à pandemia do Covid-19.

Para além da Sede em Lamego, local que frequentei durante o estágio, o laboratório conta ainda com 9 postos na região, o que contribui para o fluxo diário de cerca de 230 a 250 utentes.

Em termos físicos, o espaço é dividido em 4 áreas:

1. Área técnica: Hematologia / Microbiologia / Serologia / Bioquímica
2. Recepção / 3 Salas de colheita / Instalações sanitárias (utentes)
3. Secretaria / Gabinete da direção / Armazém
4. Vestiários / Copa / Instalações sanitárias (pessoal)

O seu funcionamento conta com uma equipa de recursos humanos composta por cerca de 40 profissionais, entre eles especialistas, técnicos de diagnóstico e terapêutica, técnicos superiores, enfermeiros, funcionários administrativos e auxiliares.

Os utentes deste laboratório não são um público-alvo específico, tratando-se de um laboratório de análises de ambulatório. As amostras colhidas durante o período da manhã são, no caso dos postos, transportadas para a sede do laboratório onde são processadas, ou enviadas a um laboratório subcontratado.

### 3. Fase Pré-analítica

É conhecido que a maior percentagem de erros cometidos durante uma análise laboratorial ocorre durante a fase pré-analítica, pelo que é imprescindível estabelecer indicadores que nos garantam minimizar essas ocorrências.

No Laboratório Santos Monteiro (LSM) aquando da abertura da ficha do doente com a respetiva requisição é atribuído um número mecanográfico associado a um número de tubo e agrafadas à respetiva requisição etiquetas com o código de barras referente a esse número de tubo. Durante a colheita apenas irão para a sala a requisição do utente e os tubos necessários. Após a identificação do utente, feita pelo mesmo com nome completo e data de nascimento, procede-se à recolha das amostras e posteriormente à etiquetagem dos tubos, junto ao utente para impedir qualquer troca. É também importante saber se é necessário algum procedimento imediato à colheita como refrigeração, congelamento, estufa ou proteção da luz, de acordo com o manual de colheitas.

Em relação ao transporte das amostras vindas dos postos é feita a monitorização da temperatura da mala com *dataloggers*.

De seguida, cada amostra é encaminhada para a área respetiva onde sofre um processo de triagem, como por exemplo, registar e avaliar a separação perfeita de fases pelo gel, hemólises, lipémias, coágulos ou volumes insuficientes.

Em todos os setores, o esquema de trabalho seguido é o seguinte (Figura 1):



**Figura 1** - Esquema do processo de trabalho realizado no LSM.

#### 3.1. Colheitas

Durante o tempo de estágio tive a oportunidade de contactar com a área das colheitas, maioritariamente na parte da manhã. A experiência prática que fui obtendo permitiu-me ganhar imenso conhecimento e autonomia que auxiliaram também na melhor compreensão da importância da fase pré-analítica nos testes de cada área.

Os procedimentos seguidos estão descritos no manual de colheitas do laboratório onde consta o tubo utilizado para cada amostra, ordem de colheita e os passos a seguir antes, durante e após a punção.

## 4. Bioquímica

A bioquímica é uma área onde se faz a determinação de numerosos parâmetros relacionados com o funcionamento de diferentes órgãos e sistemas. As análises efetuadas são muitas vezes fundamentais para auxiliar o diagnóstico de patologias também de outras áreas como é o caso das anemias.

Durante o tempo que acompanhei o trabalho nesta área técnica tive a oportunidade de tomar conhecimento dos documentos utilizados (procedimentos operativos, fichas de trabalho e manuais de equipamentos) e registos efetuados (controlo de qualidade interno (CQI), avaliação externa da qualidade (AEQ), fichas de desempenho, resultados das amostras e mapas de manutenção). Aprendi a armazenar e preparar reagentes, controlos e calibradores, assim como a realizar a manutenção dos equipamentos. Pude também conhecer a forma de validar técnica e analiticamente os resultados, que me foi muito útil para saber interpretar melhor os valores.

O aparelho responsável pelas análises da área da bioquímica é o Alinity C/I (Abbott®). Este é composto por um sistema modular. Um módulo correspondente à bioquímica (Alinity C) e um outro responsável pelos imunoensaios (Alinity I). A seguir estão descritas as análises efetuadas no módulo Alinity C (Figura 2) e no módulo Alinity I (Figura 3) agrupadas por órgãos ou sistemas.

<b>Função Renal</b>	
Ureia	Ácido Úrico
Creatinina	Ionograma
Taxa de Filtração Glomerular (TFG) - Depuração da Creatinina	
<b>Função Hepática</b>	
Alanina Aminotransferase (ALT)	Gama Glutamiltransferase (GGT)
Aspartato Aminotransferase (AST)	Bilirrubina Total e Direta
Fosfatase Alcalina (ALP)	
<b>Estudo Lipídico</b>	
Colesterol Total	Colesterol LDL
Colesterol HDL	Triglicéridos
<b>Função Pancreática</b>	
Amilase	
<b>Estudo dos Hidratos de Carbono</b>	
Glicose	
Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO)	
<b>Estudo da Proteínas</b>	
Proteínas Totais	Fator Reumatóide
Eletroforese das Proteínas	Proteína C Reativa (PCR)
Albumina	Imunoglobulina E (IgE)
<b>Metabolismo do Ferro</b>	
Ferro (Fe)	
Capacidade Não Saturada de Ligação do Ferro (UIBC)	
Capacidade Total de Fixação do Ferro (TIBC)	
Transferrina	
Ferritina	
<b>Outros parâmetros</b>	
Título de Anti-estreptolisina O (ASLO)	Magnésio
Cálcio	Creatina Cinase (CK)
Fósforo	Lactato Desidrogenase (LDH)
<b>Estudo Bioquímico da Urina</b>	
Ácido Úrico	Creatinina
Cálcio	Ureia
Fósforo	Proteínas Totais
Ionograma	Microalbuminúria

**Figura 2** - Lista dos parâmetros avaliados no Módulo da Bioquímica.

<p><b>Avaliação da Tireoide</b></p> <p>Hormona Estimuladora da Tireoide (TSH)  T4 total e livre  T3 total e livre  Anticorpo anti-TPO  Anticorpo anti-Tg</p>
<p><b>Marcadores Tumorais</b></p> <p>Alfa fetoproteína  Antígeno Cancerígeno 19.9 (CA 19.9)  Antígeno Carcinoembrionário (CEA)  Antígeno Cancerígeno 125 (CA 125)  Antígeno Específico da Prostata (PSA) total e livre</p>
<p><b>Doenças Congênitas</b></p> <p>Citomegalovírus  Rubéola  Toxoplasmose</p>
<p><b>Doenças Víricas</b></p> <p>Hepatite B (HBV) - Ag HBs, Ac HBs e Ac HBc  Hepatite C (HCV) - Ac anti-HCV total  Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) - Ag p24 e Ac HIV1/2</p>
<p><b>Estudo Hormonal</b></p> <p><math>\beta</math>-hCG  Estradiol  Hormona Luteinizante (LH)  Hormona Folículo-Estimulante (FSH)  Progesterona  Prolactina  Testosterona  Hormona da Paratireoide (PTH)</p>
<p><b>Vitaminas</b></p> <p>Vitamina D  Vitamina B12  Ácido Fólico</p>

**Figura 3** - Lista dos parâmetros avaliados no Módulo de Imunologia.

## **4.1. Parâmetros avaliados**

### **4.1.1. Função Renal**

O rim é um órgão com funções muito diversas sendo importante para a regulação da água, eletrólitos e equilíbrio ácido-base. É ainda responsável pela eliminação dos catabólitos das proteínas e ácidos nucleicos e pela síntese de algumas hormonas como a eritropoietina e o 1,25 dihidroxicolecalciferol (forma ativa da vitamina D). A sua unidade funcional é o nefrónio e, no laboratório, é feita a avaliação da sua função a nível glomerular e tubular. O glomérulo tem como objetivo permitir eliminar compostos por filtração, para além disto também é possível avaliar um mau funcionamento quando não há retenção de moléculas por alteração da permeabilidade. A ureia, creatinina e ácido úrico são compostos eliminados por filtração glomerular. Já os túbulos renais, por sua vez, são responsáveis pela reabsorção de nutrientes e iões, além da secreção de resíduos, regulando o equilíbrio ácido-base e a concentração da urina. Esta homeostase é controlada pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona, que com o contributo das funções renais ajuda a manter o equilíbrio dos fluídos corporais e eliminar substâncias indesejadas. (Osborn, J. W. *et. al.*, 2021)

### **Ureia**

A ureia é sintetizada no fígado, resultando do grupo amina do catabolismo das proteínas, posteriormente passa para a corrente sanguínea e no rim é filtrada e eliminada na urina. É importante para a interpretação dos resultados saber que a parede dos túbulos renais é permeável à ureia e parte da quantidade filtrada no glomérulo regressa dessa forma ao plasma. Deste modo, um aumento de ureia no sangue pode significar diminuição da função renal, porém é importante salientar que, como deriva das proteínas, os níveis de ureia são influenciados pela dieta. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

O equipamento utiliza o método da urease, enzima que catalisa a hidrólise da ureia a amónia, esta por sua vez é convertida a glutamato pela glutamato desidrogenase com a simultânea oxidação de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), cujo consumo é proporcional à concentração de ureia e lido por espectrofotometria a 340 nm. Os valores de referência considerados são 18 a 55 mg/dl.

## Creatinina

A creatina após fosforilação é uma molécula energética utilizada pelo músculo e pelo cérebro. A fosfocreatina, composto que resulta da fosforilação, é convertida em creatinina no músculo e passa para a corrente sanguínea a fim de ser eliminada no rim. Assim, a creatinina, apesar de não ser tão influenciada pela dieta como a ureia, é condicionada pela massa muscular. No rim é filtrada pelo glomérulo e não é reabsorvida a nível tubular, contudo pode ocorrer quando em concentrações elevadas. A sua concentração surge aumentada no soro se a função renal estiver diminuída. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

Um resultado de creatinina sérica elevado permite estimar qual a percentagem de redução da taxa de filtração glomerular, dependendo da amplitude desse aumento (Shahbaz, H. *et. al.*, 2023), o valor também é utilizado para calcular a depuração de creatinina. A concentração urinária de creatinina é muitas vezes necessária como valor de cálculo para apresentar resultados de outros compostos por / g de creatinina, como é o caso das proteínas na urina e da microalbuminúria.

O método utilizado pelo aparelho é o do picrato alcalino cinético, um aperfeiçoamento ao método de Jaffe que reduz as interferências das proteínas. Neste ensaio o ácido pícrico forma um complexo com a creatinina em meio alcalino que provoca um aumento da absorvância lida, este valor é proporcional à concentração de analito. Os resultados são avaliados de acordo com o intervalo de referência (IR) de 0,72 a 1,25 mg/dl.

## Taxa de Filtração Glomerular (TFG) - Depuração da Creatinina

A depuração da creatinina, ou taxa de filtração glomerular (TFG), é um marcador sensível e específico da função de filtração renal que se baseia na determinação da quantidade de plasma completamente depurado por unidade de tempo. Preconizou-se o uso dos valores de creatinina para estes cálculos uma vez que é eliminada exclusivamente por filtração glomerular. Para o cálculo são necessários os valores séricos e o volume e concentração na urina de 24 horas. (Shahbaz, H. *et. al.*, 2023)

A amostra para o cálculo da TFG é a urina de 24h. É importante fornecer ao utente as instruções claras e corretas de como realizar a colheita, assim como esclarecer se a pessoa não tem perdas urinárias o que inviabiliza esta análise. O cálculo realizado é: 
$$\frac{\text{Creatinina (urina)} \times \text{Débito Urinário (volume)}}{1440 \times \text{Creatinina (soro)}}$$
 e o IR varia entre 66 e 163 ml/min. A TFG pode ser calculada, quando não é possível a colheita de 24 horas, pela determinação de um valor aproximado com uma equação de 4 variáveis (equação MDRD-GFR) baseada num estudo estatístico. As

variáveis consideradas são o sexo, idade, raça e concentração de creatinina no soro. (Levey, A. S. *et. al.*, 2006)

### **Ácido Úrico**

O ácido úrico é um metabolito eliminado por filtração glomerular que é sintetizado pelo catabolismo das purinas. Condições de hiperuricemia podem ocorrer devido a um aumento de produção: por dieta rica em purinas, alterações das atividades enzimáticas desta via, aumento da destruição celular (por exemplo na presença de rabdomiólise) ou diminuição da excreção. 90% dos aumentos do ácido úrico sérico devem-se a distúrbios renais, o que pode refletir-se na doença da gota que decorre da acumulação deste metabolito no organismo na forma de precipitados. (George, C. *et. al.*, 2023)

O ensaio é realizado por espectrofotometria visível através do método da uricase, enzima que oxida o ácido úrico a alantoína com produção de peróxido de hidrogénio. Este último reage com um substrato na presença da peroxidase o que resulta na produção de um composto corado cuja concentração é proporcional à de ácido úrico da amostra. Os valores de referência são entre 3,7 e 7,7 mg/dl.

### **Ionograma**

O ionograma é um exame laboratorial que incide na determinação da concentração dos eletrólitos principais dos fluidos. No LSM os iões avaliados são sódio, potássio e cloro. O sódio é o principal catião extracelular e tem um papel essencial no equilíbrio hidroeletrolítico, a nível renal é filtrado no glomérulo mas reabsorvido nos túbulos renais permitindo, por equilíbrio osmótico, a reabsorção de água e cloro. Já o potássio é o catião intracelular em maior quantidade, nos eritrócitos a concentração de  $K^+$  é 23 vezes superior à plasmática pelo que amostras hemolisadas são rejeitadas. É importante que ocorra corretamente a regulação dos valores de  $K^+$  uma vez que é um ião essencial para o funcionamento adequado do sistema muscular, alterações podem originar, por exemplo, problemas cardíacos. O cloro, como contra-ião do sódio, é o principal anião extracelular. Níveis baixos são característicos em casos de vômito prolongado devido à perda de ácido clorídrico ou alcalose metabólica, pelo contrário níveis aumentados são indicativos de acidose metabólica, associada por exemplo a diarreia prolongada. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

O ionograma é avaliado por potenciometria indireta, técnica que mede a concentração através do potencial elétrico gerado por eléctrodos (Rifai, N. *et. al.*, 2018), e os IR são para o sódio entre 135 e 145 mmol/l, potássio entre 3,5 e 5,0 mmol/l e cloro entre 95 e 110 mmol/l.

