

UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Farmácia



Relatório de Estágio e Monografia

Ana Cláudia Vieira Ferreira

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

2014

UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Farmácia



Relatório de Estágio

Ana Cláudia Vieira Ferreira

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em
Análises Clínicas, orientado pela Dra. Margarida Mendes

2014

ÍNDICE

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	11
ÍNDICE DE FIGURAS	13
ÍNDICE DE TABELAS	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
APRESENTAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO/ DESCRIÇÃO GERAL DO ESTÁGIO	17
1º PARTE – RELATÓRIO DE ESTÁGIO	18
I. BIOQUÍMICA	18
Olympus AU400.....	19
METABOLISMO PROTEICO.....	19
Proteínas séricas totais	19
Proteínas urinárias	20
Albumina.....	21
PCR (Proteína C reactiva).....	22
IMUNOGLOBULINAS.....	22
IgG.....	22
IgA.....	23
IgM.....	24
PROTEÍNAS DO COMPLEMENTO.....	24
C3	24
C4	25
METABOLISMO GLÍCIDICO.....	25
Glicose.....	25
METABOLISMO LIPÍDICO	27

Colesterol	27
Triglicéridos	27
LIPOPROTEÍNAS	28
Colesterol HDL	28
Colesterol LDL.....	29
AVALIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO	29
APOLIPOPROTEÍNAS	31
Apolipoproteína B	31
FUNÇÃO RENAL.....	32
Ureia	32
Creatinina	33
Ácido úrico.....	34
Microalbuminúria.....	36
FUNÇÃO HEPÁTICA	36
AST /GOT	36
ALT/GPT	37
γ Gt.....	38
ALP	38
Bilirrubinas.....	39
Bilirrubina total	39
Bilirrubinas Directa (ou conjugada).....	40
FUNÇÃO PANCREÁTICA	41
Amilase.....	41
METABOLISMO DO FERRO	42
Ferro sérico.....	42
Ferritina	43
Transferrina	44

FUNÇÃO CARDÍACA	44
CK ou CPK.....	44
LDH.....	45
METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO	46
Cálcio total	46
Fosfato (Fósforo inorgânico).....	47
Magnésio	48
DOENÇAS AUTO-IMUNES	49
Factor reumatóide.....	49
DOENÇAS INFECCIOSAS	50
ASO (anticorpos anti-estreptolisina O)	50
ELECTRÓLITOS	51
Sódio (Na ⁺).....	51
Potássio (K ⁺)	52
Cloro.....	53
ELECTROFORESE DE PROTEÍNAS NO SORO – MINICAP	54
Análise de amostras de urina- UROANÁLISE.....	56
Urina tipo II - AUTION MAX-4280	56
Características físicas (Cor e densidade)	56
Cor.....	56
Densidade (gravidade específica).....	57
EXAME QUÍMICO (TIRAS TESTE)	59
1. pH.....	60
2. Glicose	60
3. Corpos cetónicos.....	61
4. Proteínas.....	61
5. Bilirrubina	62

6. Urobilinogénio	62
7. Nitritos	62
8. Sangue.....	63
9. Leucócitos	63
Exame microscópico do sedimento.....	64
Pesquisa de Sangue Oculto nas fezes (PSOF).....	66
II. HEMATOLOGIA.....	68
TÉCNICAS MANUAIS DE HEMATOLOGIA.....	68
ESFREGAÇO SANGUÍNEO - Estudo morfológico do sangue periférico	68
Coloração de May-Grünwald-Giemsa	69
CONTAGEM MANUAL DE RETICULÓCITOS	70
CONTAGEM DE PLAQUETAS EM CÂMARA DE <i>NEUBAUER</i>	70
GRUPO SANGUÍNEOS - SISTEMA ABO E RHESUS	71
PROVA DE FALCIFORMAÇÃO – PRESENÇA DE HEMOGLOBINA S (HbS)	73
CRIOGLOBULINAS.....	74
CRIOAGLUTININAS	75
SISTEMAS AUTOMÁTICOS DE HEMATOLOGIA	76
Sysmex XT-2000i	76
VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO – VES-MATIC 30	85
ELECTROFORESE DE HEMOGLOBINAS – HB GOLD	86
HEMOGLOBINA GLICADA - ADAMS A1C HA8160.....	88
ESTUDO DA HEMOSTASE.....	90
Contagem de Plaquetas	91
Tempo de hemorragia- método de Duke	91
Tempo de coagulação	92
Cascata da coagulação - SYMEX CA-500	92

I. Tempo de protrombina (TP)	94
II. Tempo de tromboplastina parcial activado (APTT).....	96
III. Fibrinogénio	97
III. IMUNOLOGIA.....	99
TÉCNICAS MANUAIS DE IMUNOLOGIA.....	99
DIG (Diagnóstico imunológico da gravidez).....	99
Rosa bengala (Reacção de Huddleson) – Teste da brucelose	100
Reacção de Waller-Rose	100
Monoteste.....	101
VDRL.....	102
SISTEMAS AUTOMÁTICOS DE IMUNOLOGIA	103
ADVIA Centaur XP.....	103
Vitamina B12	105
Folatos (Ácido fólico)	105
PTH.....	106
Insulina.....	107
Hbs Ag- antígeno de superfície da hepatite B.....	108
Prolactina.....	109
Estradiol (17-beta-estradiol) - E2.....	110
Progesterona.....	111
LH e FSH	111
Testosterona	112
TSH.....	113
T4 – tiroxina.....	114
T4 Livre.....	115
T3 – Triiodotironina total.....	115
T3 livre.....	116

PSA Total	116
PSA Livre	117
CEA	117
CA 15-3	118
CA 125	118
CA 19.9	119
AFP.....	119
VIDAS	120
β -hCG.....	121
ATG (Anti-TG)	122
ATPO (Anti-TPO).....	122
Toxoplasmose.....	123
CMV	124
Rubéola.....	124
Hepatite A	126
Hepatite B.....	126
Hepatite C.....	128
HIV	128
CONTROLO DE QUALIDADE EM ANÁLISES CLÍNICAS.....	130
BIBLIOGRAFIA	132

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ALP	Fosfatase alcalina
ALT/GPT	Alanina aminotransferase/transaminase glutâmica oxaloacética
APTT	Tempo de tromboplastina parcial
ASLO	Anti-estreptolisina O
AST/GOT	Aspartato aminotransferase/transaminase glutâmica pirúvica
Ca ²⁺	Ião cálcio
CHGM	Concentração da hemoglobina corpuscular média
CID	Coagulação Intravascular Disseminada
Cl ⁻	Ião cloreto
CK /CPK	Creatina cinase
CQ I	Controlo de qualidade Interno
CQE	Controlo de qualidade Externo
CTFF	Capacidade total de fixação do ferro
Fe ²⁺	Ião ferroso
Fe ³⁺	Ião férrico
HB	Hemoglobina
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HBV	Vírus da hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HGM	Hemoglobina corpuscular média

HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HCT	Hematócrito
INR	<i>International Normalised Ratio</i> (coagulação)
ISI	Índice de Sensibilidade Internacional
K ⁺	Ião potássio
LDH	Lactato desidrogenase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
LMC	Leucemia Mielóide Crónica
Mg ²⁺	Ião magnésio
Na ⁺	Ião sódio
PCR	Proteína C reactiva
PTGO	Prova de tolerância à glicose oral
PTH	Paratormona
RDW	Red cell distribution width (distribuição do volume dos eritrócitos)
RNA	Ácido ribonucleico
RF	Factor reumatóide
TP	Tempo de protrombina
VGM	Volume globular médio
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VS	Velocidade de sedimentação (dos eritrócitos)
γ-GT	Gama-glutamil transferase

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Auto-analisador – Olympus AU400 _____	19
Figura 2: Minicap _____	54
Figura 3: Traçado electroforético normal numa electroforese capilar _____	54
Figura 4: Aution Max-4280 _____	56
Figura 5: Imagem ao microscópico de leucócitos presentes na urina _____	64
Figura 6: Eritrócitos na urina – análise microscópica _____	64
Figura 7: Células de descamação presentes no sedimento urinário _____	65
Figura 8: Células epiteliais de transição presentes no sedimento urinário _____	65
Figura 9: Células epiteliais tubulares renais em sendimento de urina _____	66
Figura 10: Contador hematológico Symex XT-2000i _____	76
Figura 11: Método SLS-HB _____	77
Figura 12: Contagem de células pelo Método de focagem hidrodinâmica _____	77
Figura 13: Citometria de fluxo _____	78
Figura14: Gráfico de dispersão obtido por citometria de fluxo _____	79
Figura15: Gráfico de dispersão dos basófilos _____	79
Figura 16: Gráfico de dispersão de reticulócitos _____	80
Figura 17: Hemograma com Plaquetas- Exemplo _____	81
Figura 18: VES-MATIC 30 _____	85
Figura 19: HB Gold _____	86
Figura 20: ADAMS A1C HA-8160 _____	88
Figura 21: Reacção de formação da HBA1c (2). _____	89
Figura 22: Symex Ca-500 _____	92
Figura 23: Cascata da coagulação _____	94
Figura 24: Método de detecção foto-óptico _____	95
Figura 25: Hemostase terciaria- Fibrinólise _____	98
Figura 26: Advia Centaur XP _____	103
Figura 27: Imunoensaio do tipo Sandwich. _____	103
Figura 28: Imunoensaio competitivo _____	104
Figura 29: Ciclo menstrual _____	110
Figura 30: VIDAS _____	120
Figura 31: Perfil de anticorpos e antigénios observado no curso de uma infecção pelo HBV _____	127

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classificação de hiperlipoproteinémias	30
Tabela 2: Classificação das hipoliproteinémias.....	30
Tabela 3: Padrões electroforéticos típicos de algumas condições patológicas.....	55
Tabela 4: Tipagem ABO.....	72
Tabela 5: Determinação do Grupo RH.....	73
Tabela 6- Classificação das anemias através do VGM.....	82
Tabela 7: Classificação morfológica das anemias	82
Tabela 8: Alterações quantitativas dos glóbulos brancos	83
Tabela 9: Alterações quantitativas das plaquetas	84
Tabela 10: Fracções de hemoglobina presentes num adulto anormal	87
Tabela 11: Parâmetros analíticos e respectivas técnicas realizadas no Advia Centaur	104
Tabela 12: Diagnóstico serológico da toxoplasmose	123
Tabela 13: Marcadores serológicos de diagnóstico da hepatite B.....	127

RESUMO

O presente relatório de estágio pretende descrever todas as atividades que acompanhei e realizei durante os 6 meses de estágio curricular, realizado no âmbito do curso de Mestrado em Análises Clínicas, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa.

O estágio foi realizado no laboratório de análises clínicas Nova Era-Luz e durante o decorrer do mesmo, acompanhei as valências de Bioquímica, Hematologia e Imunologia.

Inicialmente permaneci na secção de Bioquímica onde são realizadas análises principalmente em amostras de soro (Olympus AU400 e MiniCap) e urina (Aution Max AX4280 – determinação de parâmetros químicos).

A secção de hematologia é a que engloba um maior número de técnicas manuais e de aparelhos automáticos. Os aparelhos automáticos presentes nesta secção são o Sysmex XT2000i (realização de hemogramas); o VesMatic 30/30 Plus (determinação da velocidade de sedimentação); o Adams A1C HA8160 (doseamento da hemoglobina glicada); o Hb Gold (electroforese de hemoglobinas); e o Sysmex Ca500 (estudo da coagulação sanguínea).

Por fim, passei pela secção de imunologia onde as análises são realizadas principalmente em dois aparelhos, o Advia Centaur e o VIDAS.

O relatório encontra-se dividido pelas áreas referidas e em cada uma delas apresento um fundamento teórico da técnica, princípios e ainda uma explicação dos resultados obtidos em cada um dos aparelhos presentes nas várias secções bem como das técnicas manuais.

ABSTRACT

The present report will describe all the activities that I have performed during my 6 months internship as a master student of clinical analysis at the Faculty of Pharmacy of the University of Lisbon.

I worked as an intern at Nova Era-Luz laboratory and I did several procedures in three specific areas: Biochemistry, Hematology and Immunology.

At the beginning, in the biochemistry section, I started by doing serum (Olympus AU400 e MiniCap) and urine (Aution Max AX4280 – chemical parameters) analyses.

Hematology department is the one that has a major number of manual techniques and automatic devices which include Sysmex XT2000i (CBC); VesMatic 30/30 Plus (sedimentation rate); Adams A1C HA8160 (glycated hemoglobin assay); Hb Gold (hemoglobin electrophoresis) and Sysmex Ca500 (blood coagulation assay).

Lately, in the immunology section I took contact with the two principle devices that are used for this type of analysis: Advia Centaur and VIDAS.

So, this report is divided in the three sections mentioned above and in which one of them I present a theoretical foundation of the technique, principles and an explanation of the obtained results either by device or manual technique.

APRESENTAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO/ DESCRIÇÃO GERAL DO ESTÁGIO

O meu estágio curricular, realizado no âmbito da frequência do mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, decorreu no Laboratório Nova Era - Luz localizado na rua São Tomás de Aquino nas Laranjeiras.