Ao longo do decorrer do estágio tive a oportunidade de experienciar o quanto a fase pré-analítica influencia em muito esta análise, são por isso necessários cuidados reforçados como por exemplo no tempo de garrotagem antes da punção (máximo de 1 minuto) e a temperatura de conservação até à centrifugação. (Livesey, J. H. *et. al.*, 2008) No LSM, quando os utentes realizam um ionograma, a colheita é realizada para um tubo igual ao tubo de bioquímica, mas apenas para esta análise, que permanece à temperatura ambiente até ao momento da separação de fases por centrifugação, isto porque os níveis de potássio sobem a temperaturas baixas por ativação da bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  da membrana das células. (Seamark, D. *et. al.*, 1999)

#### **4.1.2. Função Hepática**

O fígado desempenha funções importantes no organismo entre elas a síntese de bílis e metabolismo de proteínas, lípidos e lipoproteínas. É ainda responsável pelo metabolismo dos hidratos de carbono e de xenobióticos, como também pela excreção de bilirrubina e sais biliares. Os testes de função hepática usados na clínica laboratorial, e no LSM, na área da bioquímica são geralmente as aminotransferases, fosfatase alcalina, gama glutamiltransferase e bilirrubina, estes permitem avaliar a existência e tipo de lesão hepática. (Lala, V. *et. al.*, 2023)

#### **Alanina Aminotransferase (ALT)**

A alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima que se encontra predominantemente no citosol dos hepatócitos, no fígado, isto significa que é libertada para a corrente sanguínea quando há lesão celular provocando um aumento da sua atividade no sangue que pode ser medido. (Rifai, N. *et. al.*, 2018) Aumentos consideráveis da ALT e AST, não acompanhados pela gama glutamiltransferase (GGT) e bilirrubinas, indicam lesão das células hepáticas, nestes casos é comum a ALT ser superior à AST. (Lala, V. *et. al.*, 2023)

Os valores de ALT esperam-se inferiores a 55 U/l. Neste equipamento o ensaio utiliza o método de NADH que se baseia na catalisação, pela ALT, da conversão da L-alanina e  $\alpha$ -cetogluturato a piruvato e L-glutamato. A oxidação do NADH pela lactato desidrogenase (LDH) permite que o piruvato seja reduzido a L-lactato, a taxa de decréscimo de NADH é proporcional à atividade da ALT lida por espectrofotometria a 340 nm e expressa em U/l.

### **Aspartato Aminotransferase (AST)**

A aspartato aminotransferase (AST) encontra-se presente em vários tecidos pelo que não é tão específica quanto a ALT, contudo apesar de também indicar lesões no músculo cardíaco é utilizada para avaliar doença hepática. Nos hepatócitos estão presentes duas isoenzimas, a citoplasmática e a mitocondrial. (Rifai, N. *et. al.*, 2018) Casos de alcoolismo com lesão hepática levam a um aumento da razão AST/ALT. (Nyblom, H. *et. al.*, 2004)

O IR é entre 5 e 34 U/l. Os valores são obtidos pelo método do NADH, sabendo que a AST presente na amostra participa numa reação que a partir do L-aspartato forma oxaloacetato. Este último, na presença de NADH e malato desidrogenase é reduzido a malato. A taxa de decréscimo do NADH, que ocorre devido à sua oxidação, é medida e corresponde à atividade da AST.

### **Fosfatase Alcalina (ALP)**

A fosfatase alcalina (ALP) é uma enzima presente em inúmeros locais como fígado, osso e intestino delgado. No que diz respeito ao fígado, encontra-se na membrana dos ductos biliares, pelo que um aumento da sua atividade reflete a diminuição da função hepatobiliar, indicando normalmente lesão do tipo colestática. Outros parâmetros característicos desta condição são o aumento da GGT e bilirrubinas, sem elevação na mesma proporção das transaminases. (Lala, V. *et. al.*, 2023)

O ensaio é efetuado com base na espectrofotometria visível e o resultado espera-se entre 40 e 150 U/l. O método utilizado é o do para-nitrofenil fosfato (p-NPP) no qual a ALP, em pH alcalino, realiza a quebra a para-nitrofenol e fosfato inorgânico. Estes produtos são medidos por espectrofotometria e a taxa de aumento é diretamente proporcional à atividade de enzima presente na amostra.

### **Gama Glutamiltransferase (GGT)**

A gama glutamiltransferase (GGT) é usada no diagnóstico e monitorização de doenças do fígado, também presente nos túbulos renais, pâncreas e intestino. É um indicador muito sensível de patologia hepática que se encontra na membrana dos canalículos biliares e em menor quantidade nos hepatócitos. Para além de existir uma elevação dos valores nas lesões colestáticas, os níveis de GGT aumentam consideravelmente em relação à ALP quando se trata de doença hepática obstrutiva, sendo por isso mais sensível nesses casos. (Lala, V. *et. al.*, 2023)

Os resultados são obtidos pelo método do substrato L-gama-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida. A GGT transfere o grupo gama-glutamyl do substrato para a glicilglicina, formando

um composto cuja cor é lida por espectrofotometria, esta taxa de formação corresponde à atividade da enzima. Os valores resultantes são expressos em U/l com IR entre 12 e 64 U/l.

### **Bilirrubina Total e Direta**

Os eritrócitos têm uma vida média de 120 dias, após este tempo entram em senescência. A bilirrubina resulta do metabolismo do grupo heme que é libertado no baço, onde os eritrócitos são destruídos. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

A bilirrubina não-conjugada (bilirrubina indireta) liga-se à albumina plasmática até chegar ao fígado onde sofre conjugação nos hepatócitos (bilirrubina direta) para ser excretada na bÍlis e esta, por sua vez, libertada no intestino. Assim, a interpretação dos diferentes valores de bilirrubina total, indireta e direta permitem perceber se a icterícia é de origem pré-hepática, hepática ou pós-hepática tendo em conta qual é a causa da hiperbilirrubinemia. No caso de a incidência do aumento ser na bilirrubina indireta esta só é encontrada na urina em caso de alteração da permeabilidade glomerular, por estar ligada às proteínas. Já a hiperbilirrubinemia direta pode ser detetada na urina e torna-a escura. (Kalakonda, A. *et. al.*, 2023)

Os ensaios de quantificação da bilirrubina são realizados pela reação de diazo. Para quantificar a bilirrubina direta utiliza-se o sal de diazónico que se acopla à bilirrubina conjugada na presença de ácido sulfâmico para formar a azobilirrubina cuja absorção é lida e proporcional à concentração de bilirrubina direta. O método de avaliação da bilirrubina total assemelha-se, porém é adicionado um surfactante como agente de solubilização da bilirrubina indireta para ser possível quantificar toda a concentração existente no soro. A bilirrubina indireta pode ser calculada subtraindo ao valor da bilirrubina total o valor da bilirrubina direta. Os valores totais variam entre 0,2 a 1,2 mg/dl e a bilirrubina direta espera-se inferior a 0,5 mg/dl.

#### **4.1.3. Estudo Lipídico**

Os lípidos são moléculas importantes tanto a nível estrutural, na membrana das células, quanto como precursores de hormonas e fontes energéticas. A quantidade de lípidos e lipoproteínas é determinada a nível laboratorial para acompanhar o risco de aterosclerose e processos cardiovasculares que são muitas vezes provocados por dislipidemias. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

## **Colesterol Total**

O colesterol, para além da função estrutural na membrana das células, é também utilizado na síntese de hormonas esteroides e sais biliares. A sua fonte é a síntese a nível hepático (endógena) e também o consumo na dieta (exógena). Na corrente sanguínea o colesterol circula ligado a proteínas formando lipoproteínas. Quando os valores de colesterol são altos considera-se existir um risco aumentado de aterosclerose cardiovascular. (Grundy, S. M. *et. al.*, 2000)

O método utilizado é enzimático, no qual os ésteres de colesterol são hidrolisados pela colesterol esterase produzindo ácidos gordos livres e colesterol. O colesterol por sua vez é oxidado pela colesterol oxidase e forma peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), este reage com um substrato para formar um grupo cromóforo cuja presença é lida por espectrofotometria. Segundo as Guidelines ATP III (do inglês *Adult Treatment Panel*), os valores consideram-se níveis desejáveis < 200 mg/dl, borderline de 200 a 239 mg/dl e alto  $\geq$  240 mg/dl.

## **Colesterol HDL**

Vulgarmente conhecido por “bom colesterol”, as lipoproteínas de alta densidade (HDL) fazem o transporte reverso do colesterol dos tecidos para o fígado, assim os seus níveis baixos são indicadores de um risco mais elevado de aterosclerose. (Hageman, S. M. *et. al.*, 2023)

O método utilizado pelo Alinity nesta análise é igual ao do colesterol total, porém inicialmente usa-se um detergente seletivo acelerador, existindo uma aceleração da reação entre a colesterol oxidase e o colesterol não-HDL, o  $H_2O_2$  resultante é consumido antes de iniciar o ensaio do HDL. Segundo a Norma nº 019/2011 da Direção Geral de Saúde (DGS) atualizada em maio de 2017, assume-se que há proteção alta de risco cardiovascular quando os resultados são  $\geq$  a 60 mg/dl e baixa quando < 40 mg/dl no homem e < 45 mg/dl na mulher.

## **Colesterol LDL**

O colesterol LDL corresponde às lipoproteínas de baixa densidade (LDL) que devido ao seu tamanho têm maior facilidade em aceder à camada íntima das artérias onde contribuem para o processo de aterosclerose. (Lee, Y. *et. al.*, 2023)

Segundo a Norma nº 066/2011 da DGS atualizada em fevereiro de 2015, esta fração do colesterol é calculada pela fórmula de Friedwald: (Colesterol Total) – (Colesterol HDL) – (Triglicéridos/5) mg/dl se os valores de triglicéridos forem < a 400 mg/dl. Níveis ótimos de LDL são < a 100 mg/dl, bons entre 100 e 129 mg/dl e borderline entre 130 e 159 mg/dl. Níveis altos variam de 160 a 189 mg/dl e muito altos > a 190 mg/dl.

## Triglicerídeos

A frequência de hipertrigliceridemia tem vindo a aumentar, principalmente nos países desenvolvidos. A sua concentração no plasma resulta da contribuição exógena (da dieta) e endógena (do fígado). Esta análise é regularmente requisitada em utentes com diabetes mellitus, hiperlipidemias e doenças hepáticas. (Linton, M. F. *et. al.*, 2000)

Este ensaio é realizado pelo método do glicerol fosfato oxidase, ensaio enzimático que envolve a utilização da lipoproteína lipase para hidrolisar os triglicerídeos a ácido gordos livres e glicerol. Posteriormente a glicerol cinase forma o glicerol-3-fosfato na presença de adenosina trifosfato (ATP). O produto formado é oxidado pela glicerol fosfato oxidase produzindo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A presença da peroxidase vai permitir utilizar o peróxido de hidrogénio que reagindo com um substrato dá origem a um composto corado lido por espectrofotometria e cuja absorvância é proporcional à quantidade de triglicerídeos no sangue.

Os níveis desejáveis são < a 150 mg/dl, um resultado borderline compreende valores entre 150 e 199 mg/dl e alto entre 200 e 499 mg/dl. Valores ≥ a 500 mg/dl são referidos como muito altos.

### 4.1.4. Função Pancreática

O pâncreas é uma glândula com duas porções: endócrina, responsável pela libertação de insulina, glucagon e somatostatina, e a porção exócrina, onde ocorre a secreção do suco pancreático responsável pela digestão de proteínas, lípidos e hidratos de carbono. (El Sayed, S. A. *et. al.*, 2023)

## Amilase

A amilase é uma enzima digestiva principalmente excretada pelo pâncreas, mas também pelas glândulas salivares com a função de hidrolisar hidratos de carbono.

A amilasemia elevada é utilizada para o diagnóstico de pancreatite aguda, que se baseia numa necrose enzimática que tem como consequência inflamação pancreática, as causas variam desde cálculos biliares ao consumo excessivo de álcool. Este parâmetro é importante no diagnóstico e tratamento da pancreatite, porém para ser considerada lesão pancreática devem ser verificados os valores da lipase uma vez que a amilase sérica é menos específica. (Akinfemiwa, O. *et. al.*, 2023)

No LSM, a determinação da alfa-amilase no soro é realizada por espectrofotometria visível com recurso ao substrato etilideno-4-NP-G7 que é hidrolisado pela α-amilase e o produto clivado pela α-glicosidase dando origem a um cromóforo cuja taxa de aumento da absorvância é lida e proporcional à quantidade de enzima. O IR utilizado é entre 28 e 100 U/l.

#### 4.1.5. Estudo dos Hidratos de Carbono

A diabetes mellitus é uma doença caracterizada pelo aumento dos níveis de glicose no sangue. A sua patogenia vai se diferenciar entre DMT1 (Diabetes Mellitus tipo 1) e DMT2 (Diabetes Mellitus tipo 2).

A DMT1 é diagnosticada geralmente em pessoas jovens e decorre devido a uma resposta autoimune com produção de autoanticorpos que destroem as células e levam à diminuição da produção de insulina. (El Sayed, S. A. *et. al.*, 2023) Em termos clínicos é frequentemente acompanhada de sintomas prévios ao diagnóstico como polifagia, poliúria e perda ponderal. Algumas complicações podem advir desta patologia sejam elas agudas, como a cetoacidose diabética ou hipoglicémia, ou crônicas, como a retinopatia ou neuropatia. Já a DMT2 estabelece-se em idades mais tardias e resulta de uma progressiva resistência à insulina. Ao contrário da DMT1 não é tão comum este tipo apresentar sintomas, pelo que se não forem feitas análises de rotina de forma a atuar podem surgir complicações agudas como evento cardiovascular agudo, acidente vascular cerebral hemorrágico ou hipoglicémia, e iguais complicações crônicas à DMT1. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

A glicose é a principal forma de energia do organismo, o seu doseamento é utilizado no diagnóstico e monitorização da diabetes. Níveis de glicémia em jejum  $\geq$  a 126 mg/dl ou glicemia ocasional  $\geq$  a 200 mg/dl com presença de sintomas fazem diagnóstico de diabetes. Para avaliar como o organismo reage à glicose ao longo do tempo é realizada a prova de tolerância à glicose oral (PTGO) que consiste na colheita de sangue em jejum e 2 horas após a ingestão de uma solução com 75 g de glicose.

O método utilizado para analisar a glicémia é enzimático envolvendo a hexoquinase que fosforila a glicose a glicose-6-fosfato com a presença de ATP. A glicose-6-fosfato é posteriormente oxidada a 6-fosfogluconato com produção simultânea de NADH, a concentração de NADH é lida por espectrofotometria e proporcional à concentração de glicose no soro.

Segundo a Norma nº 002/2011 da DGS, a classificação da diabetes é feita com base nos parâmetros:

DM: Glicose em jejum  $\geq$  126 mg/dl e/ou 2 h após 75 g  $\geq$  200 mg/dl

Anomalia da glicemia em jejum: Glicose em jejum  $\geq$  110 mg/dl e  $<$  126 mg/dl e (se medida) 2 h após 75g  $<$  140 mg/dl

Tolerância diminuída à glicose: Glicose 2h após 75 g  $\geq$  140 mg/dl e  $<$  200 mg/dl e glicose em jejum  $<$  126 mg/dl

Quanto à diabetes gestacional o diagnóstico da diabetes é feito com base nos parâmetros seguintes:

Glicose em jejum entre 92 e 126 mg/dl

0 h após 75 g  $\geq$  92 mg/dl, 1 h após 75 g  $\geq$  180 mg/dl e 2 h após 75 g  $\geq$  153 mg/dl

A glicose em circulação no soro liga de forma irreversível à hemoglobina (HGB). Sabendo-se que o tempo de vida destas células é cerca de 120 dias a avaliação da % da quantidade de HGB glicada reflete os níveis de glicemia nos últimos 3 meses. (Eyth, E. *et. al.*, 2023) Segundo a DGS, a hemoglobina glicada A1c pode ser usada para o diagnóstico de diabetes se  $\geq$  a 6,5%.