Este laboratório é da responsabilidade técnica do Doutor José Luís Viana e da Doutora Margarida Mendes, ambos especialistas em análises clínicas pela ordem dos farmacêuticos.

Este laboratório é um *open-space* e encontra-se apetrechado, na sua maioria, com equipamentos automatizados onde são realizadas as análises pelas técnicas de laboratório presentes. Os resultados obtidos são posteriormente validados pelos especialistas em análises clínicas.

Os serviços encontram-se todos informatizados, possuindo uma rede informática com o programa e-DeiaLab desenvolvido pela SLICE. Através deste programa informático passam todos os passos desde a abertura dos processos dos utentes até à emissão dos resultados, de modo a facilitar a parte pré-analítica, analítica e pós-analítica do laboratório de análises clínicas.

O laboratório adoptou um Sistema de Gestão da Qualidade, no qual são aplicados e cumpridos os requisitos da Norma EN ISO 9001:2008, das Normas para o Laboratório Clínico da Ordem dos Farmacêuticos e do Manual de Boas Práticas Laboratoriais.

O estágio teve a duração de 6 meses e durante o mesmo, acompanhei toda a parte pré-analítica, nomeadamente as colheitas e abertura de processos num posto de colheitas situado na Amadora, pertencente ao laboratório central referido. Após o horário das colheitas neste posto deslocava-me para o laboratório central acima referido onde realizei as valências de Bioquímica, Imunologia e Hematologia sobre as quais incidem a primeira parte deste relatório.

1º PARTE – RELATÓRIO DE ESTÁGIO

I. BIOQUÍMICA

A bioquímica é a área das análises clínicas onde o principal objectivo de estudo são as vias metabólicas e alterações nestas que possam dar origem a estados patológicos.

Estão inseridas nesta secção um grande número de análises de rotina que são requisitadas com muita frequência pelo médico como a glicemia, o colesterol e os triglicéridos.

A esta secção chegam-nos amostras de soro, urina e também de fezes.

O sangue é colhido em tubos secos de gel e mais tarde centrifugado a 3500 rpm durante 15 min de modo a se obter a amostra de soro.

Relativamente às amostras de urinas, estas podem ser chegar ao laboratório em pequenos recipientes (urina tipo II, muitas vezes ainda designada como a primeira urina da manhã ou uma amostra de urina aleatória), ou em grandes volumes quando o médico requer parâmetros que são medidos numa urina colhida durante 24 horas.

As urinas tipo II são analisadas quimicamente e posteriormente centrifugadas e observado o seu sedimento ao microscópico óptico, e as amostras de urina aleatórias procede-se apenas à determinação dos parâmetros bioquímicos pedidos.

Nas urinas de 24 horas é necessário realizar inicialmente a leitura do seu volume e posteriormente procede-se à determinação dos parâmetros bioquímicos, para os quais o volume depois é tido em conta nos cálculos finais.

As amostras de fezes são recolhidas em frascos próprios durante os dias prescritos pelo médico (ex.: 3 ou 6 dias) e chegam ao laboratório nos mesmos frascos de modo a que seja usada apenas uma mínima quantidade para análise. A principal análise bioquímica requeridas nas amostras de fezes é a determinação do composto hemoglobina.

APARELHOS AUTOMÁTICOS

Olympus AU400

O Olympus AU400 é um auto-analisador de análises químicas, no qual são realizados a maioria dos testes referentes à secção da bioquímica. Quer as amostras de soro, quer de urina podem ser analisadas neste aparelho. As técnicas realizadas pelo auto-analisador podem dividir-se segundo o seu princípio teórico: ensaios cinéticos, ensaios fotométricos, ensaios enzimáticos, imuno-turbidimétricos e possui ainda uma unidade ISE onde são determinadas espécies iónicas.



Figura 1: Auto-analisador – Olympus AU400

METABOLISMO PROTEICO

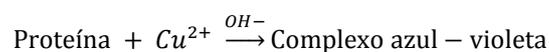
Proteínas séricas totais

As proteínas séricas consistem no total de todas as proteínas em circulação, sendo um parâmetro analítico que avalia no seu conjunto, as proteínas no plasma ou no soro. As proteínas são as moléculas biológicas mais importantes e as suas funções biológicas são numerosas (manutenção da pressão oncótica do plasma, transporte, armazenamento, imunidade entre outras).

Princípio:

Ensaio de cor fotométrico

Iões cúpricos numa solução alcalina reagem com proteínas e polipéptidos que contenham pelo menos duas ligações peptídicas, produzindo um complexo de cor violeta.



A absorvância deste complexo a 540/660 nm é directamente proporcional à concentração de proteínas na amostra (1).

Interpretação Clínica:

Um aumento das proteínas totais (hiperproteinémia) é observado em situações de desidratação, devido à ingestão de água inadequada, ou pela perda de água excessiva em situações de vômitos intensos, diarreia, doença de Addison ou acidose diabética. A hiperproteinémia pode ser ligeira e resultar de um aumento nas concentrações das proteínas presentes em concentrações baixas como as imunoglobulinas policlonais, numa infecção. Ou, por outro lado, pode ser acentuada e resultar de um aumento das imunoglobulinas monoclonais (por exemplo no mieloma múltiplo).

Uma hipoproteinémia pode ser ter como causas uma diminuição da síntese hepática de proteínas (nomeadamente da albumina que se encontra em maior concentração no soro); um aumento da excreção devido a lesão renal; distúrbios em que as proteínas não são absorvidas ou ingeridas adequadamente como na doença celíaca ou doença inflamatório dos intestinos; aumento da volémia entre outras (2).

Proteínas urinárias

As proteínas são filtradas no glomérulo renal consoante o seu peso molecular e a sua concentração no plasma. A presença de proteínas plasmáticas na urina em quantidades superiores ao normal tem assim, um grande valor interpretativo.

Princípio:

Ensaio de cor fotométrico

O vermelho de Pirogallol reage com o molibdato formando um complexo vermelho com uma absorvância máxima a 470 nm. Este complexo liga-se aos grupos amina das proteínas formando um complexo azul púrpura com uma absorvância máxima a 600 nm que é directamente proporcional à concentração de proteínas na amostra (1).

Interpretação Clínica:

A proteinúria avalia a quantidade de proteínas presentes na urina, e é um dos principais parâmetros utilizados na monitorização da função renal.

O aumento da quantidade de proteínas presentes na urina (proteinúria) ocorre com um aumento da permeabilidade glomerular (proteinúria glomerular), sendo

a albumina a principal proteína urinária excretada; por defeito na reabsorção tubular (proteinúria tubular), resultando na excreção maioritariamente de proteínas de baixo peso molecular; devido a um aumento da concentração de proteínas no plasma normais ou anormais, tais como hemoglobinas ou proteína de Bence Jones (proteinúria de sobrecarga); e secreção anormal de proteínas no tracto urinário (proteinúria pós-renal).

Alguns dos estados clínicos patológicos, nos quais há evidências de proteinúria são o síndrome nefrótico (proteinúria glomerular), mieloma múltiplo, insuficiência renal, nefrite associada ao lúpus eritematoso sistémico, glomerulonefrites e tumores renais malignos. O aumento de proteínas na urina também se pode observar em situações intermitentes como no decorrer do exercício físico ou num estado febril (2).

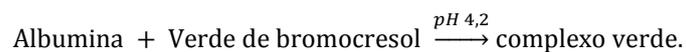
A taxa de excreção das proteínas deve ser determinada numa colheita de urina de 24 horas, uma vez que a concentração de proteínas na urina varia durante o dia.

Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma humano representado cerca de 60% das proteínas plasmáticas. É sintetizada no fígado e tem como principais funções o transporte e armazenamento de uma grande variedade de compostos, e a manutenção da pressão oncótica do plasma (2).

Princípio:

Ensaio de cor fotométrico



A absorvância do complexo é medida bicromaticamente (600/800nm) e é proporcional à concentração de albumina na amostra (1).

Interpretação clínica:

Um aumento da concentração de albumina (hiperalbúminémia) é raro, podendo ocorrer em casos de desidratação aguda ou estase venosa excessiva.

A diminuição da concentração de albumina (hipoalbuminémia) pode resultar de uma síntese prejudicada; aumento do catabolismo; perda de proteínas na urina ou nas fezes (hipoalbuminémia mais grave); absorção reduzida de aminoácidos; ou uma distribuição alterada da albumina noutros compartimentos. Níveis baixos de albumina

são vistos em doenças hepáticas como na cirrose hepática, em doenças renais como o síndrome nefrótico, situações de desnutrição, doenças inflamatórias, entre outras (2).

PCR (Proteína C reactiva)

A PCR é uma proteína de fase aguda positiva produzida pelo fígado e libertada para a circulação após algumas horas do início de uma reacção inflamatória.

Princípio:

Método de aglutinação

A PCR existente na amostra reage com partículas látex revestidas de anticorpos PCR anti-humanos, formando agregados insolúveis cuja absorvância é proporcional à concentração de PCR na amostra (1).

Interpretação clínica:

Níveis aumentados de PCR observam-se especialmente após um infarto agudo do miocárdio, em situações de trauma, infecções bacterianas e virais, cirurgia e em neoplasias.

O seu resultado pode ser positivo ou negativo (PCR reactiva), ou também um valor numérico (PCR doseada ou ultra-sensível), consoante a prescrição médica.

IMUNOGLOBULINAS

IgG

A IgG é constituída por 4 subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) e é a imunoglobulina mais abundante no sangue. Está presente em todo o corpo e participa na defesa contra a invasão bacteriana e outros antigénios. É a única imunoglobulina que atravessa a placenta e por essa razão é muito importante na defesa das crianças contra infecções.

Princípio:

Ensaio imuno-turbidimétrico

IgG presentes na amostra reagem especificamente com anticorpos IgG anti-humanos, presentes numa solução anti-soro, formando complexos antígeno-anticorpo. A absorvância destes complexos é proporcional à concentração de IgG na amostra (1).

Interpretação clínica:

Os valores de IgG encontram-se diminuídos numa agamaglobulinemia, na SIDA, como resultado de queimaduras, no síndrome nefrótico, enteropatias com perda de proteínas e mielomas não-IgG.

Níveis aumentado de IgG podem ocorrer em gamopatias monoclonais como no mieloma múltiplo do tipo IgG, em linfomas, leucemias, em gamopatias policlonais, nas doenças imunes (lúpus eritematoso sistémico, artrite reumatóide, síndrome de Sjogren), sarcoidose, doença hepática crónica, algumas doenças parasitárias e infecções crónicas ou recorrentes.

IgA

A IgA é a imunoglobulina predominante em secreções: saliva, lágrima, leite, mucosas do tracto gastrointestinal, tracto respiratório e genitourinário. Também existe como forma sérica contudo, o seu papel não é evidente. O seu principal papel é a ligação a microorganismos nas mucosas, protegendo assim o organismo.

Princípio: (igual ao da IGG)

Interpretação Clínica:

Níveis reduzidos de IgA são observados no síndrome nefrótico, gastroenteropatias com perdas proteicas severas, nas leucemias linfoblásticas agudas e crónicas, síndrome de má absorção, agamaglobulinemia congénita e adquirida, hipogamaglobulinemia entre outras. Pessoas com níveis de IgA diminuídos têm tendência a sofrer infecções com mais frequência nas mucosas, atopia e doenças auto-imunes.

Níveis aumentados de IgA estão presentes em gamopatias monoclonais, como no mieloma múltiplo do tipo IgA e em gamopatias policlonais, na doença hepática crónica, infecções crónicas, especialmente do tracto respiratório e gastrointestinal, neoplasia do tracto respiratório inferior, doença inflamatória intestinal e alguns estados de imunodeficiência tais como o síndrome de Wiskott-Aldrich e artrite reumatóide.

IgM

A IgM é a primeira imunoglobulina a responder à presença de antígenos. Circula no plasma na forma pentamérica, e o seu grande peso molecular evita a passagem para espaços extracelulares. As suas funções na resposta imunitária são a aglutinação de patogéneos e a activação da via clássica do complemento.

Princípio: (mesmo para IGG e IGA)

Interpretação Clínica:

A deficiência de IgM é rara e está associada a infecções pirogénicas recorrentes.

Os níveis de IgM vêm aumentados em gamopatias monoclonais como no caso de macroglobulinemia de Waldenström e linfoma maligno, e em gamopatias policlonais como no caso de cirrose biliar primária, infecções sanguíneas por protozoários tais como a malária, infecções virais ou bacterianas e artrite reumatóide.

PROTEÍNAS DO COMPLEMENTO

O complemento é um elemento essencial da imunidade humoral sendo constituído por proteínas. A maior parte destas proteínas são sintetizadas no fígado e circulam no plasma na sua forma inactiva (2).

C3

O C3 é sintetizado no fígado e corresponde a cerca de 70% da quantidade de proteína total do sistema complemento. O seu papel é central no processo de activação das vias clássica e alternativa.

Princípio:

Ensaio imuno-turbidimétrico

O C3 apresenta na amostra reage especificamente com anticorpos C3 anti-humanos presentes numa solução de anti-soro, formando agregados insolúveis cuja absorção é proporcional à concentração de C3 na amostra (1).

Interpretação clínica:

Os níveis de C3 estão diminuídos quando há activação quer da via clássica, quer da via alternativa. Níveis diminuídos de C3 podem estar associados a glomerulonefrite aguda, doença de complexos imunes, endocardite infecciosa, lúpus eritematoso sistémico, deficiência congénita de C3 entre outras.

Os valores de C3 estão aumentados face a respostas inflamatórias de fase aguda positiva.

C4

O C4 participa apenas na via clássica do complemento.

Princípio: (igual ao C3)

Interpretação clínica:

Níveis reduzidos de C4 podem estar associados à doença dos imunocomplexos, lúpus eritematoso sistémico, crioglobulinemia, angioedema hereditário, deficiência congénita de C4 entre outras.

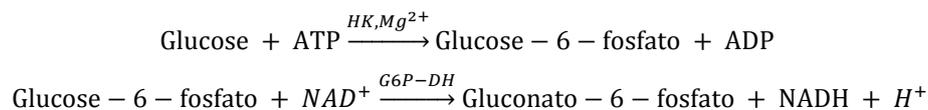
Os níveis de C4 também se encontram aumentados em respostas inflamatórias de fase aguda positiva.

METABOLISMO GLÍCIDICO**Glicose**

A glicose é uma das principais fontes de energia do organismo. A sua concentração no sangue varia entre limites bem estreitos devido à acção de várias hormonas como a insulina.

Princípio:*Ensaio UV enzimático*

A determinação da glicose é feita pelo método da hexoquinase:



A quantidade de NADH produzido é directamente proporcional à quantidade de glicose na amostra e a absorvância é medida a 340nm (1).

A glicemia pode ser medida em jejum (após 8 a 10 horas de jejum), a qualquer hora (amostra aleatória), após uma refeição (pós-prandial) ou como parte de um teste de tolerância à glicose (PTOG).

PTOG (prova de tolerância oral à glicose)

Esta prova avalia a *clearance* da glicose em circulação após uma sobrecarga (administração oral de glicose) definida e em condições controladas.

É realizada principalmente em grávidas não diabéticas como rastreio, ou em pessoas que tenham apresentado valores de glicemia em jejum aumentados. É efectuada a medição de glicose em 3 alturas: 0', 60' e 120' em grávidas e é critério de diabetes gestacional caso haja um ou mais valores alterados:

1. 0' - glicemia ≥ 92 mg/dl
2. 60' - glicemia ≥ 189 mg/dl
3. 120' - glicemia ≥ 92 mg/dl (3)

Interpretação Clínica:

Um aumento das concentrações de glicose no sangue (hiperglicemia) traduz-se numa doença metabólica- *Diabetes Mellitus*. A diabetes *Mellitus* pode apresentar 4 tipos distintos:

- Diabetes Mellitus tipo I: as elevadas concentrações de glicose resultam de uma destruição, na maioria dos casos auto-imune, das células β do pâncreas levando a um défice da hormona insulina responsável pela diminuição dos níveis de glicose;
- Diabetes Mellitus tipo II: há uma resistência à acção da insulina ou defeito na secreção da mesma, correspondendo a cerca de 90% dos casos de diabetes;
- Diabetes associada a outras causas como defeitos genéticos da acção da insulina, doenças pancreática com insuficiência endócrina ou induzida por fármacos;
- Diabetes gestacional: anomalias no metabolismo da glicose que acontecem pela primeira vez durante uma gravidez. Este tipo de diabetes, caso não seja controlada, pode ser responsável por anomalias congénitas no feto (3).

Níveis elevados de glicose em geral indicam diabetes, mas outras doenças e estados clínicos podem causar hiperglicemia tais como, o hipertiroidismo, pancreatite, síndrome de Cushing, traumatismo e infarto do miocárdio.

Níveis reduzidos de glicose no sangue (hipoglicemia) em jejum estão associados a uma série de doenças, entre as quais a ingestão de álcool, insulinomas, disfunção hepática, hipotireoidismo, defeitos congénitos enzimáticos, síndrome de Reye, septicemia e insuficiência renal crónica (2).

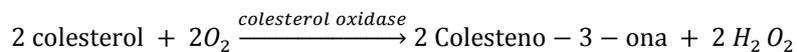
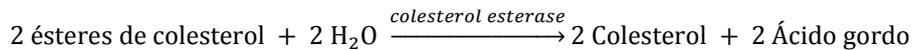
METABOLISMO LIPÍDICO

Colesterol

O colesterol é um componente essencial das membranas celulares e lipoproteínas. Actua também como precursor para a síntese de hormonas esteróides e ácidos biliares. Uma parte do colesterol é derivado da alimentação, contudo a sua maioria é sintetizada no fígado e outros tecidos (2).

Princípio:

Ensaio de cor enzimático



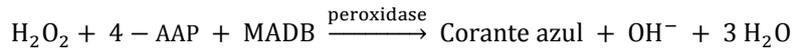
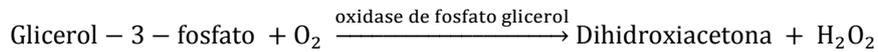
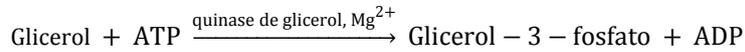
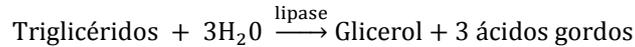
O produto final corado, quinoneimina é medido espectrofotometricamente a 540/600 nm (1).

Interpretação clínica:

Valores de colesterol alterados devem ser avaliados em conjunto com os valores de lipoproteínas (HDL e LDL) e triglicéridos - perfil lipídico.

Triglicéridos

Os triglicéridos são os ésteres de colesterol mais comuns na alimentação humana. Podem ser adquiridos pela alimentação ou produzidos pelo próprio organismo no fígado. A maior parte dos triglicéridos encontra-se no tecido adiposo, mas uma pequena quantidade circula no sangue e é usado como fonte de energia para os músculos.

Princípio:*Ensaio de cor enzimático*

O produto final corado é medido a 600/800 nm e a absorção é proporcional à quantidade de triglicéridos presentes na amostra (1).

Interpretação clínica:

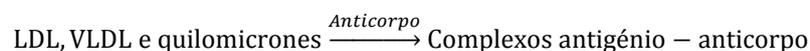
O valor de triglicéridos também inclui o perfil lipídico na avaliação do risco de doenças coronárias. Contudo, valores muito elevados de triglicéridos também estão associados a um grande risco de desenvolvimento de pancreatites.

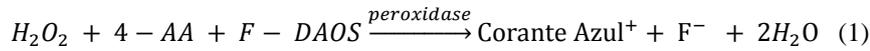
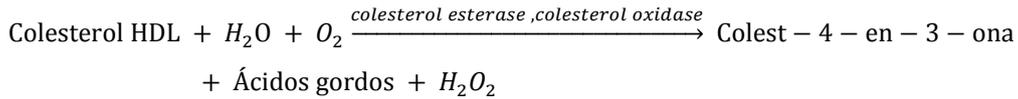
LIPOPROTEÍNAS**Colesterol HDL**

O colesterol HDL corresponde ao colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidade (HDL). As HDL removem o colesterol dos tecidos para o fígado, para ser metabolizado ou excretado. No fígado é transformado em ácidos biliares que são excretados para os intestinos através das vias biliares (2).

Princípio:*Ensaio de cor enzimático*

O anticorpo anti-lipoproteína-β-humana vai-se ligar às lipoproteínas (LDL, VLDL e quilomicra) formando complexos antígeno-anticorpo que ficam assim bloqueados impedindo a acção do sistema enzimático nestas lipoproteínas. Assim, só o colesterol HDL é quantificado pelo seguinte sistema de reacções:





Interpretação Clínica:

Os valores de HDL devem ser interpretados juntamente com os outros parâmetros referentes ao perfil lipídico, contudo valores baixos de HDL constituem um factor de risco para doenças das artérias coronárias.

Colesterol LDL

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) transportam uma grande parte do colesterol do fígado até aos tecidos, onde irá ser utilizado. São estas lipoproteínas que são responsáveis pelos depósitos do colesterol nas paredes das artérias, formando as placas da aterosclerose (2).

Princípio:

A determinação do colesterol LDL é calculada através da fórmula de Friedwald:

$$\text{LDL (mg/dL)} = \text{Colesterol total} - (\text{Triglicéridos} / 5 + \text{HDL})$$

Nota: Esta fórmula traduz resultados inválidos quando o valor dos triglicéridos é superior a 400 mg/dl.

Interpretação Clínica:

Ao contrário do colesterol HDL, níveis elevados de LDL encontram-se associados a um maior risco de desenvolvimento de aterosclerose.

AValiação DO PERFIL LIPÍDICO

Os valores de colesterol, triglicéridos, HDL e LDL constituem o perfil lipídico e são importantes para a avaliação do risco de doença cardíaca coronária. Concentrações elevadas de lípidos traduzem-se por hiperlipoproteinémias e reduzidas por hipolipoproteinémias.

HIPERLIPOPROTEINÉMIAS

As hiperlipoproteínemias podem ser classificadas de acordo com 5 fenótipos segundo a classificação de Fredrickson (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação de hiperlipoproteínemias (2)

Fenótipo	Lipoproteína elevada	Col.	Trig.	HDL	LDL	Associação Clínica
I (rara)	QM	N a ↑	↑↑↑↑	N a ↓	N	Pancreatite aguda, dor abdominal, baixa incidência de DCV (doença cardiovascular) e aterosclerose
IIA (comum)	LDL	↑↑	N	N a ↓	↑↑	Risco aumentado de DCV
IIB (comum)	LDL e VLDL	↑↑	↑↑↑	N a ↓	↑↑	Risco aumentado de DCV
III (interm.)	IDL	↑↑	↑↑↑	N a ↓	N a ↓	Risco aumentado de DCV
IV (comum)	VLDL	N a ↑	↑↑	N a ↓	N	Risco aumentado de DCV
V (rara)	VLDL e Qm	N a ↑	↑↑↑↑	N a ↓	N	Risco aumentado de DCV e pancreatite

HIPOLIPOPROTEINÉMIAS

Tabela 2: Classificação das hipolipoproteínemias (2)

Fenótipo	Lipoproteína anormal	Col.	Trig.	HDL	LDL	Associação Clínica
Abetalipoproteinemia	LDL	↓↓↓↓	↓↓	N	ausente	Má absorção; deficiência mental; falha no crescimento
Hipobetalipoproteinemia	LDL	↓ a ↓↓↓↓	N	N	↓↓	Risco diminuído de DCV
Analfalipoproteinemia (Doença de Tangier)	HDL	N a ↓↓	N	ausente	N	Risco aumentado de hiperesplenismo e DCV
Hipoalfalipoproteinemia	HDL	N a ↓↓	N a ↓↓	N a ↓↓	N a ↑↑	Risco aumentado de

N a ↑↑ ↓↓

DCV

APOLIPOPROTEÍNAS

Apolipoproteína B

A apolipoproteína B desempenha um papel essencial no fornecimento do colesterol para os tecidos. Existe sobre duas formas: Apo B100 e apo B48. A apo B100 é a forma mais importante e a que está presente nas lipoproteínas sintetizadas no fígado (VLDL e LDL). A apo B48 é uma proteína estrutural constituinte das quilomicra.

Princípio:

Ensaio imuno-turbidimétrico

A Apo B presente na amostra reage especificamente com anticorpos Apo B anti-humanos contidos numa solução anti-soro formando agregados insolúveis. A absorção destes agregados é proporcional à concentração de Apo B na amostra (1).

Interpretação clínica:

Os níveis elevados de apo B estão associados a um aumento do risco da doença das artérias coronárias estando a sua concentração aumentada nas hiperlipoproteinémias.

Níveis diminuídos estão presentes na abetalipoproteinemias e hipobetalipoproteinemia.

Apolipoproteína A1

A apolipoproteína A1 é sintetizada pelo intestino e pelo fígado e, é o principal constituinte das HDL. A apoA1 desempenha um papel importante na eliminação do excesso de colesterol dos tecidos extra-hepáticos e activação da LCAT (lecitina:colesterol aciltransferase).

Princípio: (igual ao anterior)

Interpretação Clínica:

A concentração de Apo A1 encontra-se principalmente diminuída na analfalipoproteinemia e hipoalfalipoproteinemia e aumentada na hiperalfalipoproteinemia familiar.

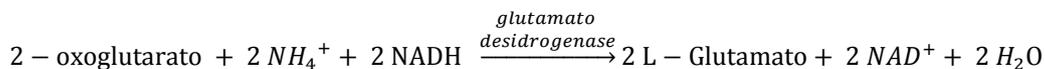
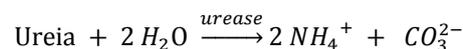
FUNÇÃO RENAL

Ureia

A ureia é o principal produto final do metabolismo proteico. É sintetizada no fígado e excretada em grande quantidade na urina, sendo apenas uma mínima quantidade reabsorvida pelos rins.

Princípio:

Ensaio UV cinético



A redução da absorvância de NADH por unidade de tempo é proporcional à concentração de ureia. (1)

Interpretação Clínica:

Soro

O doseamento da ureia em conjunto com a determinação da creatinina no soro são frequentemente determinadas para a avaliação da função renal.