No LSM o analisador de HGB A1c é o equipamento Capillarys 2 flex piercing (SEBIA®) que permite realizar este ensaio por eletroforese capilar (método descrito no capítulo 4.1.6).

#### **4.1.6. Estudo das Proteínas**

As proteínas são moléculas com várias funções biológicas sejam elas enzimáticas, de resposta imune, hormonais, estruturais, entre outras. Desta forma, é também muito ampla a sua utilidade no diagnóstico laboratorial.

#### **Proteínas Totais**

As proteínas são sintetizadas sobretudo no fígado e nas células plasmáticas (linfócitos). Variações na quantidade de proteínas podem ser causadas por problemas na sua síntese, aumento do catabolismo ou perdas, e até por desidratação ou sobrehidratação. Assim, esta determinação é importante para auxiliar o diagnóstico, monitorização e tratamento de doenças que envolvam a síntese hepática, gamopatias monoclonais, função renal e perturbações metabólicas ou nutricionais. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

O método de quantificação das proteínas utilizado pelo Alinity é o método do Biureto. Num meio alcalino, o íon cúprico reage com o nitrogénio das proteínas formando um complexo que quando quantificado expressa a quantidade de proteínas presentes na amostra. O IR para este parâmetro varia entre 6,4 e 8,3 g/dl.

#### **Eletroforese das Proteínas**

A eletroforese das proteínas é importante para o diagnóstico de doenças do foro hepático, renal, crónicas ou de absorção. É também útil no diagnóstico de gamopatias monoclonais onde a migração das proteínas resulta em perfis com alterações características.

No LSM o proteinograma é realizado no aparelho Capillarys 2 flex piercing (SEBIA®) por eletroforese capilar, método que permite a separação das moléculas segundo a sua mobilidade eletroforética de acordo com o seu peso molecular e carga elétrica. (Guérin, R. *et. al.*, 2016)

O resultado permite ter uma representação visual da separação das proteínas em cinco frações:

**Tabela 1** - Quadro auxiliar do perfil eletroforético presente nos boletins de resultados.

Fração	Proteínas	IR (%)
Albumina	Albumina, Lipoproteínas (alfa, pré beta, beta)	55,8-66,1
Alfa-1	Alfa-1 Glicoproteína, Alfa-1 Antitripsina	2,4-4,9
Alfa-2	Alfa-2 Macroglobulina, Haptoglobina	7,1-11,8
Beta-1	Transferrina, Hemopexina	4,7-7,2
Beta-2	Complemento (C3, C4), Proteína C Reativa, IgA	3,2-6,5
Gama	Imunoglobulinas	11,1-18,8

## Albumina

A albumina, proteína mais abundante no plasma, é produzida pelo fígado e tem inúmeras funções: é responsável por manter a pressão oncótica do plasma, transporta iões e compostos lipossolúveis, tem atividade antioxidante e capacidade tampão. Dadas todas estas funções, alterações que levem ao desequilíbrio dos níveis normais têm consequências clínicas que podem ser investigadas e diagnosticadas laboratorialmente como é o caso de doença hepática, perdas renais ou intestinais. A albumina é uma proteína que não é filtrada pelo rim, pelo que o aparecimento de níveis baixos de albumina na urina são frequentemente utilizados para a deteção precoce de nefropatia, de forma a evitar insuficiências renais e posterior necessidade de diálise. (Rifai, N. *et. al.*, 2018) Este teste é denominado de microalbuminúria e é realizado por imunoturbidimetria com recurso a Ac's anti-albumina, resultados > 30 mg/24h (ou > 30 mg/g de creatinina no caso de colheita ocasional) considera-se já ter significado clínico.

O ensaio realizado pelo aparelho baseia-se no método colorimétrico da ligação do verde de bromocresol à albumina produzindo um complexo corado cuja absorvância é lida e diretamente proporcional à concentração de albumina. O intervalo de referência ronda entre 3,5 e 5,0 g/dl.

## **Fator Reumatoide**

Os fatores reumatoides são autoanticorpos dirigidos às porções Fc das IgG's humanas. São importantes para diagnosticar inflamações por exemplo artrite reumatóide. (Tiwari, V. *et. al.*, 2023)

A técnica utilizada pelo Alinity é a imunoturbidimetria na qual IgG's em partículas de látex aglutinam quando reagem com anticorpos (Ac's) da amostra. Um resultado é negativo se forem valores < 30 UI/ml, positivo fraco se compreender entre 30-50 UI/ml e positivo se > 50 UI/ml.

## **Proteína C Reativa (PCR)**

A proteína C reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda cujos níveis elevados são indicativos de um processo inflamatório, permite monitorizar a resposta do organismo à terapêutica ou evolução da doença. (Tang, M.-Q. *et. al.*, 2020)

O ensaio é realizado pelo método de imunoturbidimetria com Ac's anti-PCR adsorvidos em partículas de látex que aglutinam na presença desta proteína na amostra e resultam na turvação que é mensurada. O resultado é expresso em mg/l e tem o limite máximo de referência de 5,0 mg/l.

## **Imunoglobulina E (IgE)**

A imunoglobulina E (IgE) é um indicador de reações de hipersensibilidade do organismo e por isso permite a avaliação de doenças alérgicas como asma, rinite e dermatite, porém estas proteínas exercem outras funções importantes como na resposta imune aos parasitas, pelo que níveis aumentados podem ser indicativos deste tipo de infeções. (Hostoffer, R. W. *et. al.*, 2023)

O doseamento das IgE's é obtido pelo equipamento recorrendo a partículas de látex revestidas com anti-IgE humana com as quais vão aglutinar os Ac's presentes na amostra causando turvação que é lida por turbidimetria. O resultado espera-se < 100 UI/ml.

### **4.1.7. Metabolismo do Ferro**

#### **Ferro**

O ferro (Fe) desempenha um papel essencial no organismo, principalmente pela sua ligação à hemoglobina e mioglobina. A sua concentração é importante para a hematopoiese, sendo assim, a este estão associadas funções imprescindíveis para o funcionamento do organismo pelo que é importante manter a sua homeostasia. Os valores podem alterar em caso de dietas inadequadas, perda de sangue, hemólise ou até mutações genéticas. Valores

aumentados podem significar anemia hemolítica, hemocromatose ou doença hepática aguda, enquanto níveis baixos estão normalmente associados a anemia ferropénica. (Chifman, J. et al., 2014)

Os valores de referência do ferro sérico variam entre 50 e 170 µg/dl. Esta análise tem por base o método do ferene-S que cria um complexo estável com o ferro medido por espectrofotometria. O ensaio necessita de um tampão com pH ácido para permitir que todo o ferro se liberte da transferrina.

Para fazer um estudo mais detalhado do metabolismo do ferro é imprescindível a análise de outros parâmetros, como os seguintes:

### **Capacidade Não Saturada de Ligação do Ferro (UIBC)**

A capacidade não saturada de ligação do ferro (UIBC) permite avaliar qual a quantidade de ferro que a transferrina consegue armazenar de forma a saturar todos os locais de ligação disponíveis. Este valor está elevado em casos de níveis baixos de Fe. (Faruqi, A. et al., 2023)

Para avaliar a UIBC o analisador utiliza o método de ferene. É adicionado um tampão com uma concentração conhecida de ferro à amostra que vai ligar aos locais livres da transferrina, a quantidade que não liga é reduzida e complexada pelo ferene-S cuja cor é lida por espectrofotometria. Este doseamento é usado no cálculo da capacidade total de fixação do ferro.

### **Capacidade Total de Fixação de Ferro (TIBC)**

A capacidade total de fixação do ferro (TIBC) é importante para auxiliar o estudo do ferro e avaliar fundamentalmente as condições hematológicas. Esta determinação reflete os níveis de reservas corporais de ferro através da quantidade de transferrina. (Gottschalk, R. et al., 2000)

O resultado deste parâmetro é obtido efetuando o cálculo:  $TIBC = UIBC + Fe$ . Os valores de referência variam entre 120 e 480 µg/dl.

Através de cálculos também é obtido o valor de saturação da transferrina pela fórmula  $Ferro / TIBC \times 100$ , os resultados variam entre os valores de referência 20 e 50 %.

### **Transferrina**

A transferrina é uma proteína sintetizada no fígado, que faz o transporte de ferro e é responsável por maior parte da capacidade sérica de ligação ao Fe, dessa forma correlaciona-

se com o TIBC. A transferrina também é uma proteína negativa de fase aguda pelo que em caso de processo inflamatório os seus níveis estão diminuídos. (Gomme, P. T. *et. al.*, 2005)

A análise da transferrina é realizada com recurso a anticorpos (Ac's) anti-transferrina com os quais liga a transferrina presente na amostra. A turvação resultante é medida por turbidimetria. Os resultados têm como IR entre 173 e 360 mg/dl.

## **Ferritina**

A ferritina tem como função a reserva de ferro. Este armazenamento, que ocorre principalmente no fígado, permite evitar danos celulares devido à formação de radicais livres que acontece com a presença de ferro livre. A falta de ferro pode ser diagnosticada pela análise da ferritina uma vez que, para além desta depleção, apenas o hipotireoidismo e a deficiência de ascorbato podem diminuir o resultado desta proteína. Tem ainda utilidade para ajudar a diferenciar anemia ferropénica de anemia de doença crónica. É também uma proteína de fase aguda pelo que em caso de inflamação existe em maiores quantidades (Knovich, M. A. *et. al.*, 2009), o que pode levar a situações de anemia com valores elevados de ferritina.

Apesar de enquadrada nesta temática, a ferritina é avaliada no módulo de imunologia pelo método de imunoensaio quimioluminescente de micropartículas (CMIA) recorrendo a micropartículas revestidas de Ac antiferritina. A ferritina tem como valores de referência entre 12 e 150 ng/ml nas mulheres e entre 12 e 300 ng/ml nos homens.

### **4.1.8. Outros parâmetros**

#### **Título de Anti-estreptolisina O (ASLO)**

O doseamento do título de anti-estreptolisina O (ASLO) corresponde à determinação da concentração do Ac antitoxina estreptolisina-O, produzido contra a toxina do estreptococo  $\beta$ -hemolítico do grupo A. Quando afetado, o organismo produz Ac's específicos contra a toxina. O resultado desta análise auxilia no diagnóstico de infeções estreptocócicas e de condições associadas como a febre reumática. (Uçkay, I. *et. al.*, 2009)

O princípio de medição é reação de ligação entre antígeno e anticorpo em partículas de látex revestidas com estreptolisina-O, a aglutinação com o Ac causa turvação que é medida por turbidimetria. Os valores normais apresentam-se < 200 UI/ml.

## **Cálcio**

A maior parte encontra-se nos ossos, mas a forma iónica tem também outras funções como reduzir a excitabilidade neuromuscular, ativação de enzimas e coagulação sanguínea, esta forma biologicamente ativa é regulada pela hormona paratiroide (PTH) e pela vitamina D.

A hipercalcemia está associada a, por exemplo, hiperparatiroidismo e hipervitaminose D, enquanto a hipocalcemia faz diagnóstico diferencial de hipoparatiroidismo, hipoalbuminemia, insuficiência renal e pancreatite. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

O cálcio é quantificado pelo método do arsenazo II com o qual reage em meio ácido formando um complexo que é lido por espectrofotometria e cuja absorvância é proporcional à concentração do analito na amostra. Os resultados são expressos em mg/dl e o IR varia entre 8,4 e 10,2 mg/dl.

### **Fósforo**

O fósforo é encontrado majoritariamente nos ossos na forma de hidroxapatite, mas também na forma inorgânica e ésteres de fosfato. São várias as funções desempenhadas pelo fosfato desde o seu papel imprescindível para o metabolismo energético, à regulação do pH e produção de proteínas por ser constituinte dos nucleótidos. Os níveis no soro aumentam quando há hipervitaminose D, hipoparatiroidismo e insuficiência renal, e diminuem em casos de raquitismo, hiperparatiroidismo e síndrome de Fanconi. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

Para quantificar o fósforo recorre-se ao método do fosfomolibdato, no qual o fosfato inorgânico reage com o molibdato de amônio e forma um composto cuja absorvância é lida por espectrofotometria. No soro o IR é de 2,3 a 4,7 mg/dl e na urina entre 400 e 1300 mg/24h.

### **Magnésio**

O magnésio é essencial ao funcionamento do organismo pois está envolvido em várias funções bioquímicas sendo necessário como cofator para várias enzimas, nomeadamente envolvidas no processo de fosforilação oxidativa para a produção de energia. A hipomagnesémia tem como consequência a perturbação da função neuromuscular, intolerância aos hidratos de carbono e hipertensão, enquanto a hipermagnesémia tem como consequência hipotensão, bradicardia e entre outras condições. (Shigematsu, M. *et. al.*, 2018)

O ensaio baseia-se no método de espectrofotometria enzimática, uma vez que este ião é um cofator da isocitrato desidrogenase é medida a sua atividade pela formação de NADH que é proporcional à concentração de magnésio no soro. O IR varia entre 1,60 e 2,60 mg/dl.

### **Creatina Cinase (CK)**

A creatina cinase (CK) existe no organismo na forma de 3 isoenzimas citosólicas: CK-MB (do coração), CK-MM (do musculo esquelético) e CK-BB (do cérebro). A avaliação da atividade desta enzima no soro surge aumentada quando há lise celular dos tecidos anteriormente referidos, que provoca a libertação da enzima, pelo que é útil no diagnóstico e

tratamento de doenças ou condições que afetem o músculo esquelético, cardíaco ou tecido cerebral. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

Para avaliar a CK é utilizada a sua função cinase na reação de transferência do grupo fosfato da creatina fosfato para o difosfato de adenosina (ADP). O ATP produzido entra nas mesmas reações mencionadas para quantificar a glicose (descritas em 4.1.5), a taxa de absorvância lida é proporcional à atividade da CK na amostra. O IR varia entre 30 e 200 U/l.

### **Lactato Desidrogenase (LDH)**

A lactato desidrogenase (LDH) é uma enzima citoplasmática presente em vários tecidos, pelo que em termos clínicos trata-se de um parâmetro diversificado sendo marcador de doenças hepáticas, cardíacas, hemolíticas e patologias malignas. Apesar de não ser um marcador específico, auxilia a avaliação de outros parâmetros e a sua atividade aumentada no plasma indica lise celular. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

Os valores de referência situam-se entre 125 e 220 U/l e o método utilizado neste ensaio é a espectrofotometria enzimática uma vez que a LDH catalisa a oxidação do L-lactato em piruvato originando NADH, o aumento da absorvância é lido a 340 nm e proporcional à atividade da enzima na amostra.

## **4.2. Estudo Bioquímico da Urina**

O estudo da urina nesta área é realizado em dois aparelhos. Os parâmetros efetuados pelo Alinity são o doseamento dos seguintes compostos (cuja importância clínica foi referida no capítulo 4.1): ácido úrico, cálcio, fósforo, ionograma, creatinina, ureia, proteínas totais e microalbuminúria. Os doseamentos são realizados em urina de 24 horas, exceto a creatinina, microalbuminúria e proteínas totais que também podem ser analisadas em urina ocasional, de preferência na 1<sup>a</sup> da manhã.