Os valores de ureia podem surgir aumentados como resultado de uma perfusão diminuída dos rins (infarte do miocárdio, choque, insuficiência cardíaca congestiva); aumento do catabolismo proteico; desidratação; como resultado de doenças renais (insuficiência renal crónica e aguda, glomerulonefrite); e em causas pós-renais causadas por situações que levam à obstrução do fluxo urinário (tumores do aparelho urinário e na próstata, cálculos renais).

A hipoproteinemia não apresenta qualquer significado clínico na avaliação da função renal. Podem observar-se valores diminuídos de ureia em jejuns prolongados, como consequência de uma dieta pobre em proteínas ou doenças hepáticas graves. (2)

Urina

Níveis aumentados podem surgir com um aumento do catabolismo proteico, dietas hiperproteicas ou hipertiroidismo, enquanto níveis reduzidos observam-se na insuficiência renal e hepática, dietas pobres em proteínas e obstruções do tracto urinário.

Creatinina

A creatinina resulta do metabolismo da creatina e da fosfocreatina no músculo. A creatinina é libertada para o plasma e excretada pelos rins numa velocidade constante, que é proporcional à massa muscular da pessoa.

Princípio:

Ensaio de cor cinético

A creatinina forma um complexo amarelo alaranjado com o ácido pícrico num meio alcalino, cuja absorvância a 520/580 nm é proporcional à concentração de creatinina na amostra (1).

Interpretação Clínica:

A creatinina é um óptimo parâmetro de avaliação da função renal, já que a sua produção, apenas depende do metabolismo celular muscular e, é quase exclusivamente eliminada por filtração glomerular, não sendo influenciada directamente pela ingestão de alimentos.

Como quase toda a creatinina é removida do corpo pelos rins, os níveis sanguíneos de creatinina são uma indicação da capacidade de filtração dos glomérulos.

Um aumento dos níveis de creatinina no soro indica problemas que afectam a função renal, tais como glomerulonefrites, pielonefrites, necrose tubular aguda, obstruções do trato urinário por cálculos, redução da perfusão renal devido a situações de choque, desidratação, insuficiência cardíaca congestiva ou aterosclerose entre outras causas. Níveis sanguíneos elevados de creatinina podem ser observados temporariamente após lesões musculares.

Uma redução nos valores de creatinina, normalmente é devido a causas fisiológicas e são observados durante a gravidez, perda de massa muscular e terapêutica com esteróides (2).

Os níveis de creatinina sanguíneos são avaliados em conjunto com os níveis urinários, recorrendo a uma urina de 24 horas para o cálculo da depuração da creatinina.

Depuração da creatinina

Este parâmetro é calculado de modo a avaliar a velocidade e a eficiência da filtração renal. Para o cálculo da depuração é necessário uma medida da concentração de creatinina numa amostra de sangue e numa amostra de urina de 24 horas.

A depuração de creatinina é calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Depuração (ml/min)} = \frac{\text{creatinúria (mg/dL)} \times \text{volume (ml)}}{\text{creatinémia (mg/dL)} \times 1400 \text{ (s)}}$$

Como a quantidade de creatinina produzida depende da massa muscular, o cálculo usa um factor de correcção que tem em conta a área de superfície corporal padrão (1,73) e a área de superfície corporal do paciente, calculada a partir do peso corporal e da altura. O resultado após esta correcção pode assim ser comparado com os valores de referência.

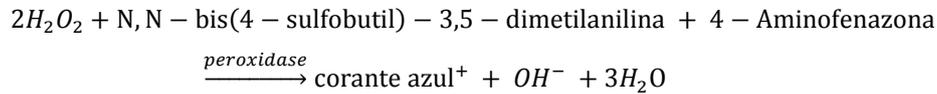
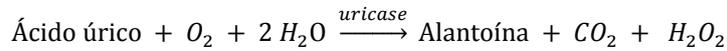
Interpretação Clínica:

A depuração da creatinina varia inversamente com a concentração de creatinina no soro, ou seja, quando a creatinina no soro é elevada (situações acima referidas) a depuração é diminuída, indicando dano renal.

Um aumento da depuração da creatinina pode ser observado ocasionalmente durante a gravidez, após exercícios ou após a ingestão de grandes quantidades de carne, mas o exame em geral não é usado nesses casos.

Ácido úrico

O ácido úrico é um composto nitrogenado abundante na urina e resulta como produto final do metabolismo de degradação das purinas (adenina e guanina). É excretado, sobretudo na urina (cerca de 75%) e o restante nos intestinos.

Princípio:*Ensaio de cor enzimático*

O produto final colorido é lido bicromaticamente a 660/800 nm e a absorvância é proporcional à concentração de ácido úrico na amostra (1).

Interpretação clínica:*Soro*

O ácido úrico não é considerado um bom parâmetro de avaliação da função renal devido à presença de alterações metabólicas ou alimentares que aumentam a sua concentração plasmática (hiperuricemia) sem que haja a disfunção renal.

A hiperuricemia encontra-se presente em várias doenças:

- Doenças com o catabolismo proteico aumentado, como é o caso da gota em que há deposição de cristais de ácido úrico nas articulações, doenças mieloproliferativas e terapia com drogas tóxicas (quimioterapia em leucemias e linfomas);
- Doenças renais, como na insuficiência renal crónica, envenenamentos com chumbo ou alcoolismo;
- Defeitos enzimáticos específicos como a deficiência de hipoxantina-guaninafosforribosil transferase ou de glucose-6-fosfato.

A hipouracemia pode ser consequência da diminuição da síntese (deficiência em xantina oxidase, disfunção hepática aguda), deficiência tubular renal e ainda por acção de certas drogas, como a varfarina (2).

Urina

Níveis elevados de ácido úrico na urina são observados em situações como a gota, mieloma múltiplo, leucemias, linfomas e dieta rica em purinas, e estão associados a um risco de formação de cálculos renais, por outro lado, níveis reduzidos podem ocorrer em doenças renais, dieta pobre em purinas e alcoolismo crónico.

Microalbuminúria

A microalbuminúria traduz a presença de albumina em amostras de urina, em quantidades superiores ao normal, ou seja, excreção urinária de albumina superior a 30 mg/dia. A albumina encontra-se presente em grandes quantidades no sangue, mas quase nenhuma é eliminada na urina quando a função renal está normal. Contudo, quando há uma lesão ou doença renal a albumina é eliminada na urina (4).

Princípio:

Ensaio imuno-turbidimétrico

A albumina humana reage especificamente com anticorpos de albumina anti-humanos presentes numa solução anti-soro formando agregados insolúveis, cuja absorvância destes, é proporcional à concentração de albumina na amostra (1).

Interpretação clínica:

A determinação de microalbuminúria é importante no controlo dos doentes com diabetes *Mellitus*, uma vez que a presença da microalbuminúria nestes doentes indica um comprometimento renal (nefropatia diabética). A microalbuminúria é um factor de risco da evolução para nefropatia clínica em doentes com Diabetes *Mellitus* tipo 1 e representa também um risco aumentado de doença renal progressiva e morbilidade e mortalidade cardiovascular na Diabetes *Mellitus* tipo 2 (5).

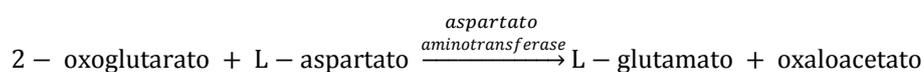
FUNÇÃO HEPÁTICA

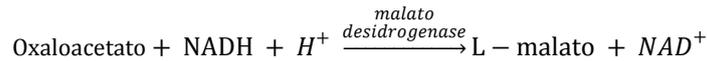
AST /GOT

O aspartato aminotransferase é uma das duas transaminases responsáveis pela transformação de cetoácidos em aminoácidos pela transferência de grupos amina. Encontra-se presente numa variedade de tecidos, tendo actividade máxima no fígado e sistema músculo-esquelético (2).

Princípio:

Ensaio UV cinético





A redução da absorvância devido ao consumo de NADH é medida a 340 nm e é proporcional à actividade de AST na amostra (1).

Interpretação clínica:

Como a AST encontra-se presente em altas concentrações no citoplasma e nas mitocôndrias do fígado, músculos esquelético e cardíaco, rins, pâncreas e eritrócitos, quando qualquer um desses tecidos é danificado, a AST é libertada no sangue e o seu aumento está associado a uma lesão de qualquer um destes órgãos.

Níveis aumentados de AST podem ser detectados em hepatites agudas na maioria víricas (níveis muito aumentados), doenças hepáticas associadas a necrose, cirrose hepática, colestase extra-hepática, carcinoma hepático excepto nos estadios iniciais de doença, distrofia muscular progressiva, dermatomiosite, embolia pulmonar.

Elevações ligeiras a moderadas da AST podem ocorrer na pancreatite aguda, doença hemolítica, gangrena, lesões por esmagamento muscular, após a ingestão de álcool ou administração de drogas como os opiáceos.

A actividade da AST também se eleva após um infarto do miocárdio e o seu doseamento pode ser útil na monitorização da evolução.

Os valores de AST podem encontrar-se falseados em amostra de soro hemolisadas, uma vez que a AST está presente nos eritrócitos numa concentração superior à do soro normal.

ALT/GPT

A alanina aminotransferase é a outra transaminase. É a enzima mais específica do fígado e, elevações nesta enzima raramente são encontradas em condições sem ser nas doenças hepáticas.

Encontra-se presente no citoplasma dos hepatócitos e quando os níveis estão aumentados significa deterioração da integridade da membrana dos hepatócitos (2).

Princípio: Igual ao anterior

Interpretação Clínica:

Níveis acentuadamente elevados de ALT podem ser detectados nas hepatites víricas, hepatites tóxicas, cirrose, mononucleose, carcinoma hepatocelular, colestase

extra-hepática, lesões hepáticas após insuficiência cardíaca. Níveis moderados também podem ser detectados após a ingestão de álcool ou administração de drogas.

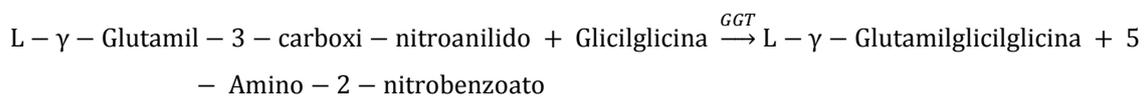
γ Gt

O gama-glutamil transferase é uma enzima que catalisa a transferência de aminoácidos de um péptido para um aminoácido ou outro péptido.

O γ GT existe em todas as células do organismo, excepto nas dos músculos, contudo a enzima presente no soro parece originar essencialmente do sistema hepatobiliar (2).

Princípio:

Ensaio de cor cinético



A alteração na absorvância a 410/480 é directamente proporcional à actividade do γ GT na amostra (1).

Interpretação clínica:

O γ GT é um indicador enzimático muito sensível de doenças hepatobiliares, e a sua actividade é elevada em todas as formas de doença hepática.

Níveis aumentados de γ GT ocorrem na colestase intra ou extra-hepática (em níveis muito acentuados), no carcinoma hepático primário ou metastático, pancreatite aguda e crónica e cirrose. O γ GT aumenta em doentes com icterícia obstrutiva, colangite e colecistite havendo elevação mais cedo e durante mais tempo que a fosfatase alcalina.

Elevações da γ GT também podem estar associadas, sem nenhum significado patológico, ao consumo de grandes quantidades de álcool e algumas drogas que causam efeito tóxico no tecido hepático.

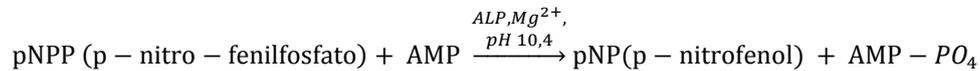
ALP

A fosfatase alcalina é uma enzima presente em quase todos os tecidos, encontrando-se especialmente em níveis elevados no epitélio intestinal, túbulos renais,

osteoblastos, fígado e placenta. A sua função encontra-se associada ao transporte dos lípidos e calcificação dos ossos.

Princípio:

Ensaio de cor cinético



A formação de pNP é lida bicromaticamente a 410/480 nm, e é directamente proporcional à concentração de fosfatase alcalina na amostra (1).

Interpretação Clínica:

O doseamento da fosfatase alcalina é particularmente importante no estudo das doenças hepatobiliares e doenças ósseas.

Nas doenças hepatobiliares os níveis de fosfatase alcalina encontram-se aumentados em situações de obstrução extra e intra-hepática, obstrução intra-hepática do fluxo biliar e hepatites infecciosas.

Em doenças ósseas os níveis de ALP encontram-se elevados na doença de Paget, osteomalacia, raquitismo, carcinoma ósseo osteogénico, e em doenças secundárias dos ossos como o hiperparatiroidismo, insuficiência renal, mieloma múltiplo ou sarcoidose.

Mulheres na gravidez de terceiro trimestre também apresentam níveis elevados de fosfatase alcalina, nomeadamente da fosfatase alcalina placentária.

Bilirrubinas

Bilirrubina total

A maioria da bilirrubina produzida (cerca de 85%) é derivada da fracção heme da hemoglobina libertada pela decomposição dos eritrócitos senescentes, destruídos nas células do sistema retículo-endotelial do fígado, baço e medula óssea. Os restantes 15% resultam dos precursores dos eritrócitos, destruídos na medula óssea e do catabolismo de outras proteínas contendo o grupo heme como a mioglobina e os citocromos.