Já a urina tipo II é uma análise efetuada em urina ocasional, que se baseia no método da refletância realizada no equipamento Aution Max AX 4060 (ARKRay<sup>®</sup>), é um analisador de tiras que fornece uma série de resultados desde cor, turvação, densidade, pH, como até presença de nitritos, proteínas, glicose, corpos cetónicos, bilirrubina, urobilinogénio e eritrócitos. A análise da urina tipo II permite avaliar essencialmente o funcionamento renal, mas também fornece informações do estado geral do organismo. Quando o resultado é considerado anormal procede-se à análise por microscopia ótica (MO) do sedimento urinário onde se registam, caso se observem, leucócitos, eritrócitos, células, cristais e substâncias amorfas. Este tipo de observação exigiu mais atenção às estruturas observadas uma vez que,

ao contrário de maior parte das observações que tinha realizado ao microscópio, esta é feita sem qualquer coloração prévia.

### **4.3.Módulo da Imunologia**

O módulo de imunologia do Alinity realiza várias análises que se baseiam em CMIA. Este método consiste em incubar a amostra e as micropartículas de forma a existir ligação do analito ao revestimento. Posteriormente, é adicionado um reagente que provoca uma reação quimioluminescente que permite realizar a medição. (Chen, X. *et. al.*, 2020)

#### **4.3.1. Avaliação da Função Tiroideia**

##### **TSH**

A tiróide é uma glândula endócrina cuja produção e libertação das hormonas é regulada pela hormona estimuladora da tiróide (TSH) sintetizada na hipófise anterior. Por sua vez, a produção e síntese da TSH é regulada pela hormona libertadora de tireotrofina (TRH), libertada pelo hipotálamo, em resposta a níveis baixos de tri-iodotironina (T3) e tetraiodotironina (T4).

No caso de hipotiroidismo primário a TSH está aumentada, pois como se trata de uma deficiência na glândula principal (a tiróide) ocorre uma hiperprodução pelo eixo hipotálamo-hipófise para tentar reverter esse decréscimo, pelo contrário, no hipotiroidismo secundário a TSH está diminuída, pelo que não se trata de uma insuficiência na tiróide. O mesmo raciocínio se aplica ao hipertiroidismo. (Spencer, C. A., 2023)

Esta hormona no soro varia entre 0,350 e 4,4940  $\mu\text{UI/ml}$  e no aparelho Alinity é realizado o ensaio por CMIA com micropartículas revestidas de Ac anti-TSH.

##### **T4 total e livre**

A T4 circula livre ou ligada à proteína transportadora globulina ligante de tiroxina (TBG), albumina e pré-albumina e fornece uma indicação da disfunção tiroideia uma vez que a tiroide é responsável por toda a quantidade de T4 produzida e apenas 20% da T3. Apenas a forma livre está fisiologicamente disponível e corresponde à % de hormona biologicamente ativa. (Spencer, C. A., 2023)

No soro o IR desta porção de T4 livre varia entre 0,70 e 1,48  $\text{ng/dl}$  e a T4 total entre 4,9 e 11,7  $\mu\text{g/dl}$ . Este ensaio é realizado por CMIA com micropartículas revestidas de Ac anti-T4 que liga a T4 livre, nos ensaios para determinar a T4 total é realizado um passo adicional de libertação da T4 dos locais de ligação.

### **T3 total e livre**

A T3 está tipicamente aumentada na Doença de Graves que resulta da presença de um Ac que se liga na tiroide ao recetor da TSH e o estimula permanentemente. O doseamento ajuda também a diferenciar as formas de hipertiroidismo e avaliar a gravidade do estado tirotóxico. Este doseamento dá uma estimativa das reservas da tiroide e permite avaliar a presença de doenças provenientes do défice de iodo. (Spencer, C. A., 2023)

Este parâmetro é realizado por CMIA com micropartículas revestidas de Ac anti-T3, o procedimento para dosear a T3 livre ou T3 total é igual ao aplicado e descrito para a T4. O T3 livre tem como IR valores entre 1,6 e 3,9 pg/ml e o T3 total entre 0,35 e 1,93 ng/ml.

### **Anti-TPO**

A patologia tiroideia autoimune pode resultar da presença de Ac antiperoxidase tireoidiana (anti-TPO) que reconhecem a TPO, enzima com função na síntese da T3 e T4 pela incorporação de iodo molecular. A produção destes autoanticorpos são uma das causas frequentes de hipotiroidismo (Tiroidite de Hashimoto). (Spencer, C. A., 2023)

A presença de Ac anti-TPO é realizada por CMIA com micropartículas revestidas de TPO. Os valores normais são < 5,6 UI/ml.

### **Anti-Tg**

Tal como os Ac's anti-TPO, os Ac's anti-tireoglobulina (anti-Tg) têm sido utilizados como indicadores da presença da doença de Hashimoto. Neste caso, há produção de anticorpos com afinidade para a tireoglobulina, composto unicamente produzido pela tiroide a partir do qual são sintetizadas as hormonas tiroideias. (Spencer, C. A., 2023)

O método utilizado é o CMIA com micropartículas revestidas de Tg. Os resultados esperam-se < 4,1 UI/ml.

#### **4.3.2. Marcadores Tumorais**

Os marcadores tumorais são substâncias cuja medição é utilizada para o diagnóstico, tratamento e acompanhamento de doenças cancerígenas. Estes parâmetros auxiliam na avaliação da presença, localização e progressão da doença maligna, porém o diagnóstico definitivo tem de ser interpretado com outros exames, devido à sua baixa especificidade.

## **Alfa fetoproteína**

A alfa fetoproteína é sintetizada no fígado e saco vitelino do feto. Durante a gravidez atinge o pico no soro fetal à 14ª semana e no materno durante o terceiro trimestre, depois entra em declínio. Níveis elevados surgem frequentemente associados a patologias hepáticas, em caso de situações benignas os níveis devem ser inferiores a 200 µg/l, pelo contrário, valores acima de 1000 µg/l podem indicar doenças malignas, exceto se se tratar de gravidez. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

É utilizado o método de CMIA com micropartículas revestidas de Ac anti-alfa fetoproteína e o resultado de referência é < 8,8 ng/ml.

## **CA 19.9**

O antígeno (Ag) cancerígeno 19.9 (CA 19.9) está associado a tumores gastrointestinais como do pâncreas, colorretal, gástrico e hepático. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

O método recorrido é o CMIA com micropartículas revestidas de 1116-NS-19-9. (Arends, J. W. *et. al.*, 1983) Os níveis considerados normais encontrados no soro são < 37 UA/ml.

## **CEA**

A análise do Ag carcinoembrionário (CEA) tem sido usada para seguir pacientes com tumores colorretais, pulmonares, gástricos, da mama, pancreáticos e dos ovários, sendo útil para avaliar o estadio da patologia. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

Esta análise é realizada por CMIA com micropartículas revestidas de Ac anti-CEA. Resultados < 5 ng/ml estão dentro do limite de referência.

## **CA 125**

O Ag cancerígeno 125 (CA 125) é um marcador de cancro do ovário, mas que também se pode revelar elevado em caso de tumores do endométrio para os quais é útil para avaliar o prognóstico. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

O método utilizado pelo Alinity é CMIA com micropartículas revestidas de Ac OC125. O limite de referência é < 35 UA/ml.

## **PSA total e livre**

O Ag específico da próstata (PSA) é produzido pelas células epiteliais da próstata e tem como função a clivagem proteica, permitindo a liquefação do sémen para onde é segregado, mas também se encontra na urina e sangue. Aumentos séricos são encontrados na

presença de patologia prostática como prostatite, hiperplasia benigna da próstata (HBP) e carcinoma. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

Apesar do aumento do valor de PSA total e livre estar claramente relacionado com patologias da próstata, a dimensão desse acréscimo está fracamente relacionada à patologia maligna, pelo que outros estudos, como histológicos, são necessários para fazer o diagnóstico. (Vezyraki, P. *et. al.*, 2019)

Segundo a Norma nº 060/2011 da DGS atualizada a 13/07/2017 a periodicidade de controlo dos valores varia consoante os resultados. Níveis de PSA totais < 2,5 ng/ml devem realizar o controlo de 2 em 2 anos, e entre 2,5 e 4 ng/ml anualmente. Entre 4 e 10 ng/ml deve realizar-se a determinação da % livre que, se < 25 % deve ser encaminhado a consulta de especialidade, tal como no caso de valores > 10 ng/ml para o PSA total.

O método em que se baseia esta análise é o CMIA com micropartículas revestidas de Ac anti-PSA livre ou Ac anti-PSA para determinar a concentração total.

### **4.3.3. Doenças Congénitas por agente infeccioso**

#### **Citomegalovírus**

A infeção congénita viral mais comum é o citomegalovírus (CMV). Em indivíduos adultos imunocompetentes não causa complicações, contudo quando se trata de uma mulher grávida é necessário fazer vigilância pois caso ocorra transmissão da infeção ao feto podem gerar-se problemas como hepatite, trombocitopenia e envolvimento do sistema nervoso central. Durante a infeção inicial por CMV a IgM aumenta em cerca de 1 a 2 semanas, diminuindo até aos 4 meses. Os níveis de IgG são detetáveis 2 semanas após a infeção, atingindo o pico entre os 2 e 3 meses e mantém-se positiva. (Wang, H. *et. al.*, 2023)

A análise é realizada por CMIA com micropartículas revestidas de Ag de CMV e posteriormente são adicionados Ac's marcados contra a imunoglobulina (Ig) pretendida. Consideram-se resultados positivos se IgG > 6,0 UA/ml. Quanto à IgM o resultado é não reativo se < 0,85 UA/ml, borderline entre 0,85 e 1,00 UA/ml e reativo se > 1,00 UA/ml.

#### **Rubéola**

O vírus da rubéola é conhecido por causar doença infetocontagiosa que afeta principalmente crianças, sendo uma das causas principais de morte infantil. Também as grávidas podem ter complicações incluindo abortos, pelo que é importante a prevenção. A nível laboratorial o diagnóstico é realizado pelos níveis de IgM que indicam o início de infeção (positivo por 2 meses), já os níveis de IgG aumentam consideravelmente entre a fase aguda e a convalescência. (Krawiec, C. *et. al.*, 2023)

O método utilizado é CMIA com micropartículas revestidas de Ag de vírus da rubéola e Ac's anti-IgG ou anti-IgM humana marcados. Os resultados são avaliados consoante o IR a que corresponda o valor. Quanto à IgG se  $\geq 10,0$  UI/ml é positivo, entre  $\geq 5,0$  e  $< 10,0$  UI/ml os valores encontram-se na zona cinzenta, se  $< 5,0$  UI/ml o resultado é negativo. O valor da IgM permite interpretar qual o significado da presença, caso aconteça, de IgG. Se a IgM for positiva trata-se de uma infeção aguda, a confirmar pelo teste de avidéz da IgG.

### **Toxoplasmose**

A toxoplasmose é uma doença causada pelo agente etiológico *Toxoplasma gondii*, parasita intracelular oportunista em indivíduos imunodeprimidos. Apesar de a infeção ser geralmente assintomática nos adultos, a ocorrência de primoinfeção nas grávidas pode levar a toxoplasmose congénita o que representa riscos para o feto, por este motivo é comum fazer-se a vigilância durante a gestação. O estudo realizado é a análise dos níveis serológicos de Ac's IgG e IgM, na qual a positividade da IgM acontece no início da infeção e a IgG positiva mais tarde, caso ambas apresentem valores acima do cutoff é pedido o teste de avidéz para datar a infeção. (Zhang, K. et. al., 2016)

Para detetar estes Ac's o aparelho utiliza a técnica de CMIA com micropartículas revestidas de Ag de *Toxoplasma gondii* e de seguida adiciona Ac's anti-IgG ou Ac's anti-IgM humana marcados. Os resultados são reportados como positivos para a IgG se  $\geq 3$  UI/ml, dentro da zona cinzenta se variar entre  $\geq 1,6$  e  $< 3,0$  UI/ml e negativos se  $< 1,6$  UI/ml. A análise da IgM indica se está ou não a ocorrer infeção.

#### **4.3.4. Doenças Víricas**

##### **Hepatite B**

O vírus da hepatite B (HBV) pode ser transmitido por via percutânea, vertical e sexual. Após o contacto com o vírus é difícil prever qual a clínica uma vez que pode ocorrer hepatite aguda com bastantes complicações ou até hepatite crónica assintomática. Para esclarecer a presença ou não do vírus e o estado da infeção são importantes as análises serológicas laboratoriais. O Ag HBs faz parte da superfície do vírus pelo que é o primeiro marcador detetável na fase aguda. A resposta humoral à presença deste Ag leva à produção do Ac anti-HBs, este parâmetro é requisitado para avaliar a imunização contra a hepatite B, a diminuição dos valores permite também monitorizar a convalescença e recuperação após a infeção. A pesquisa de Ac's anti-HBc também ajuda a datar a infeção dependendo da classe que predomina, pois, até aos 4 meses é superior o título de IgM, de seguida ocorre a

seroconversão para IgG que podem persistir a vida toda, mesmo após a resolução completa da infecção. (Dény, P. *et. al.*, 2010)

Estes parâmetros são todos avaliados por CMIA no aparelho Alinity. No caso do Ag HBs o reagente é constituído por micropartículas revestidas de Ac anti-HBs, para detetar o Ac anti-HBs usa micropartículas revestidas de Ag HBs e para analisar a presença de Ac's anti-HBc recorre a micropartículas revestidas de Ag HBc. O limite cutoff para considerar positivo para o Ag HBs é 1,00 S/CO, o Ac anti-HBs indica imunidade caso  $\geq 10$  mUI/ml e o Ac anti-HBc é positivo se  $\geq 1$  S/CO.

Todos os resultados de Ag's HBs positivos são de notificação obrigatória.

## **Hepatite C**

Quando um indivíduo entra em contacto com o vírus da hepatite C (HCV) cerca de 75% dos infetados desenvolve doença crónica com progressão lenta e silenciosa que pode levar a carcinoma ou cirrose hepatocelular. (Pérez-García, A. *et. al.*, 2019) O diagnóstico da infecção é comum pela deteção do Ac anti-HCV, quando positivo são necessários testes confirmatórios de ácido ribonucleico (RNA), com notificação obrigatória.

A realização deste ensaio efetua-se por CMIA com micropartículas revestidas de Ag HCV. O resultado é confirmado como positivo se  $\geq 1$  S/CO.

## **HIV**

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) causa imunodepressão que pode progredir a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) e afeta cerca de 40 milhões de pessoas a nível mundial pelo que o seu rastreio, diagnóstico e acompanhamento laboratorial são essenciais. Para detetar a presença de HIV (tipo I e tipo II) podem-se realizar ensaios serológicos, que pesquisam Ac's específicos de resposta à infecção, ou testes de deteção direta de Ag do vírus, como é o caso do Ag da cápside p24. (Yılmaz, G., 2001)

No LSM realiza-se um ensaio por CMIA combo que faz a análise simultânea de Ac HIV I/II e do Ag p24, neste caso as micropartículas magnéticas são revestidas de Ag HIV I/II e Ac contra o p24. O resultado do ensaio é considerado positivo se  $\geq 1,0$  S/CO. Todos os testes positivos são confirmados com um teste de western-blot (teste confirmatório), sendo de notificação obrigatória.

#### 4.3.5. Estudo Hormonal

##### **$\beta$ -hCG**

A gonadotropina coriônica humana ( $\beta$ -hCG) é libertada pelas células da placenta depois da implantação do óvulo na parede do útero, o seu aumento rápido faz da hCG o melhor marcador de gravidez. (Kuo, H.-T. *et. al.*, 2012)

O ensaio realizado pelo Alinity para obter este resultado envolve o método CMIA com micropartículas revestidas de Ac anti- $\beta$ -hCG. Valores dentro dos limites de referência são < 5 U/l.

##### **Estradiol**

O estradiol é um estrogênio natural que regula a função reprodutora feminina, segregado maioritariamente pelos ovários. Trata-se de um indicador da função ovárica permitindo detetar amenorreias, puberdade precoce, menopausa e infertilidade pois os seus níveis ficam alterados durante estas transições hormonais. (Rieder, J. K. *et. al.*, 2020)

A quantificação de estradiol é realizada por CMIA com micropartículas revestidas de Ac antiestradiol. Nos homens os valores têm como limite superior de referência 44 pg/ml e nas mulheres varia de acordo com o período do ciclo menstrual (Fase folicular: entre 21 e 251 pg/ml; Pico ovulatório: entre 38 e 649 pg/ml; Fase lútea: entre 21 e 312 pg/ml; Pós menopausa: < 28 pg/ml).

##### **LH**

A hormona luteinizante (LH) é segregada pela hipófise em resposta à hormona libertadora de gonadotropinas e atua principalmente no ovário com a função de regular a ovulação. Desta forma, permite fazer uma previsão da ovulação, avaliação de infeção e distúrbio da hipófise ou gónadas. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

O método ao qual recorre o Alinity para quantificar a LH é CMIA com micropartículas revestidas de Ac antissubunidade  $\beta$  da LH e um conjugado de anticorpos anti-subunidade  $\alpha$  da LH de modo a aumentar a especificidade do ensaio. O IR para as mulheres varia com a fase do ciclo (Fase folicular: entre 1,8 e 11,8 U/l; Pico ovulatório: entre 7,6 e 89,1 U/l; Fase lútea: entre 0,6 e 14,0 U/l; Menopausa: entre 5,2 e 62,9 U/l), já nos homens os valores normais estão entre 0,6 e 12,1 mUI/ml.

## **FSH**

A hormona folículo-estimulante (FSH), juntamente com a LH, controla as atividades reprodutoras das gónadas tanto femininas quanto masculinas. Alterações dos valores desta hormona podem significar problemas associados à saúde reprodutiva, porém para interpretar adequadamente os resultados e fazer um diagnóstico mais preciso é importante obter mais informações clínicas com testes complementares. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

O ensaio para a análise da FSH é realizado por CMIA com micropartículas revestidas de Ac antissubunidade  $\beta$  da FSH e posteriormente é adicionado Ac's antissubunidade  $\alpha$  da FSH marcados, de forma a aumentar a especificidade. Os valores nos homens variam entre 1,0 e 12,0 mIU/ml, enquanto nas mulheres depende da fase (Fase folicular: entre 3,0 a 8,1 U/l; Pico ovulatório: entre 2,6 e 16,7 U/l; Fase lútea: entre 1,38 e 5,50 U/l; Menopausa: entre 26,7 e 133,4 U/l).

## **Progesterona**

A progesterona é um indicador de ovulação cujo declínio conduz à infertilidade ou aborto espontâneo. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

A análise da progesterona realiza-se por CMIA numa reação de competição entre a progesterona da amostra e o complexo de Ac antifluoresceína-fluoresceína-progesterona para ligar ao conjugado de Ac antiprogesteron marcado. O limite superior para homens é 0,5 ng/ml enquanto para as mulheres depende da fase (Fase folicular: entre 0,2 e 1,5 ng/ml; Pico ovulatório: entre 0,8 e 3,0 ng/ml; Fase lútea: entre 1,70 e 27,0 ng/ml; Menopausa: entre 0,15 e 0,80 ng/ml).

## **Prolactina**

A prolactina exerce a sua principal função sobre a glândula mamária permitindo a sua proliferação e estimulando a síntese e excreção de leite, para além deste papel também regula a secreção de hormonas sexuais. Assim, níveis desregulados de prolactina podem conduzir a alterações na amamentação, irregularidades menstruais e infertilidade. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

Este ensaio é realizado por CMIA com micropartículas revestidas por Ac anti-prolactina. Os IR variam, sendo entre 5,2 e 26,5 ng/ml para mulheres e entre 3,5 e 19,4 ng/ml para homens.

## **Testosterona**

A testosterona é uma hormona que exerce um papel fundamental no desenvolvimento das características secundárias masculinas e no desenvolvimento e função normal dos órgãos sexuais. Diminuições dos níveis produzidos podem causar disfunção erétil, mas também alteração da massa muscular com aumento da gordura corporal e redução da densidade óssea. (McBride, J. A. *et. al.*, 2015)

A quantificação da testosterona é realizada por CMIA com micropartículas revestidas de Ac anti-testosterona. Os resultados variam com a idade e sexo da pessoa, dos 21 aos 50 anos o IR para homens é 8,33 a 30,19 nmol/l e para mulheres 0,48 a 1,85 nmol/l. A partir dos 50 anos já se considera o IR de 7,66 a 24,82 nmol/l para homens e de 0,43 a 1,24 nmol/l para mulheres.

## **PTH**

A paratormona intacta (PTHi) é uma hormona de regulação óssea e do metabolismo mineral, segregada pela paratiroide para o sangue onde é clivada. A análise da PTHi reflete a parte biologicamente ativa, cuja função é regular o cálcio sérico, respondendo por feedback a baixos níveis sanguíneos do catião. Para manter os níveis de cálcio sanguíneo a PTH ativa mecanismos como o aumento da absorção, diminuição da eliminação na urina e mobilização do osso. Assim, a concentração desta hormona permite fazer o diagnóstico diferencial e monitorização de hiper e hipocalcemia e avaliar distúrbios da paratiroide. (Rifai, N. *et. al.*, 2018)

A PTH é doseada por CMIA com micropartículas revestidas de Ac anti-PTH. O resultado da PTH varia com a idade devido ao desenvolvimento ósseo, o IR para um adulto varia entre 15,0 e 68,3 pg/ml.

### **4.3.6. Vitaminas**

#### **Vitamina D**

A vitamina D é produzida na pele quando ocorre exposição à luz solar. As suas funções principais são permitir a homeostase do cálcio pelo que é um parâmetro associado à saúde óssea. Níveis baixos de cálcio estimulam a paratiroide a produzir paratormona (PTH) que leva o rim a converter o precursor da vitamina D na sua forma ativa, o calcitriol. Este por sua vez atua no intestino para estimular a absorção de cálcio de forma a repor os níveis séricos. (Chang, S. W. *et. al.*, 2019)

Segundo a Norma nº 004/2019 da DGS, num adulto é considerada insuficiência de vitamina D quando os resultados se encontram entre 20 e 30 ng/ml e deficiência para valores

inferiores a 20 ng/ml. Estes valores, no LSM, são obtidos pela realização de um ensaio de CMIA com micropartículas revestidas de Ac antivitamina D.

## **Vitamina B12**

A vitamina B12 é obtida através da dieta, sendo o fator intrínseco segregado pelo estômago uma das proteínas importantes para a sua absorção. Uma das suas funções principais no organismo é participar na reação de síntese da forma ativa do folato com a metilação da homocisteína a metionina, o que explica ser comum a diminuição de ambas as vitaminas na anemia megaloblástica. Outra reação enzimática dependente da vitamina B12 ocorre na mitocôndria e diz respeito à conversão do L-metilmalonil CoA a succinil CoA. Por isso, é útil recorrer à avaliação dos níveis de homocisteína e ácido metilmalónico no plasma. (Moll, R. et. al., 2017)

Os valores variam entre 187 e 883 pg/ml, sendo que o valor recomendado é superior a 400 pg/ml. O ensaio é realizado com micropartículas revestidas de fator intrínseco por CMIA.

## **Ácido Fólico**

O ácido fólico tem como função transferir unidades de carbono simples. A falta de folato pode surgir devido a dieta inadequada, má absorção ou pela administração de drogas. Este decréscimo causa problemas metabólicos e clínicos devido ao seu papel essencial na síntese de DNA e na metilação, necessárias à produção celular, que muitas vezes se manifesta em neuropatias e anemias. (Moll, R. et. al., 2017)

Os resultados no soro variam em condições normais entre 3,5 e 20,0 ng/ml, os valores são obtidos por CMIA com micropartículas revestidas de proteínas de ligação aos folatos.

### **4.4.AEQ e CQI**

O estágio no setor técnico da bioquímica reforçou a minha aptidão em executar e interpretar cartas de CQI e AEQ.

No Alinity o CQI é realizado diariamente com a análise de 2 ou 3 níveis de controlos, normal e patológico ou baixo, médio e alto. Quanto à análise da HGB A1c o CQI é realizado numa *rack* específica de controlo (para avaliar os 8 capilares) com dois níveis uma vez por semana, e nos restantes dias do mês o CQI realiza-se numa *rack* de amostras seguindo um esquema presente no procedimento do LSM que permite controlar todos os capilares com os dois controlos utilizando um por dia durante o mês.

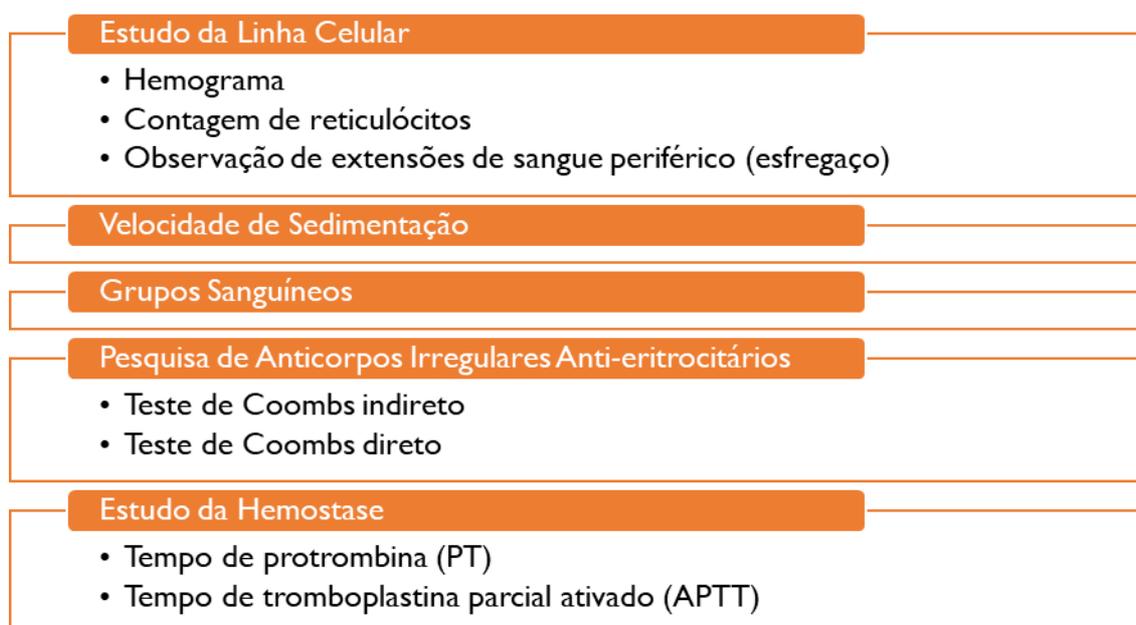
O fornecimento de amostras para o AEQ é mensal e da responsabilidade dos Laboratórios Randox no âmbito do programa RIQAS. São avaliados os testes de Química Clínica, Imunoensaio, Proteínas Específicas e Urina.

## 5. Hematologia

A área da hematologia debruça-se no estudo das células do sangue permitindo identificar alterações relacionadas a patologias dos eritrócitos, leucemias e plaquetas, assim como distúrbios da hemostase.

A amostra que se utiliza é o sangue total ou plasma obtido por punção venosa. A colheita é realizada em tubos com anticoagulante que varia conforme a análise pretendida. O sal de tripotássio de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) é um quelante de iões que capta o cálcio necessário para a cascata da coagulação, permitindo assim a contagem das células e o seu estudo morfológico, contudo este por vezes causa falsas trombocitopenias, como alternativa é feita a contagem utilizando o citrato de sódio, uma vez que minimiza a agregação das plaquetas (Weber, D. et. al., 2021).

Na figura 4 seguem listadas as várias análises e técnicas com as quais contactei durante o estágio na área da hematologia.



**Figura 4** - Lista das análises e técnicas realizadas na área de Hematologia.

Neste setor, à medida que fui acompanhando e realizando os testes acima descritos, foime também permitido adquirir prática na realização e observação de extensões de sangue periférico com contagem diferencial dos leucócitos (formula leucocitária) e avaliação morfológica dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Foi importante conhecer os critérios de confirmação de resultados, fornecidos por citometria, com observação microscópica, e os valores críticos (resultados com obrigação de avisar no próprio dia), assim como saber os cuidados a ter com as amostras e como realizar as manutenções dos aparelhos.

## **5.1.Hemograma**

A determinação do hemograma permite uma análise quantitativa e qualitativa das células sanguíneas e é imprescindível para estudar possíveis patologias do foro hematológico.

O equipamento usado no LSM é um Autoanalisador de Hematologia Cell Dyn Ruby (Abbott®). O princípio de medida do aparelho é a citometria de fluxo que permite efetuar as contagens celulares. Este método baseia-se na passagem de um fluxo único de células por um feixe de laser. A diferente composição das células e os seus diferentes tamanhos bem como a relação de tamanho núcleo/citoplasma provoca dispersões na luz do laser que são detetadas e utilizadas para distinguir cada célula. O aparelho realiza também medições por espectrofotometria para dosear a hemoglobina.

O resultado de um hemograma inclui diversos parâmetros, tanto de determinação direta como determinados através de cálculos. Os valores de referência utilizados no LSM foram definidos a partir da Norma 063/2011 da DGS.

No referente à população de eritrócitos são medidos os seguintes 3 parâmetros:

### **RBC**

É determinada, por citometria, a contagem de eritrócitos (RBC) expressa em:

$$\text{RBC} = \# \times 10^6 / \mu\text{l}.$$

O valor de referência varia entre  $4,31-6,40 \times 10^{12} / \text{l}$  para homens e  $3,85-5,20 \times 10^{12} / \text{l}$  para mulheres.

### **HGB**

A hemoglobina (HGB) é determinada espectrofotometricamente e expressa em g/dl.

O valor de referência também varia com o género, 13,6-18,0 g/dl para homens e 11,5-16,0 g/dl para mulheres. A determinação deste parâmetro é usualmente utilizada para o diagnóstico de anemia, que é definida pela diminuição dos valores de HGB abaixo do normal. (Buttarelli, M., 2016)

### **MCV**

O volume globular médio (MCV) resulta da avaliação por citometria do volume médio da população de eritrócitos e é indicado em fl. Este resultado permite ter o conhecimento se os eritrócitos são microcíticos, normocíticos ou macrocíticos, se tiverem um tamanho reduzido, normal ou elevado, respetivamente.