Princípio:

Ensaio de cor fotométrico

A reacção é lida a 540nm sendo a absorvância proporcional à concentração de bilirrubina total na amostra (1).

Interpretação clínica:

O aumento da concentração de bilirrubina total deve-se quer a um aumento da bilirrubina não-conjugada, aumento da bilirrubina conjugada ou de ambas.

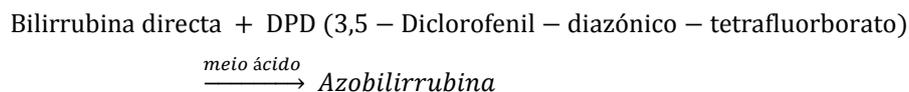
A hiperbilirrubinemia não conjugada inclui a anemia hemolítica, reacções transfusionais, infecções virais e bacterianas, doença rara em que a actividade do UDP:bilirrubina glicironil-tranferase é totalmente ausente (síndrome de Crigler-Najjar tipo I) ou reduzida (síndrome de Crigler-Najjar tipo II) e a síndrome de Gilbert (distúrbio mais comum).

A hiperbilirrubinemia conjugada deve-se a obstruções do fluxo da bÍlis como a colestase, hepatite alcoólica, hepatite vírica aguda, colangite, cirrose biliar, mononucleose, carcinoma (fÍgado, vias biliares ou pâncreas) e síndrome de Dubin-Johnson em que a excreção de bilirrubina para a bÍlis é prejudicada (2).

Amostras hemolisadas devem ser evitadas, pois conduzem a resultados falsamente baixos.

Bilirrubinas Directa (ou conjugada)

Como a bilirrubina é insolúvel no plasma, esta é transportada ligada à albumina até ao fÍgado onde vai ser conjugada com o ácido glucorónico tornando-a hidrossolúvel (*Bilirrubina directa*), sendo depois eliminada pela bÍlis (2).

Princípio:*Ensaio de cor fotométrico*

A reacção é lida a 570nm sendo a absorvância proporcional à concentração de bilirrubina directa na amostra (1).

Interpretação Clínica:

As situações que elevam a bilirrubina directa ou conjugada estão referidas acima na interpretação da bilirrubina total.

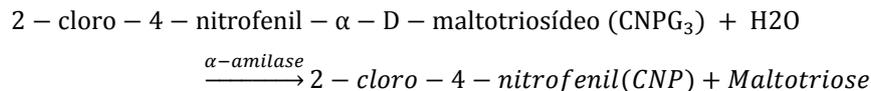
FUNÇÃO PANCREÁTICA

Amilase

As amilases são um grupo de hidrolases que fraccionam os glícidos complexos. No organismo estão presentes em diversos órgãos e tecidos. Contudo, estão presentes em maior concentração no pâncreas e nas glândulas salivares onde actuam na hidrólise dos glícidos provenientes da alimentação (2).

Princípio:

Teste de cor cinético



A medição da absorvância é lida a 410nm e é proporcional à actividade de amilase na amostra (1).

Interpretação Clínica:

A amilase está presente no sangue e urina em pequenas quantidades. Quando há lesão das células dos órgãos produtores de amilase, como nas pancreatites, os níveis sanguíneos e urinários da enzima elevam-se.

Soro

A medição da amilase no soro encontra-se muitas vezes associada à medição da lipase no diagnóstico e acompanhamento de pancreatites e doenças do pâncreas.

São muitas as causas que levam a um aumento da actividade da amilase. Entre elas destacam-se a pancreatite aguda e crónica e suas complicações; carcinoma pancreático; obstruções intestinais, das vias biliares e do canal pancreático; peritonite; apendicite; lesões das glândulas salivares; insuficiência renal; tumores do pulmão e

serosos do ovário; cetoacidose diabética; intoxicação alcoólica aguda; ou uso de drogas tóxicas.

A hipoamilasemia foi observada na fibrose quística avançada, doença hepática grave e pancreatectomia.

Urina

A amilase é filtrada no glomérulo e excretada na urina. Na pancreatite observam-se aumentos na excreção de urina conduzindo a uma elevação da enzima na urina muitas vezes até mesmo antes da sua elevação no soro.

METABOLISMO DO FERRO

Ferro sérico

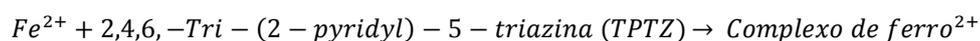
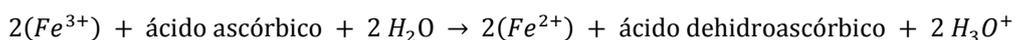
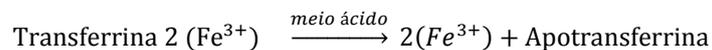
O ferro é um elemento essencial, pois participa numa série de processos vitais para o organismo que vão desde os mecanismos de oxidação celular ao transporte de oxigénio para as células. Participa também na produção de proteínas importantes, como a hemoglobina, mioglobina e algumas enzimas.

É absorvido através da alimentação e transportado pelo organismo pela transferrina. Cerca de 70% do ferro absorvido é necessário para a produção das hemácias sendo incorporado à hemoglobina e o restante é armazenado na forma de ferritina ou hemossiderina.

A concentração de ferro medida no soro é principalmente o Fe^{3+} ligado à transferrina, não inclui o ferro existente no soro como hemoglobina livre.

Princípio:

Ensaio de cor fotométrico



(complexo de cor azul)

O composto colorido formado é medido bicromaticamente a 600/800nm. O aumento na absorvância é directamente proporcional à quantidade de ferro ligado à transferrina (1).

Interpretação Clínica:

Um aumento da concentração de ferro ocorre nas doenças por excesso de ferro como na hemocromatose (doença autossómica recessiva). Concentrações superiores às normais também podem resultar de um aumento da ingestão de ferro, de múltiplas transfusões de sangue, de casos de envenenamento agudo por ferro, principalmente em crianças após a ingestão de medicamentos com ferro, ou doenças hepáticas.

Concentrações reduzidas de ferro são observadas em anemias por falta de ferro, em distúrbios inflamatórios crónicos, em infecções agudas como no infarto do miocárdio, em hemorragias recentes ou agudas, doenças malignas, gravidez tardia e menstruação.

Ferritina

A ferritina é uma fonte de armazenamento de ferro rapidamente disponível. É encontrada em quase todas as células e o seu doseamento permite avaliar a quantidade de ferro armazenada no organismo.

Princípio:

Ensaio imuno-turbidimétrico

A ferritina presente na amostra aglutina com partículas látex revestidas com anticorpos anti-ferritina de coelho formando complexos antigénio-anticorpo cuja absorvância é lida espectrofotometricamente (1).

Interpretação Clínica:

O doseamento da ferritina é um indicador sensível dos níveis de ferro presentes no organismo. Variações na concentração de ferro são reflectidas nos valores de ferritina.

Concentrações diminuídas de ferritina estão presentes nas anemias por défice de ferro.

Por outro lado, concentrações aumentadas são observadas em doenças crónicas como a artrite reumatoide ou doença renal; leucemias e linfomas; hepatites virais; ou hemocromatose.

O seu doseamento é importante, sobretudo no decorrer do tratamento de anemias ferropénicas, uma vez que a sua normalização traduz-se numa reconstituição das reservas de ferro (2).

Transferrina

A transferrina é uma glicoproteína, em grande parte sintetizada no fígado. Esta proteína tem como principal função a captação do ferro das suas reservas e transporte por todo o corpo. A sua síntese é inversamente proporcional à quantidade de ferro intracelular (2).

Princípio:

Ensaio imuno-turbidimétrico

A transferrina presente na amostra reage especificamente com anticorpos de transferrina anti-humanos presentes numa solução anti-soro formando agregados insolúveis, cuja absorvância é proporcional à concentração de transferrina na amostra (1).

Interpretação clínica:

Níveis aumentados de transferrina observam-se em casos de carência de ferro como nas anemias por falta de ferro, em hemorragias, durante a gravidez e na administração de estrogénios.

A transferrina é uma proteína de fase aguda negativa, logo as suas concentrações vêm diminuídas em estados inflamatórios. Níveis diminuídos ocorrem também em condições associadas a um aumento de perda de proteínas, tais como o síndrome nefrótico, estados de deficiência de proteínas e na doença hepática crónica.

FUNÇÃO CARDÍACA

CK ou CPK

A creatina quinase é uma enzima que catalisa a fosforilação reversível da creatina por ATP. Apresenta-se na forma de dímero, cuja subunidades M (músculo) e B (cérebro) originam três isoenzimas:

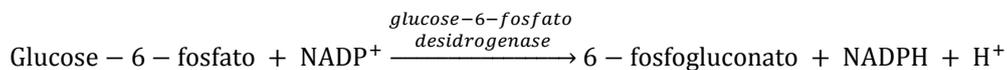
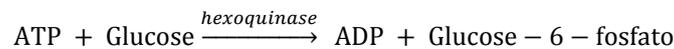
- CK-MM (encontrada principalmente nos músculos esqueléticos);

- CK-MB (encontrada principalmente no coração);
- CK-BB (encontrada principalmente no cérebro).

A presença de CK no sangue provém principalmente dos músculos. A CK do cérebro quase nunca passa para o sangue (4).

Princípio:

Ensaio UV cinético



O aumento da absorvância a 340/660 nm devido à formação de NADPH é directamente proporcional à actividade de CK na amostra (1).

Interpretação clínica:

Os níveis sanguíneos de creatina quinase (CK) elevam-se quando há uma lesão do músculo-esquelético ou do músculo cardíaco.

As lesões do músculo esquelético que elevam a CK são principalmente as da distrofia muscular progressiva (do tipo Duchenne, particularmente).

Ao nível do músculo cardíaco, a CK encontra-se elevada após um infarto agudo do miocárdio e situações de trauma cardíaco, normalmente após cirurgia cardíaca. Situações como angina do peito, choque cardiogénico, miocardite, taquicardia, insuficiência cardíaca congestiva entre outras também podem conduzir a um aumento da actividade de CK total.

Situações como exercício físico intenso, alguns medicamentos como estatinas podem conduzir a resultados falsamente positivos (2).

LDH

A lactato desidrogenase é uma enzima que catalisa a oxidação reversível do L-lactato em piruvato utilizando NAD^+ como aceitador de hidrogénio. Encontra-se

presente em quase todas as células do organismo, mais concretamente no citoplasma e eleva-se após lise celular.

A actividade de LDH total reflecte um doseamento geral das cinco isoenzimas da LDH:

- LDH-1: músculo cardíaco, eritrócitos, rim e células germinativas;
- LDH-2: músculo cardíaco, eritrócitos e rim;
- LDH-3: pulmões e outros tecidos;
- LDH-4: leucócitos, nódulos linfáticos, músculo e fígado;
- LDH-5: fígado e músculo esquelético (4).

Princípio:

Ensaio UV cinético



O aumento do NADH é medido a 340nm e é directamente proporcional à actividade enzimática na amostra (1).

Interpretação clínica:

Os níveis de LDH encontram-se elevados numa ampla variedade de situações como resultado da sua distribuição generalizada nos tecidos. Assim, níveis elevados de LDH surgem no músculo cardíaco após um infarto agudo do miocárdio, miocardite, insuficiência cardíaca e na presença de próteses de válvulas cardíacas; no fígado numa hepatite vírica, hepatite tóxica com icterícia, mononucleose; no músculo-esquelético numa distrofia muscular progressiva; nos eritrócitos na presença de hemólise; e nos rins numa glomerulonefrite crónica, lúpus eritematoso sistémico, nefrosclerose diabética.

Situações como exercício físico intenso e hemólise podem afectar os valores de LDH, causando resultados falsamente positivos. A concentração de LDH nas hemácias é cerca de 150 vezes superior à do plasma/soro (2).

METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO

Cálcio total

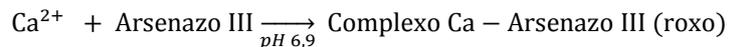
O cálcio é um composto mineral essencial para o bom funcionamento dos músculos, nervos e do coração. É necessário na coagulação do sangue e na formação

dos ossos. Cerca de 99% do cálcio é encontrado nos ossos, e o restante encontra-se nos tecidos moles e líquido extracelular.

O cálcio encontra-se no sangue em três formas: cálcio livre ou ionizado (cerca de 50% correspondendo à fracção fisiologicamente activa), cerca de 40% ligado a proteínas, e cerca de 10% complexado.

Princípio:

Ensaio de cor fotométrico



O aumento da absorvância é medido a 660/700nm e é proporcional à concentração de cálcio na amostra (1).

Interpretação clínica:

Algumas das causas que levam a um aumento da concentração de cálcio (hipercalcemia) são o hiperparatireoidismo primário e tumores ósseos como causas mais comuns, a sarcoidose, excesso de vitamina D (suplementação excessiva ou doses terapêuticas excessivas), hipertireoidismo, tuberculose, imobilização prolongada e transplantação renal. Concentrações de cálcio acima dos valores normais resultam numa excitabilidade neuromuscular diminuída e fraqueza muscular.

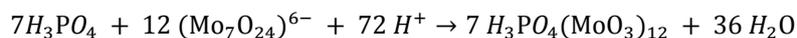
Por outro lado, uma diminuição da concentração do cálcio no soro (hipocalcemia) tem como causa principal a hipoalbuminemia (redução da ligação do cálcio à albumina traduzindo-se numa falsa hipocalcemia). Outras causas de hipocalcemia são a insuficiência renal crónica, o hipoparatiroidismo, uma diminuição da ingestão de cálcio, deficiência de vitamina D, pancreatite aguda e uma diminuição dos níveis de magnésio. A hipocalcemia resulta em tetania muscular (2).

Fosfato (Fósforo inorgânico)

A maioria do fosfato no soro existe na forma inorgânica (Pi). Os fosfatos são vitais para a produção de energia, função muscular e nervosa e crescimento ósseo.

Princípio:

Ensaio UV fotométrico



A absorvância do complexo é lida a 340/380nm e é directamente proporcional à concentração de fósforo inorgânico na amostra (1).

Interpretação Clínica:

Um aumento dos níveis de fosfato no soro (hiperfosfatemia) normalmente encontra-se associado a uma insuficiência renal aguda ou crónica, como consequência de uma diminuição da excreção urinária do fósforo. Elevações dos níveis de fosfato também podem ocorrer no hipoparatiroidismo, acromegalia, intoxicação por vitamina D, ingestão aumentada de fosfatos e como resultado da transferência do fósforo das células para o espaço extracelular, no decorrer de quimioterapias agressivas e graves rabdomiólises.

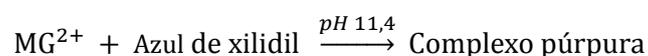
Uma diminuição dos níveis de fosfato (hipofostatemia) é provocada por uma ingestão inadequada de fosfatos ou absorção reduzida. Algumas das causas da hipofosfatemia são o raquitismo e a osteomalacia (défice de vitamina D), síndrome de *Fanconi* (defeito de reabsorção tubular), hiperparatiroidismo primário e secundário, tratamento de diabéticos com insulina, síndrome de má absorção e ingestão de antiácidos contendo hidróxido de alumínio que conduz à formação de fosfatos de alumínio não absorvíveis no tubo digestivo.

Magnésio

O magnésio é um catião intracelular encontrado em quase todas as células, sendo que cerca de 55% do magnésio total está presente principalmente nos ossos. É essencial em diversas reacções enzimáticas importantes, onde funciona como co-factor ou activador. O magnésio desempenha ainda um papel importante na glicólise, fosforilação oxidativa, respiração celular, metabolismo nucleótido, biossíntese proteica e transporte de cálcio membranar.

Princípio:

Ensaio de cor fotométrico



A cor produzida é medida bicromaticamente a 520/580 nm e é proporcional à concentração de magnésio na amostra (1).

Interpretação Clínica:

Os baixos níveis de magnésio (hipomagnesemia) no sangue podem resultar de uma baixa ingestão de magnésio; perda de magnésio nos intestinos sobretudo devido a diarreias, pancreatite aguda e má absorção; ou perda urinária que ocorre no diabetes *mellitus*, alcoolismo, e uso de medicamentos.

A hipermagnesemia surge sobretudo nas insuficiências renais agudas ou crónicas onde há uma diminuição da excreção de magnésio e também em situações onde há uma ingestão excessiva de magnésio (antiácidos contendo magnésio).

Amostras de soro contendo hemólise podem provocar resultados falsamente positivos uma vez que as hemácias têm maior quantidade de magnésio que o soro.

DOENÇAS AUTO-IMUNES

Factor reumatóide

Os factores reumatóides são auto-anticorpos dirigidos contra a fracção FC das imunoglobulinas. Geralmente são anticorpos da classe IgM, mas também podem ser IgG, IgA ou IgE (6).

Princípio:

Ensaio imuno-turbidimétrico

O factor reumatóide presente na amostra vai reagir com partículas de látex revestidas com IgG humana, formando complexos imunes insolúveis, cuja absorvância é proporcional à concentração de FR na amostra (1).

Interpretação Clínica:

O factor reumatóide é geralmente usado como teste auxiliar no diagnóstico da artrite reumatóide, positivando em cerca de 80% dos pacientes com artrite reumatóide.

Quanto maiores forem os níveis de FR, maiores serão as possibilidades de uma doença articular mais destrutiva. Contudo, este anticorpo não é específico para a artrite reumatóide, e outras doenças como lúpus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren,

doença mista do tecido conjuntivo (DMTC), doenças infecciosas (hepatite, sífilis, mononucleose infecciosa, parasitas, e tuberculose) também podem apresentar factor reumatóide positivo.

O factor reumatóide também pode estar positivo na população saudável (cerca de 10%), especialmente em idosos sem que isso indique qualquer doença.

DOENÇAS INFECCIOSAS

ASO (anticorpos anti-estreptolisina O)

A estreptolisina O é uma hemolisina (toxina) produzida por *Streptococcus* do Grupo A, bactérias responsáveis por faringites estreptocócicas. A estreptolisina O actua como antigénio e provoca a síntese de anticorpos facilmente titulados.

Princípio

Ensaio imuno-turbidimétrico:

Os anticorpos anti-estreptolisina O presentes na amostra vão reagir com partículas látex revestidas com estreptolisina O formando complexos insolúveis cuja absorvância é proporcional à concentração de ASO na amostra (1).

Interpretação Clínica:

Uma elevação do título de anticorpos anti-estreptolisina O é indicativa de contacto com a bactéria *Streptococcus* do Grupo A. Os anticorpos são detectados a partir de uma semana da infecção e alcançam níveis máximos entre 4 a 6 semanas, permanecendo detectáveis em níveis decrescentes durante vários meses após a cura. Assim, níveis de anticorpos anti-estreptolisina O altos ou crescentes indicam uma infecção estreptocócica recente. Níveis decrescentes indicam uma infecção curada.

A ASO pode positivar em doenças resultantes da infecção pelo *Streptococcus* do Grupo A, tais como faringites, amigdalites, endocardites, escarlatina, erisipela, febre reumática, e glomerulonefrite aguda.

ELECTRÓLITOS

Os electrólitos afectam a maioria dos processos metabólicos das células. Entre as funções dos electrólitos estão a manutenção da pressão osmótica e a hidratação de vários compartimentos de fluidos corporais, manutenção do pH adequado, regulação das funções cardíaca e muscular apropriadas, envolvimento em reacções de oxidação-redução e participação como co-factores de várias enzimas.

Princípio

O módulo ISE para a determinação de Na^+ , K^+ , Cl^- inclui:

- Eléctrodos de membrana para a determinação do sódio e potássio;
- Membrana de PVC orientada a nível molecular para a determinação do cloreto;

É desenvolvido um potencial eléctrico de acordo com a Equação de Nernst para cada ião específico. Quando comparado com uma referência interna, este potencial eléctrico é convertido em voltagem e seguidamente na concentração de iões da amostra (1).

Sódio (Na^+)

O sódio é o principal catião do líquido extracelular. Desempenha um papel central na manutenção do equilíbrio osmótico e da electroneutralidade.

Interpretação Clínica:

Soro (NATRÉMIA)

Hiponatremia, concentração diminuída de Na^+ no soro pode resultar de uma ingestão diminuída de Na^+ , perda de Na^+ (vómitos, diarreia, sudorese excessiva, uso inadequado de diuréticos, hipoaldosteronismo, cetoacidose diabética, ou acidose tubular renal), aumento de água (insuficiência cardíaca crónica, diabetes descontrolado, cirrose hepática, síndrome nefrótico ou desnutrição) e síndrome inadequada da hormona antidiurética (SIADH). Uma pseudo-hiponatremia pode ser determinada em amostras lipémicas (hiperlipidémias).

Um nível elevado de sódio no sangue (hipernatrémia) é quase sempre resultante de perdas de água não proporcionais à perda de Na^+ (desidratação, diurese osmótica, vômitos, diarreia). Em casos raros, hipernatrémia pode ser devido ao aumento da ingestão de sódio, síndrome de *Cushing* e ao diabetes *insipidus*.

Urina (NATRIÚRIA)

A hipernatriúria, aumento dos níveis de sódio na urina pode ser observada na terapêutica com diuréticos, síndrome de *Addison*, nefrite com perda de sal, hipoaldosteronismo ou SIADH.

Uma diminuição dos níveis de sódio urinário (hiponatrúria) está muitas vezes associada a uma baixa ingestão de Na^+ na dieta. Também ocorre no hiperaldoesteronismo, insuficiência cardíaca congestiva, oligúria aguda e azotemia pré-renal.

Potássio (K^+)

O potássio é o principal catião intracelular. O potássio participa em inúmeros processos bioquímicos e desempenha um papel indispensável na manutenção da pressão osmótica celular. Cerca de 90% do potássio ingerido é absorvido pelo trato gastrointestinal, sendo 80% excretados pelos rins, e o restante, pelas fezes.

Interpretação Clínica:

Soro (CALIÉMIA)

O potássio encontra-se em pequenas concentrações no sangue, sendo que pequenas variações na sua concentração, por menores que sejam, podem ser significativas.

A presença de níveis baixos de potássio no soro (hipocaliémia) pode reflectir o resultado de uma ingestão insuficiente (situação muito rara decorrente maioritariamente de alcoolismo grave ou anorexia nervosa); alteração da sua distribuição do líquido extracelular para o intracelular (terapêutica com insulina, alcalose metabólica); perdas digestivas (vômitos, diarreia e fístulas intestinais); ou perdas urinárias (tratamento com diuréticos, acidose tubular renal, hiperaldoesteronismo, síndrome de *Cushing*).

Por outro lado, a presença de níveis elevados de potássio (hipercaliémia) tem como causa mais frequente a insuficiência renal (excreção diminuída de K^+). Situações

de acidose metabólica, uso de fármacos inibidores de aldosterona, anemias hemolíticas graves, cetoacidose diabética, desidratação e choque com hipóxia tecidual, lesão tecidual, doença de Addison também elevam os níveis de K^+ .

Situações como a presença de hemólise, fadiga muscular intensa, trombocitose ou leucocitose podem causar grandes aumentos dos níveis de K^+ conduzindo a falsos positivos.

Urina

O potássio pode ser eliminado através dos rins, pela urina e em casos raros os seus níveis poderão estar anormalmente baixos devido a uma ingestão de quantidades insuficientes na dieta, na doença renal ou doença renal com diminuição do fluxo urinário.

A excreção de K^+ pode vir aumentada no hiperaldosteronismo primário e secundário, doenças renais primárias, síndromes tubulares renais, após administração de ACTH, cortisona ou hidrocortisona.

Cloro

O cloro é o principal anião extracelular. É importante na manutenção da neutralidade electroquímica do líquido extracelular, incluindo o plasma. A maior parte do cloro ingerido é absorvido, e o excesso é eliminado pelos rins.

Interpretação clínica:

Soro (CLOREMIA)

Concentrações diminuídas de cloretos estão presentes em algumas situações como a cetoacidose diabética, insuficiência renal, alcalose metabólica, acidose respiratória, doença de Addison, vômitos prolongados, sudorese excessiva e hiperaldosteronismo.

A hiperclorémia ocorre geralmente em situações de desidratação contudo, também pode ocorrer na acidose tubular renal, insuficiência renal aguda, acidose metabólica, alcalose respiratória e diabetes insípido.

ELECTROFORESE DE PROTEÍNAS NO SORO – MINICAP

O minicap (Figura 2) é um sistema automatizado usado para a separação das proteínas séricas e detecção de padrões de proteínas anormais. O sistema usa 2 tubos capilares em paralelo o que lhe permite uma separação múltipla e simultânea com boa resolução.



Figura 2: Minicap

Princípio

O MINICAP utiliza o princípio da electroforese capilar em solução livre. Neste tipo de electroforese as moléculas carregadas são separadas pela sua mobilidade electroforética, usando uma solução tampão com pH alcalino. As proteínas adquirem carga negativa e migram do ânodo para o cátodo a diferentes mobilidades quando sujeitas a um campo eléctrico. As proteínas separadas em capilares de sílica são posteriormente detectadas espectrofotometricamente a 200 nm. As diferentes fracções são coradas e medidas por densitometria (7).

Interpretação Clínica:

As proteínas presentes no soro percorrem distâncias diferentes, formando um perfil electroforético onde se pode observar a presença de 5 bandas distintas: albumina, alfa-1-globulina, alfa-2-globulina, beta-globulinas e gamaglobulinas.

O perfil electroforético pode ser normal observando-se a presença das 5 bandas (Figura 3) ou alterado por situações fisiológicas e patológicas onde poderá apresentar bandas diminuídas ou ausentes, bandas com intensidade aumentada e bandas com mobilidade anormal (Tabela 3).