Considera-se normal um valor entre 80,0-97,0 fl. Os eritrócitos são macrocíticos quando se apresentam valores de MCV superiores a 100 fl, causas mais comuns são alcoolismo, falta de vitamina B12 e ácido fólico (Kaferle, J. et. al., 2009). A microcitose descreve eritrócitos com volumes inferiores a 80 fl, que podem resultar mais frequentemente de anemia por deficiência de ferro, doenças crônicas ou  $\beta$ -talassémia. (Buttarelli, M., 2016)

São avaliados por cálculos os seguintes 3 parâmetros:

### **HTC**

Dos dois últimos parâmetros é avaliado o hematócrito (HTC) que representa a razão entre o volume dos eritrócitos e o sangue total. Assim, resulta do cálculo:  $HTC \% = (RBC \times MCV) / 10$  e espera-se diminuído em casos de anemia.

Utiliza-se como valores de referência 39,8-52,0 % para homens e 34,7-46,0 % para mulheres.

### **MCH**

A hemoglobina globular média (MCH) é a quantidade média de hemoglobina presente em cada célula, expressa em pg e calculada através de:  $MCH = (HGB/RBC) \times 10$ .

Este parâmetro pode variar entre 26,0-34,0 pg.

### **MCHC**

A concentração média de hemoglobina globular (MCHC) resulta da razão entre a concentração de HGB e o volume médio de eritrócitos totais. É calculada com a fórmula:  $MCHC = (HGB/HCT) \times 100$  e expressa em g/dl.

Varia entre 32,0-36,0 g/dl e em termos de análise morfológica permite observar células menos coradas (hipocrômicas) ou com mais concentração de hemoglobina (hipercrômicas) como é o caso, por exemplo, dos esferócitos. (Buttarelli, M., 2016)

### **RDW**

A dispersão do volume eritrocitário (RDW) representa a variação de tamanho das células. O equipamento considera este parâmetro equivalente ao coeficiente de variação e expressa o resultado em %.

Aceita-se como normal existir uma variação entre 11,5-15,0 % no tamanho dos eritrócitos no sangue periférico.

Em relação às plaquetas são emitidos 3 resultados: contagem total das plaquetas (PLT), volume plaquetar médio (MPV) e a dispersão do volume plaquetar (PDW). O número de plaquetas no sangue é esperado situar-se entre  $140-440 \times 10^9/l$ .

Quanto aos leucócitos é feita a sua contagem total (WBC) que varia entre  $4,0-10,0 \times 10^9 /l$  e de cada tipo de células desta população, nomeadamente neutrófilos (NEU) num IR entre  $1,5-8,0 \times 10^9 /l$ , linfócitos (LYM) entre  $0,8-4,0 \times 10^9 /l$ , monócitos (MONO) até  $1,2 \times 10^9 /l$ , eosinófilos (EOS) e basófilos (BASO) até  $0,3 \times 10^9 /l$ .

Toda esta informação fornecida pelo equipamento é utilizada para criar histogramas. A par do resultado do hemograma são mostrados no monitor do equipamento 4 histogramas que revelam informação tanto sobre os leucócitos, permitindo a visualização de diferentes populações de células, como sobre os eritrócitos e plaquetas, onde se avalia a sua homogeneidade.

Foram elaborados critérios de aceitação dos resultados (Tabela 2) que vão definir se a amostra permanece com o resultado, se é necessário repetir o hemograma ou fazer um esfregaço, e posterior observação microscópica após coloração por Wright.

**Tabela 2** - Critérios de confirmação aplicados na área de Hematologia no LSM.

CRITÉRIO		AÇÃO
HGB	< 8,0 g/dl	Urgente avisar Diretor
WBC	> 17,0 x 10 <sup>9</sup> /l	Urgente avisar Diretor
PLT	< 30 x 10 <sup>9</sup> /l ou >1000	Urgente avisar Diretor

\*Valores Críticos

Suspeita de existência de:

Band, Ig, Varlym, Blast*	Corar Lâmina
Plaquetas agregadas	Repetir colheita (EDTA + Citrato)

HGB	< 10,0 g/dl	Corar se 2 critérios ou se MCV > 105 fl ou se RDW >15 %
MCH	< 27,0 pg	
MCV	< 76 / > 105 fl	

HGB	< 12,0 / > 17,0 g/dl	Repetir Hemograma
MCHC	< 31,0 / > 35,0 g/dl	Repetir Hemograma

Leucócitos	> 14,0 x 10 <sup>9</sup> /l	Corar Lâmina
% NEU	> 85 %	Corar Lâmina
% MONO	> 14 %	Corar Lâmina
% EOS	> 15 %	Corar Lâmina
% BASO	> 2 %	Corar Lâmina

PLT	< 130 ou > 1000 x 10 <sup>9</sup> /l	Corar Lâmina
-----	--------------------------------------	--------------

\*A suspeita de existência de “Band, Ig, Varlym, Blast” inclui células com características de imaturidade ou alterações anormais.

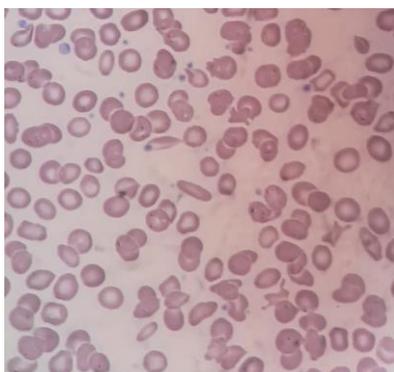
### 5.1.1. Observação de extensões de sangue periférico (esfregaços)

Quando os resultados obedecem a algum critério que exija fazer um esfregaço utiliza-se o corador de lâminas Hema-Tek (Bayer®). Este equipamento realiza a coloração de Wright que é uma técnica amplamente utilizada nos laboratórios de hematologia para o estudo da morfologia do sangue periférico por MO pois permite visualizar e diferenciar os diferentes tipos de células sanguíneas. É produzida por este corante uma aparência rosada/alaranjada nos glóbulos vermelhos, já os leucócitos e plaquetas apresentam um citoplasma azul-acinzentado e o núcleo azul-arroxeadado, dependendo do tipo de células. (Dunning, K. et. al., 2011)

Varição do tamanho	Distribuição da Hemoglobina	Variação da Forma	
Normal	Hipocromia 1+	Célula em Alvo	Acantócito
Micrócito	2+	Esférico	Esquizócito
Macrócito	3+	Ovalócito	Esquizócito (fragmentos de células)
Macrócito Oval	4+	Estomatócito	Dacriócito
Macrócito Hipocrômico	Policromasia (Reticulócito)	Célula Falciforme	Equinócito

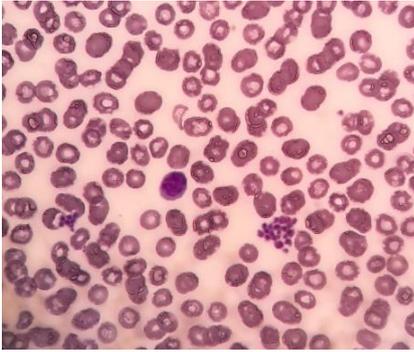
A observação dos esfregaços é feita essencialmente para verificar a presença de agregados plaquetários e confirmar a fórmula leucocitária dada pelo equipamento, assim como para detetar células imaturas, ou com alterações como granulações tóxicas ou sinais de reatividade (linfócitos ativados) e detetar anormalidades na forma, tamanho e coloração dos eritrócitos, tal como exemplifica o esquema seguinte (Figura 5).

**Figura 5** - Esquema ilustrativo das alterações morfológicas dos eritrócitos: adaptado de (K.T. et. al, 2022).



Na figura 6 pode-se observar a cor rosa dos eritrócitos e azul-acinzentada das plaquetas. São visíveis alterações de forma importantes de descrever nos resultados da análise como é o caso das células em forma elíptica, denominadas eliptócitos, e células com projeções na membrana chamados acantócitos. Estes achados indicam a presença de uma patologia hematológica.

**Figura 6** - Imagem de um esfregaço com eliptócitos e acantócitos, analisado no LSM.



Na figura 7 vê-se um leucócito, neste caso um linfócito (célula central na figura). À direita é visível um agregado plaquetário que, a par do satelitismo, muitas das vezes são as causas das pseudotrombocitopenias detetadas pelo aparelho. Uma vez que a colheita e o anticoagulante usado podem afetar a contagem, o procedimento a adotar é repetir a colheita com citrato. (Lardinois, B. et. al., 2021)

**Figura 7** - Imagem de um esfregaço com um linfócito e plaquetas agregadas, analisado no LSM.

## 5.2. Contagem de Reticulócitos

Os reticulócitos são as células imediatamente precursoras dos eritrócitos. Já são completamente desprovidos de núcleo, porém ainda contêm ácido ribonucleico (RNA). Com a coloração de Wright o RNA não é distinguível e por citometria o aparelho não é capaz de os diferenciar, pelo que a contagem de reticulócitos necessita que a amostra seja preparada manualmente diluindo um pequeno volume em um tubo com azul de metileno, corante básico que permite corar as estruturas ácidas intracelulares.

Este número é importante em termos clínicos pois espelha a função da medula óssea na produção de glóbulos vermelhos. Os números são, por norma, elevados em casos de anemia hemolítica ou por falta de ferro em regeneração (fisiológica ou terapêutica), uma vez que há uma tentativa do organismo de compensar esta condição. (Piva, E. et. al., 2015) O IR em % é de 0,9 a 2,4 % e em contagem entre 25 e 85  $\times 10^9/l$ .

## 5.3. Velocidade de Sedimentação

A taxa de hemossedimentação no LSM é medida no aparelho Desaga S 2000 (Sarstedt®) em tubos com citrato de sódio. Esta análise mede a distância, em milímetros, de deposição dos glóbulos vermelhos num tubo vertical com determinado comprimento e num espaço de tempo definido (1 hora). Este princípio de medida utilizado é o método de Westergren modificado que se baseia no teste padrão, utilizando um tubo de medição mais longo de forma a fazer uma leitura mais precisa. A leitura é feita através da transmissão de infravermelhos pelo que é importante a correta colocação do código de barras de identificação do utente de forma a não impedir a incidência do feixe ao longo do tubo.

Os resultados da velocidade de sedimentação (VS) têm valores de referência inferiores a 30 mm/h e quando elevados podem ser indicativos de um processo inflamatório. Tal acontece devido às proteínas de fase aguda produzidas em grande quantidade durante estes processos

que aceleram a agregação dos eritrócitos e conseqüentemente a sua deposição. (Tishkowski, K. *et. al.*, 2023)

#### **5.4. Grupos Sanguíneos**

A determinação do tipo de grupo sanguíneo é importante para prevenir incompatibilidades sanguíneas nas transfusões. Este teste é um dos que implica maior trabalho manual neste setor. No LSM usa-se a técnica de reação de aglutinação em gel com card's da Bio-Rad®, estes são compostas por microtubos que permitem identificar os antígenios à superfície das células uma vez que aglutinam com os anticorpos presentes no gel. Com este método é possível classificar segundo o sistema ABO e Rh. (de la Flor Weiss, E. *et. al.*, 2005)

Para um resultado inequívoco são realizadas duas provas. A prova direta nas cartas DiaClon ABO/DVI- que utiliza anticorpos anti-A, anti-B, anti-AB e anti-D que se ligam aos Ag's dos eritrócitos no caso da sua existência. E a prova sérica, nas cartas NaCl, Enzyme Test and Cold Agglutinins onde o plasma do doente é testado contra eritrócitos conhecidos A<sub>1</sub> e B. Para validar os resultados estas duas provas não podem ser discrepantes, caso aconteça a amostra é enviada ao Instituto Português do Sangue e da Transplantação (IPST).

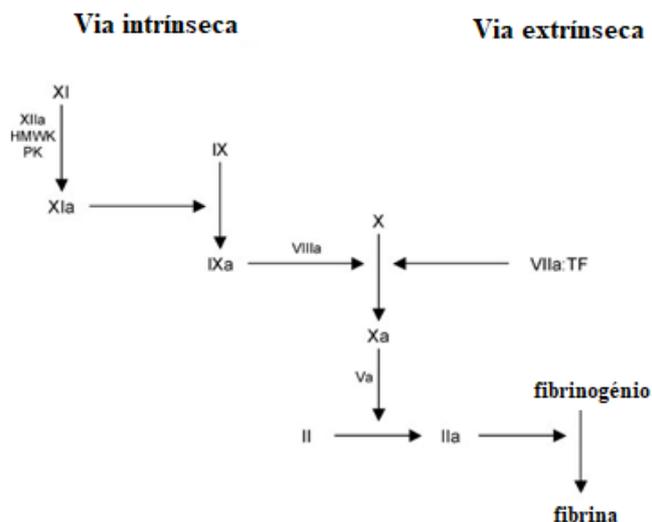
#### **5.5. Pesquisa de Anticorpos Irregulares Anti-eritrocitários**

Esta prova deteta a presença de anticorpos anti-eritrocitários. A requisição deste teste é mais frequente nas grávidas para avaliar a existência de Ac's maternos no soro da mãe contra Ag's dos eritrócitos fetais e também em suspeitas de anemias autoimunes. No teste de Coombs indireto avaliamos a presença dos Ac's no soro do doente. Já no Coombs direto é testada na amostra de sangue a presença de Ac's que estejam a revestir as hemácias o que provoca o processo de aglutinação e conseqüentemente anemia hemolítica. (Theis, S. R. *et. al.*, 2023)

Para realizar estas análises o LSM utiliza os card's ID-Card LISS/Coombs (Bio-Rad®) onde ocorre o processo de aglutinação em gel, o qual contém anti-IgG de coelho e anti-C3d, permitindo detetar anemias autoimunes provocadas por fixação à membrana dos eritrócitos de IgG's e/ou complemento C3d. Os resultados são observados macroscopicamente e reportados como positivo ou negativo. Caso o teste de Coombs seja positivo a amostra é enviada ao IPST para identificação e titulação dos Ac's envolvidos.

## 5.6. Estudo da Coagulação

A hemostase é o mecanismo fisiológico que atua para impedir hemorragias e reestabelecer a integridade do sistema vascular. Este processo pode ser dividido em 3 fases: hemostase primária, coagulação e fibrinólise. A nível clínico os testes e estudos da coagulação baseiam-se no modelo clássico que dividem este processo em via intrínseca e extrínseca, como representado no esquema da Figura 8. (Wiltrout, C. et. al., 2010)



**Figura 8** - Esquema representativo do modelo clássico da cascata de coagulação, adaptado de (Wiltrout, C. and Kondo, K., 2010).

O estudo da hemostase envolve testes laboratoriais importantes na avaliação e monitorização de distúrbios do sistema de coagulação sanguínea. É importante ter em consideração que se tratam de análises sensíveis a pequenas variações pré-analíticas e analíticas, pelo que é essencial ter noção destas limitações de forma a não comprometer a qualidade do resultado e levar a erros na decisão clínica.

Em termos da fase pré-analítica vários fatores podem condicionar o estudo da hemostase, nomeadamente um incorreto volume de amostra que afeta a relação volume de amostra / volume de anti-coagulante, agitação dos tubos, tempo de garrotagem e a temperatura de conservação da amostra. (Magnette, A. et. al., 2016) Durante o tempo de estágio tive a oportunidade de assistir a uma formação por parte da empresa STAGO sobre este tema, da qual passo a destacar um ponto que considerei importante.