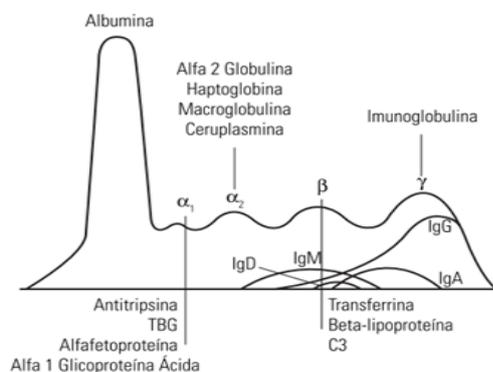
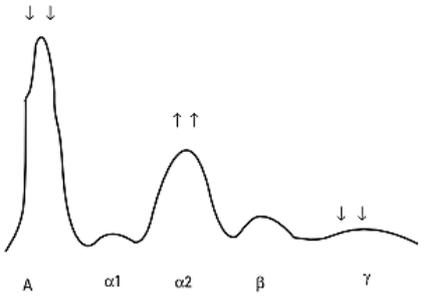
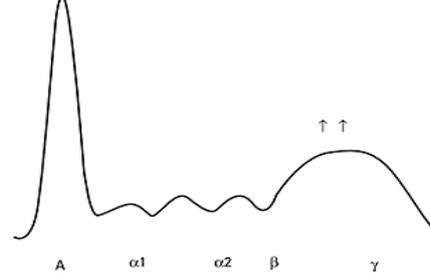
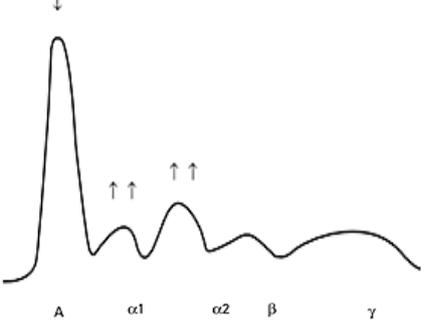
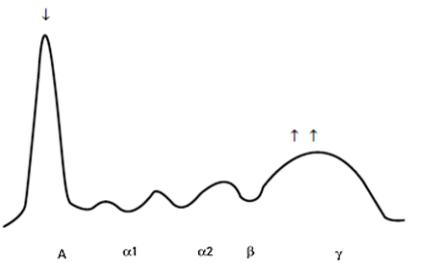
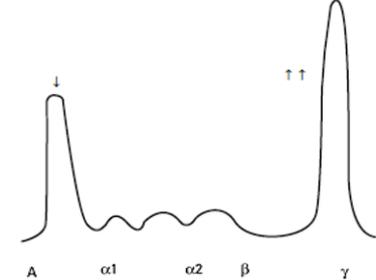
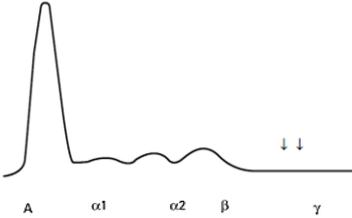


Figura 3: Traçado electroforético normal numa electroforese capilar

Tabela 3: Padrões electroforéticos típicos de algumas condições patológicas

Síndrome Nefrótico		<p>O padrão electroforético ilustra uma perda crónica de proteínas de baixo peso molecular como a albumina (↓ albumina) e a IgG (↓ Gamaglobulinas) e retenção de proteínas de alto peso molecular como a Alfa-2 Macroglobulina (↑ α2-globulina).</p>
Cirrose hepática		<p>O padrão electroforético ilustra a formação de uma ponte entre as fracções β-globulinas e γ-globulinas e uma diminuição da fracção correspondente à albumina.</p>
Inflamação aguda		<p>A alteração electroforética característica das reacções de fase aguda consiste no aumento da α-1 e α-2-globulinas, quase sempre associado à diminuição da albumina. Quando este aumento vem associado ao aumento das γ-globulinas estamos perante uma fase de cronicidade.</p>
Gamopatia policlonal		<p>Presença de um pico largo e difuso aumentado na fracção γ-globulina. Geralmente ocorre como efeito secundário em doenças crónicas (doenças inflamatórias crónicas, doença hepática ou neoplasias disseminadas).</p>

<p>Gamopatia Monoclonal (paraproteína)</p>	 <p>The graph shows protein bands labeled A, α1, α2, β, and γ. A small peak is marked with a downward arrow (↓) in the α2 region, and a large, sharp peak is marked with two upward arrows (↑↑) in the γ region.</p>	<p>Elevação de uma determinada imunoglobulina formando um pico estreito na região β-γ. Ex: Mieloma múltiplo e Macroglobulinemia de Waldenström.</p>
<p>Hipogamaglobulinémia</p>	 <p>The graph shows protein bands labeled A, α1, α2, β, and γ. A normal peak is present in the α2 region, while the peak in the γ region is significantly lower than normal, marked with two downward arrows (↓↓).</p>	<p>Diminuição da fracção γ-globulinas sem alterações nas outras fracções. Padrão sugestivo de mieloma de cadeias leves.</p>

Análise de amostras de urina- UROANÁLISE

Urina tipo II - AUTION MAX-4280

O Aution Max AX-4280 (Figura 4) consiste num sistema automatizado para a análise de urinas. Destina-se à determinação de parâmetros físicos da urina (cor e densidade específica) e de parâmetros químicos usando tiras testes (pH, glicose, proteínas, sangue, leucócitos, cetonas, bilirrubina, urobilinogênio e nitritos).



Figura 4: Aution Max-4280

Características físicas (Cor e densidade)

Cor

Princípio:

A cor e o tom (claro, normal ou escuro) resultam da medição da reflectância a 635nm, 565nm, 430nm e 760nm (8).

Interpretação clínica:

A cor da urina pode variar desde incolor a preto. Estas variações traduzem o resultado do metabolismo; da ingestão de determinados compostos; das condições patológicas; e da actividade física.

A urina normal tem uma coloração amarela que resulta da excreção de 3 pigmentos resultantes de um metabolismo normal: urocromo (amarelo); uroeritrina (vermelho); e urobilina (laranja). A variação da cor normal da urina é decorrente do estado de hidratação do organismo e da variação das concentrações dos pigmentos referidos.

Uma amostra de urina com uma coloração amarelo-escura ou âmbar pode ser determinada pela presença anormal do pigmento bilirrubina. Este pigmento também pode ser detectado ao agitar o tubo de urina e se observar a presença de espuma amarela.

É comum também observar-se uma coloração amarelo-alaranjada que ocorre quando há administração de derivados de piridina para o tratamento de infecções urinárias.

A presença de sangue na urina é uma das causas mais comuns de anormalidade na sua coloração e conduz a uma coloração que vai desde o vermelho rosado a vermelho negro, dependendo da quantidade de sangue, pH da urina e do tempo de contacto. Uma urina com pH ácido, não colhida recentemente, possui uma coloração marrom-escura resultante da conversão da hemoglobina em meta-hemoglobina.

A presença de hemoglobina e mioglobina na urina apresentam uma coloração vermelha e aspecto límpido enquanto a presença de eritrócitos conduz a um aspecto turvo.

A coloração da urina não muda apenas pela presença de factores patogénicos no organismo, a ingestão de determinados alimentos, medicações e vitaminas também provocam mudanças na sua coloração.

Densidade (gravidade específica)

Princípio:

Método do índice de refração

A densidade da urina é obtida pela medição do ângulo de refração da luz que passa através de um prisma triangular que contém as amostras de urina. O índice de refração muda de acordo com a densidade da amostra no prisma triangular

A densidade é obtida pela seguinte fórmula:

$$SGx = (SGH - SGL) \times (KX - KL) / (KH - KL) + SGL$$

(SGH: Densidade de uma solução de alta concentração; SGL: Densidade de uma solução de baixa concentração; SGx: Densidade da amostra; KH: Coeficiente de posição¹ da amostra alta; KL: Coeficiente de posição da amostra baixa; Kx: Coeficiente de posição da amostra)

O índice de refracção muda de acordo com a temperatura da amostra. O valor da densidade é assim corrigido usando a seguinte formula:

$$SGt = SGX + (TSAM - TSTD) Ct$$

(SGt: Densidade corrigida para a temperatura; SGx: densidade obtida pela fórmula anterior; TSAM: temperatura da amostra; TSTD: temperatura da solução *low*; Ct: Coeficiente de temperatura (SG 0.001/3°C)

Os valores de densidade da urina também podem vir alterados na presença de grandes quantidades de glucose ou proteínas. O valor da densidade é depois corrigido com os valores de glicose e proteínas medidos nas tiras teste usando a seguinte fórmula:

$$SG = SGt - CGLU - CPRO$$

(SG: Valor de densidade corrigido com a concentração de glucose e proteínas; SGt: Densidade obtida anteriormente; CGLU: Valor correcção da glucose; CPRO: Valor correcção das proteínas) (8).

Interpretação clínica:

A avaliação da capacidade de reabsorção renal é feita pela medição da densidade. A densidade indica a concentração de substâncias químicas dissolvidas na urina em função do poder de excreção e concentração dos rins.

Os valores de densidade normais variam de 1,010 a 1,030. Valores aumentados indicam desidratação devido a uma ingestão diminuída de líquidos, febre, vômitos, diarreia ou transpiração. Quanto maior a densidade da urina, maior é a concentração das substâncias dissolvidas e menor é a quantidade de água presente.

¹ Coeficiente de posição: calculado a partir dos dados enviados pelo detector

Valores de densidade diminuídos podem ocorrer devido a uma ingestão aumentada de líquidos ou diuréticos, excreção de grandes volumes urinários (diabetes insipido) ou perda da capacidade de concentração urinária devido a doenças renais.

EXAME QUÍMICO (TIRAS TESTE)

O exame químico normalmente é realizado recorrendo a tiras testes, que são colocadas no aparelho de uroanálise que depois emite os resultados de modo quantitativo. Estas tiras são compostas por uma tira de plástico com várias áreas de reagentes para a determinação dos parâmetros químicos (pH, glicose, corpos cetónicos, bilirrubinas, urobilinogénio, proteínas, sangue, nitritos e leucócitos).

Princípio:

A determinação dos parâmetros químicos presentes nas tiras testes é feita através do método de reflectância de duplo comprimento de onda.

Na unidade óptica, dois comprimentos de onda diferentes irradiam as áreas de reagentes presentes nas tiras teste e a secção de “color-tone-compensated”. A luz reflectida é recebida por três detectores. A combinação dos comprimentos de onda vai ser diferente para cada parâmetro medido.

A luz irradiada para a secção de “color-tone-compensation” é ajustada para factores tais como a quantidade de luz reflectiva e a cor da amostra que podem interferir.

A reflectância é calculada através da seguinte fórmula tendo em conta a quantidade de luz reflectida medida na unidade óptica:

$$\mathbf{R = (Tm \times Cs) / (Ts \times Cm)}$$

(R- reflectância; Tm- quantidade de luz reflectida; Ts- luz reflectida usando o comprimento de onda de referência; Cm: quantidade de luz reflectida na secção “color-tone-compensation”; Cs: quantidade de luz reflectida na secção “color-tone-compensation” com o comprimento de onda de referência)

O cálculo do parâmetro “sangue” é feito apenas num único comprimento de onda usando a seguinte formula:

$$\mathbf{R = Tm/Cm}$$

A reflectância obtida para cada uma dos parâmetros é corrigida consoante a temperatura:

$$R_t = R + A(T - 25) \times R^2(1 - R)^2$$

(R_t = reflectância depois de corrigida; A = coeficiente de correção; T = temperatura medida) (8)

Parâmetros químicos determinados usando as tiras-teste:

1. pH

O pH é medido através de indicadores de pH na tira teste que alteram a sua cor entre pH 4,5 e pH 9 (verde bromocresol e azul de bromoxelenol).

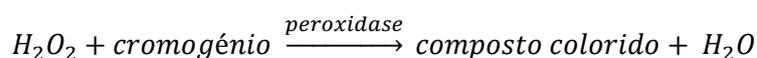
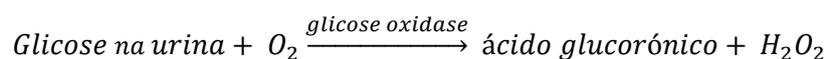
O pH normal da urina é cerca de 6, podendo variar entre 5 e 8 consoante a dieta. Urinas ácidas podem ser encontradas como resultado de uma dieta rica em proteínas, jejum prolongado, presença de bactérias produtoras de ácidos ou, na decorrência de processos patológicos que resultam em acidose metabólica ou acidose respiratória como o diabetes *mellitus* descompensado e pneumonia.

Urinas alcalinas podem resultar de uma dieta pobre em proteínas, da presença de bactérias que degradam a ureia produzindo amónia em consequência de infecções do tracto urinário e, como consequência de processos patológicos que resultam em alcalose respiratória ou metabólica.

A determinação do pH da urina também é útil na identificação de cristais no sedimento urinário. Em urinas ácidas estão presentes normalmente cristais de oxalato de cálcio, ácido úrico ou uratos amorfos e por outro lado, urinas alcalinas estão associadas a cristais de fosfato amorfo, fosfato triplo e carbonato de cálcio.

2. Glicose

A glicose é detectada nas tiras teste segundo a reacção glicose oxidase-peroxidase-cromogénio:



A detecção de níveis elevados de glicose na urina (glicosúria) ocorre quando a glicose ultrapassa o seu limiar de reabsorção renal, como no Diabetes *Mellitus* com

hiperglicemia ou devido à incapacidade dos túbulos renais reabsorverem a glicose conduzindo à excreção de glicose e outras substâncias aí reabsorvidas. Neste último caso, os níveis de glicemia no sangue permanecem normais ou baixos.