Apesar de não estar estabelecido a necessidade de jejum pré-colheita para o estudo da coagulação este é aconselhado. Isto porque, embora o processo não esteja muito bem compreendido, níveis elevados de lípidos no sangue aumentam a atividade do FVII, pelo que se registam aumentos consideráveis da atividade coagulante após refeições com altos teores de gordura. Para além disto, a lipémia pode ainda interferir nas leituras no caso de aparelhos que se baseiem em métodos óticos. (Favaloro, E. J. et. al., 2012)

O aparelho que equipa o laboratório para estes testes é o analisador de coagulação STA Compact Max 2 (Stago®) cujo princípio de medida é a deteção mecânica baseada na viscosidade (VBDS). Este método é aplicado em cuvetes com duas calhas curvas na base e uma esfera que oscila devido ao campo magnético imposto (a intensidade varia consoante o tipo de análise). Este movimento é detetado e permanece constante quando o meio conserva uma viscosidade constante, cessando à medida que ocorre a formação do coágulo. Como se trata de um método mecânico há uma grande vantagem por se conseguir contornar interferências de cor, por exemplo em caso de hemólise, lipémia ou turvação, que não afetam os valores de forma significativa em termos de decisão clínica. (Woolley, A. *et. al.*, 2016)

### **5.6.1. Tempo de protrombina**

O tempo de protrombina (PT) é um parâmetro útil para avaliações pré-cirúrgicas, da função hepática e monitorização da anticoagulação oral com anticoagulantes cumarínicos (antagonistas da vitamina K). O seu resultado espelha a eficiência da Via Extrínseca e Comum da coagulação uma vez que mede o tempo de coagulação com uma concentração ótima de fator tecidual, sendo assim deteta deficiências dos fatores II, V, VII, X e fibrinogénio. Uma vez que os valores obtidos dependem do fator tecidual usado em cada laboratório, colocou-se a necessidade de padronizar o PT para o controlo do tratamento com anticoagulantes orais. Para tal, segue-se a seguinte fórmula  $(PT\ utente / MNPT)^{ISI}$  que se designa de razão normalizada internacional (INR), no qual MNPT é a média de tempo de protrombina normal e ISI é o índice de sensibilidade internacional, dependente de cada reagente. (Dorgalaleh, A. *et. al.*, 2021)

O valor do INR pode alterar principalmente por doença hepática, por ser o local de síntese dos fatores de coagulação, ou por deficiência de vitamina K, cofator necessário a essa síntese. O uso de anticoagulantes orais, como os antagonistas de vitamina K, é necessária em indivíduos propícios a sofrer eventos tromboembólicos. Contudo, estes medicamentos, como é o caso da varfarina, não permitem um padrão estável dos valores de INR pois a ação dos antagonistas depende da quantidade de vitamina K ingerida e também da medicação prescrita, pelo que exige um controlo laboratorial regular. Em alternativa surgiram os anticoagulantes orais diretos, como o Apixabano ou Dabigatran, que inibem o fator Xa ou a protrombina e não exigem a monitorização laboratorial periódica. (Mailer, R. K. *et. al.*, 2022)

### **5.6.2. Tempo de tromboplastina parcial ativado**

O tempo de tromboplastina parcial ativado (APTT) é utilizado para acompanhar pessoas com história hemorrágica e também que façam o uso de heparina. Neste ensaio é medido o tempo de formação do coágulo com a adição de um ativador da coagulação, desta

forma são avaliados os fatores da via intrínseca (XII, XI, IX, VIII) e comum (X, V, II e fibrinogénio). (Wiltrout, C. *et. al.*, 2010)

Os valores de APTT são determinados no laboratório e dependem do reagente usado, os resultados são considerados normais se entre 24,8 e 34,4 s.

### **5.7.AEQ e CQI**

No setor da hematologia faz-se diariamente o CQI do aparelho Cell Dyn Ruby com 3 controlos fornecidos pela Abbott<sup>®</sup>, de nível alto, normal e baixo, que devem ficar dentro da carta de controlo, e ainda se avaliam 2 hemogramas do dia anterior de forma a garantir a reprodutibilidade.

Já a AEQ realiza-se mensalmente com a análise das amostras fornecidas pelos Laboratórios Randox no âmbito do programa RIQAS de Hematologia.

## 6. Caso clínico

Um Homem de 72 anos deslocou-se ao LSM para realizar análises. Nos últimos anos é perceptível nos seus boletins de resultados presença de macrocitose sem anemia e com RDW normal, sem alterações do valor de ácido fólico e vitamina B12 (Tabela 3).

**Tabela 3** - Histórico dos valores de VGM, HGB e RDW dos últimos anos – caso clínico.

Data	VGM (fl); HGB (g/dl); RDW (%)
7/2016	105,2; 15,0; 12,02
1/2017	99,9; 13,6; 13,23
1/2019	99,1; 17,0; 11,55
10/2019	98,1; 16,6; 11,31
4/2021	100,8; 16,9; 11,33

Em 2023 regressa e os resultados do hemograma foram os seguintes (Tabela 4):

**Tabela 4** - Hemograma obtido em 2023 - caso clínico.

Hemograma	Resultados/Unidades	IR
RBC	$2,19 \times 10^{12}/l$	4,31 - 6,40
HGB	9,2 g/dl ↓	13,6 - 18,0
HTC	26,2 % ↓	39,8 - 52,0
MCV	119,8 fl ↑	80,0 - 97,0
MCH	42,0 pg ↑	26,0 - 34,0
MCHC	35,0 g/dl	32,0 - 36,0
RDW	20,5 % ↑	11,5 - 15,0

A fórmula leucocitária não apresentava alterações.

No estudo da morfologia do sangue periférico por MO observou-se acentuada anisocitose com acentuada macrocitose. Os eritrócitos revelavam moderada policromatofilia e viu-se ainda um eritroblasto ortocromático por 100 leucócitos.

Foi também realizado o Coombs direto e indireto, ambos positivos.

Outros parâmetros que revelaram alterações foram os níveis de ácido úrico aumentados (8,1 mg/dl; 3,7-7,7), uma ligeira elevação do potássio no ionograma (5,5 mmol/l; 3,5-5,0) e aumento considerável de LDH (505 U/l; 125-220). A bilirrubina total apresentava-se elevada (3,7 mg/dl; 0,2-1,2), sem se verificar alteração significativa na bilirrubina direta (0,6 mg/dl; < 0,5). O funcionamento da tiroide foi avaliado pela TSH e T4 livre que se apresentaram dentro do IR, tal como os parâmetros hepáticos: GGT, AST e ALT. É de referir também que o soro tinha uma aparência ictérica.

Quanto aos anticorpos de auto-imunidade foram pesquisados: Ac anti-mitocôndria (AMA), Ac anti-músculo liso (ASMA), Ac anti-citoplasma neutrófilos IgG (ANCA) e Ac anti-LKM todos negativos.

Dias após esta vinda, foi requerido pelo médico repetição das análises às quais foram acrescentados alguns parâmetros. A VS revelou-se alta (84 mm/h; < 20) e não foi possível fazer a contagem de reticulócitos devido à presença de interferências. O estudo do metabolismo do ferro não tinha alterações, já os níveis de haptoglobina estavam diminuídos (< 10 mg/dl; 30-100) e a PCR alta (9,7 mg/L; < 5,0). A pesquisa de Ag p24 e Ac HIV1/2 foi negativa.

## **Discussão**

Em termos hematológicos, a macrocitose que se vinha a verificar não conferia critério para o estudo da morfologia por MO, pelo que é desconhecida a existência ou não de características megaloblásticas, o que poderia orientar para a causa. O VGM elevado pode ser uma consequência de várias situações como: o consumo de álcool, deficiência de vitamina B12 ou ácido fólico, efeitos secundários de medicamentos, doença hepática ou hipotiroidismo. O consumo de álcool é das causas mais comuns de macrocitose na população, contudo um marcador sensível aos hábitos alcoólicos é também a GGT (Kaferle, J. *et. al.*, 2009) parâmetro que o utente sempre manteve dentro dos valores de referência. Tendo em conta os resultados não se verifica hipotiroidismo nem aparente lesão hepática, por este motivo não é possível indicar uma causa específica para o aumento do VGM. Apesar de não ser conhecido o estímulo que gera esta resposta, em 2017 a queda de HGB podia já ter sido uma crise hemolítica. Ao longo dos anos podem ter ocorrido outros episódios que não foram acompanhados.

Apesar de anteriormente já existir macrocitose, dois parâmetros que revelaram alterações foi o RDW e a HGB. A acentuada anisocitose descrita pode significar a presença aumentada de reticulócitos por resposta da medula à anemia, que antes não existira. Outros achados que corroboram com esta hipótese é a moderada policromatofilia observada ao MO e o eritroblasto ortocromático no sangue periférico, estas são características da presença de eritrócitos imaturos o que ocorre em anemias regenerativas.

O teste de Coombs direto e indireto confirmam a ocorrência de uma anemia hemolítica autoimune. Os marcadores serológicos negativos pedidos pelo clínico permitiram excluir a possibilidade de outras patologias como a cirrose biliar primária (AMA, ASMA), vasculites autoimunes (ANCA) e hepatite autoimune (Ac anti-LKM). Uma vez que a anemia hemolítica autoimune pode surgir como complicações secundárias de infeções, por exemplo HIV (Saif, M. W., 2001), foi realizado o despiste que não provou ser a causa.

Nos resultados bioquímicos são perceptíveis as consequências do processo hemolítico que estava a decorrer. O aumento do ácido úrico pode se dever aos processos catabólicos resultantes da libertação do conteúdo celular, porém estudos demonstram que se poderá também tratar de um mecanismo de defesa do organismo a doenças autoimunes. (El Ridi, R. *et. al.*, 2017) O  $K^+$  e LDH são maioritariamente intracelulares pelo que o seu aumento no plasma também é esperado com a hemólise.

Os resultados da bilirrubina aumentados explicam o aspeto icterico do soro, e permitem concluir que o aumento da bilirrubina total não advém da bilirrubina direta, pelo que essa elevação dos valores não se deve a alterações no processo de conjugação que ocorre no fígado, mas sim ao aumento da bilirrubina indireta, neste caso esse aumento resulta da elevada libertação dos grupos heme com a lise dos eritrócitos. Também os níveis de haptoglobina correspondem ao esperado uma vez que esta proteína forma complexos com a hemoglobina livre circulante, diminuindo assim a sua concentração livre no soro. Os valores da VS e PCR elevados, ambos indicadores de processos inflamatórios, refletem o estado de stresse do organismo.

Confirmada a anemia hemolítica autoimune, o próximo passo seria aprofundar qual a causa e investigar que tipo de Ac's estão envolvidos, de modo a instituir a terapêutica mais adequada. (Jäger, U. *et. al.*, 2020) As últimas informações clínicas do utente foram que se está a investigar a etiologia da anemia hemolítica autoimune diagnosticada.

Deste caso clínico salienta-se a importância de compreender o significado de cada parâmetro e a respetiva metodologia, a fim de perceber que tipo de limitações causam interferências de forma a ser possível contorná-las. Com a análise dos vários resultados e diagnóstico de anemia hemolítica autoimune é do conhecimento que existirão Ac's associados às membranas dos eritrócitos da amostra, motivo que provavelmente inviabilizou a contagem de reticulócitos por citometria de fluxo, porém para visualizar os reticulócitos é possível realizar a coloração com azul de metileno que permite a observação destas células ao microscópio.

Este caso é também um exemplo da utilidade dos laboratórios de ambulatório a direcionar os utentes para as áreas específicas, neste caso Hematologia Clínica, já com uma orientação de diagnóstico.

## 7. Microbiologia

### 7.1. Equipamentos e Análises

Na área da microbiologia executam-se culturas de vários tipos de amostras como: urina, expectoração, pus, fezes, esperma, exsudato vaginal, uretral, orofaríngeo e nasal para diagnosticar infeções causadas por microrganismos.

A colheita e tratamento destas amostras tem especial influência na interpretação clínica dos resultados uma vez que é essencial garantir que não há contaminação com flora microbiana da pele nem contaminação externa, assim como assegurar, no caso de expectoração, que se trata de uma colheita do trato respiratório inferior. É importante saber valorizar o crescimento bacteriano e os microrganismos a pesquisar em cada amostra como agentes patogénicos.

No LSM as análises que envolvem identificação de microrganismos e antibiogramas são inoculadas em meios de cultura apropriados, que dependem da natureza da amostra. Após o isolamento de colónias puras, através da sua observação, faz-se a quantificação e uma identificação presuntiva no caso do meio o permitir por ser cromogéneo, por coloração de Gram ou provas como a oxidase e indol. A identificação definitiva e respetivo antibiograma é efetuada no equipamento VITEK 2 Compact (bioMérieux®). No boletim de resultados são emitidas as listas de antibióticos sensíveis, resistentes e sensíveis com aumento da exposição, também é referida a presença de  $\beta$ -lactamases, caso se verifique.

O MO é importante nesta área, não só para esclarecer a morfologia (coco, bacilo e cocobacilo) e modo de coloração pelo Gram (positivo e negativo) da bactéria constituinte da colónia isolada. Como também na coloração de Gram e Ziehl-Neelsen das amostras para avaliar o tipo de flora existente (pode ser indicativo de vaginose por Gardnerella).

É também neste setor que se realizam os espermogramas cuja análise envolve avaliação de vários parâmetros como a coagulação, liquefação, viscosidade, mobilidade, morfologia e também contagem em câmara de Neubauer.

Também pertencem a esta área as análises da parasitologia onde se fazem exames a fresco para pesquisa de ovos e cistos nas fezes e mais raramente pesquisa de parasitas no sangue periférico (por exemplo Plasmódio e Microfilária).

O tempo de estágio na microbiologia foi extremamente enriquecedor, não só para aplicar todos os conhecimentos ganhos durante o mestrado, como também pela forte componente prática que é exigida.

## **7.2.AEQ e CQI**

Nesta área é crucial garantir que não há contaminações da amostra ou dos meios que interfiram nos resultados, para garantir esta qualidade seguem-se vários procedimentos de CQI.

São realizados diversos controlos internos para garantir a esterilidade dos ensaios. Semanalmente cultiva-se a solução salina (usada nas identificações bioquímicas e antibiogramas) em meio de chocolate para garantir que não há crescimento bacteriano por contaminação da solução. Trimestralmente avaliam-se as condições da câmara de fluxo laminar colocando uma placa aberta na câmara por 30 minutos e aferir após incubação se há crescimento. Também os próprios meios de cultura são controlados a cada abertura de caixa, incubando uma placa nas mesmas condições das placas cultivadas com amostras. Outro controlo é realizado aquando da inoculação das cartas Vitek a partir do meio de suspensão, para garantir que se está perante uma cultura pura. Para além destes procedimentos de garantia de esterilidade, mensalmente avaliam-se duas estirpes da Coleção Americana de Culturas Tipo (ATCC®) abrangendo todos os grupos de patogénicos mais comuns, onde se procura que os resultados coincidam com o esperado, tanto a nível de identificação quanto de antibiograma.

Por sua vez, a AEQ é realizada cerca de duas vezes por ano com amostras fornecidas pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) de acordo com o calendário do Programa Nacional de AEQ em Bacteriologia geral.

## 8. Serologia

### 8.1. Equipamentos e Análises

No LSM este setor é o responsável pelo estudo da autoimunidade, alergologia, serologia infecciosa e alguns outros ensaios isolados.

Esta área está provida do equipamento para alergia e autoimunidade Phadia 200 (Thermo Fisher® Scientific Inc.). O método analítico utilizado é o fluoroenzimoimunoensaio (FEIA) que se baseia na ligação específica entre antígenos e anticorpos marcados com fluorescência. Este equipamento é usado para executar ensaios de detecção e quantificação de IgE's específicas e alguns painéis de alérgenos importantes para diagnosticar reações de hipersensibilidade. No que diz respeito à investigação de doenças autoimunes é feita a detecção qualitativa de Ac's IgG anti-nucleares (ANA), que são Ac's direcionados a componentes dos núcleos celulares responsáveis por várias patologias como Lúpus, Esclerose Progressiva Sistémica e Artrite Reumatóide.

Os anticorpos/antígenos a agentes infecciosos pesquisados nesta área são o Ag do *Helicobacter pylori*, Ag/Ac ao *Treponema pallidum* (Sífilis) e anticorpos de resposta ao Sars-Cov-2. A sífilis é uma doença sexualmente transmissível causada pela bactéria *Treponema pallidum* que é comumente estudada inicialmente pela VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*), onde se pesquisam Ac's produzidos pelo organismo em resposta à infeção. Em menor número, são por vezes requisitados testes confirmatórios como o Teste de Hemaglutinação para *Treponema pallidum* (TPHA) onde se procura a presença de Ac's específicos no soro.

Outra das análises sobre a qual aprofundi o meu conhecimento foi a PSOF (Pesquisa de Sangue Oculto nas Fezes) que permite o rastreio de neoplasias do aparelho digestivo e cuja relevância clínica dos resultados depende das indicações claras de colheita fornecidas por parte dos técnicos e recolha apropriada por parte dos utentes. Este ensaio, tal como o da detecção do Ag do vírus Sars-Cov-2, a pesquisa do Ag *Helicobacter pylori* nas fezes e o Teste Imunológico para Gravidez (TIG), utilizam um método de reação Ag-Ac em fase sólida revelada por mudança de cor.

A área da serologia tem uma componente prática que me permitiu aprofundar conhecimentos e aplicar as boas práticas laboratoriais. Retiro também deste tempo de estágio uma maior compreensão da utilidade e importância dos testes rápidos (POCT) num laboratório de rotina, uma vez que permitem fornecer resultados imediatos e num curto espaço de tempo com uso a recursos limitados e com uma boa sensibilidade e especificidade.

## **8.2.AEQ e CQI**

Na área da serologia alguns dos testes realizados já têm uma componente de controlo associado, como é o caso dos métodos de testes rápidos por imunocromatografia.

A nível de CQI, com controlos comercializados, é realizado nos testes de VDRL e TPHA aquando da abertura da caixa. Nos testes de TPHA, autoimunidade e alergologia é executado em todos os ensaios.

Os testes de Alergologia fazem parte do programa de AEQ SKML fornecido pelo INSA no qual se realizam 4 ensaios por ano com 3 amostras.

## 9. Conclusão

As Análises Clínicas são uma área do saber que requer conhecimentos sólidos e multidisciplinares de forma a assegurar, com competência, que são prestados os melhores serviços de saúde.

O estágio foi uma experiência que considero imprescindível para uma formação o mais completa possível. A proximidade com a rotina laboratorial e a convivência com os utentes e todo o processo desde a obtenção da amostra até à validação dos resultados expandiu os meus horizontes em relação a todas as responsabilidades, requisitos e boas práticas que estão inevitavelmente associadas a resultados laboratoriais com qualidade. Toda a equipa e estrutura do LSM permitiram-me conhecer e evoluir em todos os setores. Um bom funcionamento do laboratório necessita de uma harmonia, para além das áreas técnicas de bioquímica, hematologia, microbiologia e serologia, com o setor geral técnico, setor do S.G.Q e setor das colheitas e atendimento. Existem conhecimentos que só podem ser adquiridos por meio da prática, e a oportunidade de estar num ambiente com profissionais da área da saúde permitiu uma partilha enriquecedora e proporcionou-me uma constante evolução. Valorizo toda a experiência que adquiri na área das colheitas e a oportunidade de contactar de perto com os diversos setores técnicos, podendo envolver-me na realização das análises.

Ao longo dos últimos anos a tecnologia tem substituído o trabalho humano um pouco por todo o lado. O mesmo se passa nas Análises Clínicas com a automatização dos ensaios, porém é importante continuar a formar pessoas competentes para saber interpretar e perceber em que consiste o parâmetro, identificar possíveis erros e tomar decisões fundamentadas consoante o resultado, pelo que é importante a existência deste Mestrado.

Diante do relatório escrito penso que me é possível afirmar que cumpri os objetivos do estágio, do qual fiz um bom aproveitamento. Não me restam dúvidas de que se trata de uma área na qual o conhecimento está sempre em evolução, que exige trabalho, atenção e dedicação, pois só assim faz sentido exercer esta profissão.

## Referências bibliográficas

- AKINFEMIWA, O. [et. al.] (2023) - Amylase Book - Amylase. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- ARENDS, J. W. [et. al.] (1983) - Monoclonal antibody (1116 NS 19-9) defined monosialoganglioside (GICA) in colorectal carcinoma in relation to stage, histopathology and DNA flow cytometry. "Int J Cancer" 32 (1983) 289-293.
- BUTTARELLO, M. (2016) - Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how? "Int J Lab Hematol." 38 (2016) 123-32.
- CHANG, S. W. [et. al.] (2019) - Vitamin D and health - The missing vitamin in humans. "Pediatr Neonatol." 60 (2019) 237-244.
- CHEN, X. [et. al.] (2020) - Comparison and evaluation of Abbott chemiluminescent microparticle immunoassay and ChIVD light-initiated chemiluminescent assay in the detection of Treponema pallidum antibody. "J Clin Lab Anal." 34 (2020) 23275.
- CHIFMAN, J. [et. al.] (2014) - A systems biology approach to iron metabolism. "Adv Exp Med Biol." 844 (2014) 201-225.
- DE LA FLOR WEISS, E. [et. al.] (2005) - Implementation of Gel Testing for Antibody Screening and Identification in a Community Hospital, a 3Year Experience. "Labmedicine" 36 (2005) 489-490.
- DÉNY, P. [et. al.] (2010) - Hepatitis B virus: From diagnosis to treatment. "Pathologie Biologie" 58 (2010) 245-253.
- DORGALALEH, A. [et. al.] (2021) - Standardization of Prothrombin Time/International Normalized Ratio (PT/INR). "Int J Lab Hematol." 43 (2021) 21-28.
- DUNNING, K. [et. al.] (2011) - The ultimate Wright-Giemsa stain: 60 years in the making. "Biotech Histochem." 86 (2011) 69-75.
- EL RIDI, R. [et. al.] (2017) - Physiological functions and pathogenic potential of uric acid: A review. "Journal of Advanced Research" 8 (2017) 487-493.
- EL SAYED, S. A. [et. al.] (2023) - Physiology, Pancreas Book - Physiology, Pancreas. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- EYTH, E. [et. al.] (2023) - Hemoglobin A1C Book - Hemoglobin A1C. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- FARUQI, A. [et. al.] (2023) - Iron Binding Capacity Book - Iron Binding Capacity. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- FAVALORO, E. J. [et. al.] (2012) - Pre-analytical Variables in Coagulation Testing Associated With Diagnostic Errors in Hemostasis. "Laboratory Medicine" 43 (2012) 1-10.
- GEORGE, C. [et. al.] (2023) - Hyperuricemia Book - Hyperuricemia. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.

- GOMME, P. T. [et. al.] (2005) - Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions. "Drug Discovery Today" 10 (2005) 267-273.
- GOTTSCHALK, R. [et. al.] (2000) - Total iron-binding capacity and serum transferrin determination under the influence of several clinical conditions. "Clinica Chimica Acta." 293 (2000) 127-138.
- GRUNDY, S. M. [et. al.] (2000) - Guidelines for the Management of High Blood Cholesterol Book - Guidelines for the Management of High Blood Cholesterol. "South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc." (2022).
- GUÉRIN, R. [et. al.] (2016) - Evaluation of the long-term imprecision of the Capillary 2 Flex Piercing® with serial differences in patient Hemoglobin A1c data: A comparison with two common immunoassays. "Clinical Biochemistry" 49 (2016) 502-504.
- HAGEMAN, S. M. [et. al.] (2023) - Low HDL Cholesterol Book - Low HDL Cholesterol. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- HOSTOFFER, R. W. [et. al.] (2023) - Immunoglobulin E Book - Immunoglobulin E. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- JÄGER, U. [et. al.] (2020) - Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. "Blood Reviews" 41 (2020) 100648.
- KAFERLE, J. [et. al.] (2009) - Evaluation of macrocytosis. "Am Fam Physician" 79 (2009) 203-208.
- KALAKONDA, A. [et. al.] (2023) - Physiology, Bilirubin Book - Physiology, Bilirubin. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- KNOVICH, M. A. [et. al.] (2009) - Ferritin for the clinician. "Blood Reviews" 23 (2009) 95-104.
- KRAWIEC, C. [et. al.] (2023) - Rubeola (Measles) Book - Rubeola (Measles). Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- K.T., N. [et. al.] (2022) - Analysis of red blood cells from peripheral blood smear images for anemia detection: a methodological review. "Med Biol Eng Comput." 60 (2022) 2445–2462.
- KUO, H.-T. [et. al.] (2012) - Magnetic particle-linked anti hCG  $\beta$  antibody for immunoassay of human chorionic gonadotropin (hCG), potential application to early pregnancy diagnosis. "Journal of Immunological Methods" 381 (2012) 32-40.
- LALA, V. [et. al.] (2023) - Liver Function Tests Book - Liver Function Tests. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- LARDINOIS, B. [et. al.] (2021) - Pseudothrombocytopenia - A Review on Causes, Occurrence and Clinical Implications. "J Clin Med." 10 (2021).
- LEE, Y. [et. al.] (2023) - Cholesterol Levels Book - Cholesterol Levels. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.

- LEVEY, A. S. [et. al.] (2006) - Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. "Ann Intern Med." 45 (2006) 247-254.
- LINTON, M. F. [et. al.] (2000).- The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis Book - The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis. "South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc." (2022).
- LIVESEY, J. H. [et. al.] (2008) - Pre-analytical requirements. "Clin Biochem Rev." 29 (2008) 11-15.
- MAGNETTE, A. [et. al.] (2016) - Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. "Thromb J." 14 (2016) 49.
- MAILER, R. K. [et. al.] (2022) - An Update on Safe Anticoagulation. "Hamostaseologie" 42 (2022) 65-72.
- MCBRIDE, J. A. [et. al.] (2015) - Diagnosis and management of testosterone deficiency. "Asian J Androl." 17 (2015) 177-186.
- MOLL, R. [et. al.] (2017) - Iron, vitamin B12 and folate. "Medicine" 45 (2017) 198-203.
- NYBLOM, H. [et. al.] (2004) - High AST/ALT ratio may indicate advanced alcoholic liver disease rather than heavy drinking. "Alcohol Alcohol." 39 (2004) 336-339.
- OSBORN, J. W. [et. al.] (2021) - Function of Renal Nerves in Kidney Physiology and Pathophysiology. "Annu Rev Physiol." 83 (2021) 429-450.
- PÉREZ-GARCÍA, A. [et. al.] (2019) - Hepatitis C core antigen: Diagnosis and monitoring of patients infected with hepatitis C virus. "International Journal of Infectious Diseases" 89 (2019) 131-136.
- PIVA, E. [et. al.] (2015) - Clinical utility of reticulocyte parameters. "Clin Lab Med." 35 (2015) 133-163.
- RIEDER, J. K. [et. al.] (2020) - Estradiol and Women's Health: Considering the Role of Estradiol as a Marker in Behavioral Medicine. "Int J Behav Med." 27 (2020) 294-304.
- RIFAI, N. [et. al.] (2018) - Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 8<sup>th</sup> Ed. Elsevier Saunders, 2018. ISBN: 9780323530446
- SAIF, M. W. (2001) - HIV-associated autoimmune hemolytic anemia: an update. "AIDS Patient Care STDS" 15 (2001) 217-224.
- SEAMARK, D. [et. al.] (1999) - Transport and temperature effects on measurement of serum and plasma potassium. "J R Soc Med." 92 (1999) 339-341.
- SHAHBAZ, H. [et. al.] (2023) - Creatinine Clearance Book - Creatinine Clearance. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- SHIGEMATSU, M. [et. al.] (2018) - Regulatory responses of hepatocytes, macrophages and vascular endothelial cells to magnesium deficiency. "The Journal of Nutritional Biochemistry" 56 (2018) 35-47.

- SPENCER, C. A. (2023) - Laboratory Thyroid Tests: A Historical Perspective. "Thyroid" 33 (2023) 407-419.
- TANG, M.-Q. [et. al.] (2020) - Research Progress of C-reactive Protein Analysis. "Chinese Journal of Analytical Chemistry" 48 (2020) 1121-1130.
- THEIS, S. R. [et. al.] (2023) - Coombs Test Book - Coombs Test. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- TISHKOWSKI, K. [et. al.] (2023) - Erythrocyte Sedimentation Rate Book - Erythrocyte Sedimentation Rate. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- TIWARI, V. [et. al.] (2023) - Rheumatoid Factor Book - Rheumatoid Factor. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2023.
- UÇKAY, I. [et. al.] (2009) - Use of serum antistreptolysin O titers in the microbial diagnosis of orthopedic infections. "International Journal of Infectious Diseases" 13 (2009) 421-424.
- VEZYRAKI, P. [et. al.] (2019) - Impact of total PSA and percent free PSA in the differentiation of prostate disease: a retrospective comparative study implicating neoplastic and non-neoplastic entities. "J buon." 24 (2019) 2107-2113.
- WANG, H. [et. al.] (2023) - Diagnosis of Congenital and Maternal Cytomegalovirus Infection - an Up-to-Date Review. "Clinical Microbiology Newsletter" 45 (2023) 69-76.
- WEBER, D. [et. al.] (2021) - Platelet count in sodium citrate-anticoagulated whole blood: Comparison to EDTA-anticoagulated results and stability over time. "Int J Lab Hematol." 43 (2021) e35-e37.
- WILTROUT, C. [et. al.] (2010) - Correction of Coagulopathy for Percutaneous Interventions. "Seminars in interventional radiology" 27 (2010) 338-347.
- WOOLLEY, A. [et. al.] (2016) - Effects of haemolysis, icterus and lipaemia on coagulation tests as performed on Stago STA-Compact-Max analyser. "Int J Lab Hematol." 38 (2016) 375-388.
- YILMAZ, G. (2001) - Diagnosis of HIV infection and laboratory monitoring of its therapy. "Journal of Clinical Virology" 21 (2001) 187-196.
- ZHANG, K. [et. al.] (2016) - Serological diagnosis of toxoplasmosis and standardization. "Clinica Chimica Acta." 461 (2016) 83-89.