A glicosúria é ainda verificada com frequência em grávidas como consequência da diminuição do limiar de reabsorção renal proximal.

3. Corpos cetónicos

Os corpos cetónicos (ácido acetoacético, ácido beta-hidroxibutírico e acetona) são detectados na urina pela reacção de legal. Nesta reacção os corpos cetónicos reagem com o nitroprussiato de sódio em meio alcalino formando um complexo de cor púrpura cuja intensidade é proporcional à concentração dos corpos cetónicos na amostra.

A presença de corpos cetónicos na urina (cetonúria) pode ocorrer em pequenas quantidades em situações de baixa disponibilidade de glúcidos como no jejum, febre, dietas ou excesso de exercício. Contudo, uma presença elevada de corpos cetónicos na urina decorre nos indivíduos diabéticos, em que a insuficiência de insulina impossibilita o normal metabolismo dos glúcidos, levando a que o organismo use como fontes de energias as gorduras.

Outras situações em que se pode observar um aumento dos níveis de cetonúria são a gravidez, doenças hepáticas ou problemas de hiperactividade da tiróide.

4. Proteínas

A determinação das proteínas pelas tiras testes baseia-se na reacção de erro da proteína do indicador de pH.

A presença de pequenas quantidades de proteínas na urina pode dever-se a várias situações, que vão desde situações benignas e fisiológicas como a presença de febre, exercício físico excessivo, desidratação ou *stress*, até causas mais graves como infecções urinárias, lúpus, glomerulonefrites e lesão renal decorrente da diabetes. A presença de uma grande quantidade de proteínas na urina, quase sempre, indica doença renal.

A avaliação mais precisa do nível de excreção de proteínas deve ser realizada através da determinação da concentração de proteínas numa amostra de urina de 24 horas.

5. Bilirrubina

A presença de bilirrubina (bilirrubina conjugada) na urina é detectada pelas tiras teste através da sua reacção com um sal diazónico, formando um composto azóico de cor castanho-avermelhado, cuja intensidade é proporcional à concentração de bilirrubina na amostra.

A presença de bilirrubina na urina (bilirrubinúria) é verificada em doenças hepáticas como a cirrose hepática, cálculos nos ductos do tracto biliar, hepatites, obstrução biliar e hepatocarcinoma. A bilirrubinúria, em consequência da sua precocidade é, muitas vezes, a primeira indicação laboratorial da ocorrência de hepatopatia.

6. Urobilinogénio

O urobilinogénio resulta da redução da bilirrubina no intestino por acção de enzimas de origem bacteriana. Uma parte do urobilinogénio formado é reabsorvido e outra é excretado na urina.

A reacção para a detecção de urobilinogénio nas tiras teste baseia-se na sua reacção com um sal diazónio, levando à formação de um corante azóico de cor castanho-vermelhada.

A presença de urobilinogénio na urina ocorre sempre que há um aumento da destruição dos eritrócitos ou dos seus percursores como na anemia hemolítica e anemias megaloblásticas respectivamente.

A presença de urobilinogénio em amostras de urina também é associada frequentemente com doenças e disfunções hepáticas como a hepatite infecciosa, hepatite tóxica, cirrose hepática e mononucleose infecciosa com comprometimento hepático.

7. Nitritos

A pesquisa de nitritos nas tiras teste é feita com base na reacção de Griess, na qual os nitritos presentes na amostra reagem com a sulfanilamida em meio ácido. O sal diazónico formado reage com o dicloridrato N-1-naftiletilediamina formando um composto de coloração vermelha proporcional à quantidade de nitritos na amostra.

A presença de nitritos na urina é indicativa da presença de bactérias com a capacidade de reduzir os nitratos presentes na amostra de urina a nitritos. São bactérias redutoras de nitrato a nitrito e responsáveis pela maioria das infecções do trato urinário,

por exemplo: *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Serratia sp*, *Proteus sp*, *Enterobacter sp*, *Enterococcus sp* e *Staphylococcus coagulase negativo*. Contudo, a ausência de nitritos na urina não elimina a presença de uma possível infecção do tracto urinário, uma vez que nem todas as bactérias produzem enzimas redutoras de nitratos a nitritos.

8. Sangue

A detecção de sangue pelas tiras testes utiliza a actividade da pseudoperoxidase da hemoglobina para catalisar uma reacção entre o hidroperóxido de cumeno e o cromogéneo (tetrametilbenzidina), produzindo um composto de coloração azul.

A presença de uma reacção positiva para o sangue na urina pode indicar a presença de eritrócitos (hematúria), hemoglobina (hemoglobinúria) ou mioglobina (mioglobinúria).

A hemoglobinúria/hematúria ocorre em processos patológicos, tais como: pielonefrite, glomerulonefrite, síndrome nefrótico, litíase renal, tumores do tracto urinário, cistites, trombose, nefrosclerose, traumatismos, pela acção de drogas (penicilina, cefalosporina e anticoagulantes) e pela acção de toxinas (ex. endocardite bacteriana). A hematúria também pode ocorrer durante a menstruação nas mulheres tratando-se de um falso positivo, neste caso.

A mioglobinúria é decorrente de processos em que se verifica destruição de tecido muscular como os politraumatismos, traumatismos musculares, coma prolongado, exercício intenso, distrofia muscular progressiva, convulsões e polimiosite, por exemplo.

9. Leucócitos

A presença de leucócitos pelas tiras teste detecta-se com base na actividade da enzima esterase dos leucócitos. Esta enzima hidrolisa o éster do 3-(N-toluenosulfonil-L-alanilo)indol formando um composto que reage com um sal diazónico formando uma composto de cor púrpura proporcional à quantidade de enzima na amostra.

Esta enzima está presente nos grânulos primários ou azurófilos dos neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos.

A presença de leucócitos na urina (leucocitúria) é indicativa de infecção nas vias urinárias. Normalmente é sugestivo de infecção urinária, mas podem estar também

presentes em outras situações, tais como traumas, uso de substâncias irritantes ou qualquer outra inflamação que não é causada por um agente infeccioso (9).

Exame microscópico do sedimento

Após passagem no aparelho de uroanálise para a análise química e física, todas as urinas são centrifugadas a 2000 rpm durante 10 minutos, decantadas e vistas ao microscópico óptico. São colocadas em câmara e os resultados são dados por campo. Os elementos que normalmente são contados neste laboratório na análise microscópica do sedimento urinário são os leucócitos, eritrócitos e células por campo. Podem ainda estar presentes cilindros, cristais, mucos, parasitas e bactérias.

Leucócitos

Os leucócitos têm aproximadamente 12 μm de diâmetro, o seu citoplasma apresenta granulações finas e o núcleo é lobulado. Normalmente são contados até 10 leucócitos por campo, sendo que contagens superiores a 10 são consideradas anormais (Figura 5).

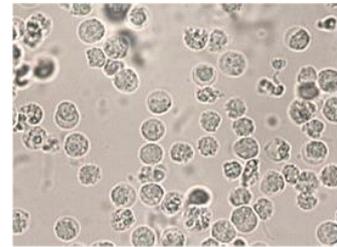


Figura 5: Imagem ao microscópico de leucócitos presentes na urina

A presença de um número elevado de leucócitos na urina é sinal de uma possível infecção ou inflamação no sistema urogenital. A causa mais frequente do aumento do número de leucócitos é a presença de infecção bacteriana (pielonefrite, cistite, prostatite e uretrite), contudo podem ainda estar presentes em doenças não-bacterianas, como a glomerulonefrite, o lúpus eritematoso sistémico e os tumores.

Eritrócitos

Os eritrócitos são células anucleadas de forma discóide, com um diâmetro aproximadamente de 7 μm (figura 6).

No exame microscópico do sedimento urinário podemos encontrar vários tipos de eritrócitos: normais, fantasma (entrada de grandes volumes de água para o seu interior - urinas hipotónicas), crenados (perda de água -

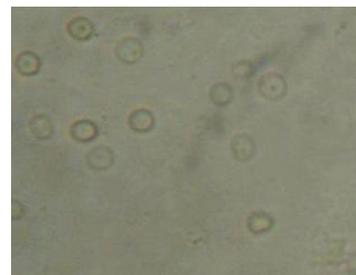


Figura 6: Eritrócitos na urina – análise microscópica

urinas hipertónicas) e dimórficos. Os eritrócitos podem também ser confundidos com gotículas de gordura, óleo, bolhas de ar ou leveduras.

A presença de pequenas quantidades de eritrócitos na urina é considerado normal. Contudo, quando estes estão presentes em número elevado é sinal de doença renal ou do tracto geniturinário. Entre as várias causas de hematúria estão incluídas as glomerulonefrites, pielonefrites, cistites, cálculos, tumores e traumas. Qualquer condição que resulte em inflamação ou comprometa a integridade do sistema vascular pode também resultar em hematúria. Em amostras colhidas de mulheres, a possibilidade de contaminação menstrual deve ser considerada.

Células

A presença de células epiteliais é normal numa amostra de urina. Estas reflectem a descamação de células velhas (renovação celular normal) e podem ser de 3 tipos:

- **Células de descamação:** Estas células são as maiores e mais comuns (Figura 7), sendo provenientes da uretra e vagina. A presença de raras células de descamação no sedimento urinário é normal e é decorrente do processo natural de descamação do epitélio. O aumento da quantidade de células é de origem patológica quando a morfologia encontra-se alterada ou quando elas se encontram incrustadas com cocobacilos (*Gardnerella vaginalis*).



Figura 7: Células de descamação presentes no sedimento urinário

- **Células epiteliais de transição:** são provenientes desde a pelve renal, até à parte proximal da uretra. A sua forma geralmente é esférica, oval ou caudada com um núcleo centralizado redondo ou oval (Figura 8). A presença de raras células de transição no sedimento urinário não tem significado clínico e é considerado normal. Contudo, quantidades aumentadas são encontradas em infecções do trato urinário geralmente acompanhadas de um aumento dos neutrófilos.



Figura 8: Células epiteliais de transição presentes no sedimento urinário

- **Células tubulares renais:** são provenientes dos tubos proximais, distais colectores e da alça de Henle. O tamanho das células renais observadas no exame microscópico, geralmente, varia de 12 a 25 μm dependendo do local de origem (Figura 9). A presença de número aumentado de células tubulares renais ocorre em patologias renais como: necrose tubular aguda, infecções virais, infecções bacterianas, inflamações e neoplasias. Número aumentado de células tubulares renais é, também, verificado em pacientes que se submeteram a transplante renal e que apresentam rejeição do órgão transplantado.

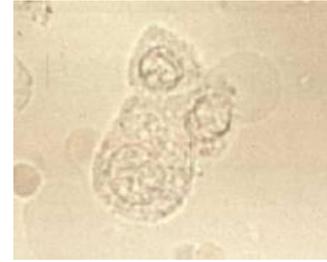


Figura 9: Células epiteliais tubulares renais em sedimento de urina

Pesquisa de Sangue Oculto nas fezes (PSOF)

Consiste num teste rápido usado para a detecção qualitativa de sangue oculto em fezes humanas. É realizado principalmente como teste de rastreio, para a detecção precoce do cancro do cólon.

Princípio:

Teste imunocromatográfico de fluxo lateral

A amostra migra por capilaridade sobre uma membrana que contém um anticorpo anti-hemoglobina na linha de teste. Quando há presença de sangue na amostra este reage com o anticorpo anti-hemoglobina produzindo uma linha colorida que indica resultado positivo. A membrana contém ainda uma linha de controlo de modo a avaliar se o volume de amostra foi suficiente e se houve absorção na membrana.

Um resultado positivo é indicado assim pela presença de duas linhas coloridas na membrana e é indicativo da presença de sangue nas fezes (10).

Interpretação Clínica:

Um resultado positivo neste teste é indicativo da presença de uma hemorragia no tracto gastrointestinal. A presença de sangue pode estar presente numa quantidade muito pequena e não ser visível, sendo apenas detectada com a pesquisa de sangue oculto nas fezes.

As causas mais comuns da presença de sangue nas fezes podem variar desde situações benignas e frequentes como as hemorroidas ou fístulas do ânus, até situações mais graves como as úlceras gástricas e duodenais, diverticulite, pólipos do cólon e recto, neoplasias gástricas ou de cólon, colites, algumas parasitoses e hemorragias de boca ou trato respiratório superior deglutidas.

Muitas vezes esta pequena quantidade de sangue nas fezes é o primeiro, e por vezes o único sinal precoce de cancro do cólon, o que torna a PSOF uma ferramenta de rastreio muito importante.

II. HEMATOLOGIA

A Hematologia é a ciência que estuda os elementos figurados do sangue: eritrócitos (glóbulos vermelhos ou hemácias), leucócitos (ou glóbulos brancos) e plaquetas. Avalia o estado de normalidade destas células sanguíneas, dos órgãos hematopoiéticos e as doenças a eles relacionados.

É na secção da hematologia que se encontram alguns dos exames mais requeridos pelo clínico como o hemograma e a velocidade de sedimentação.

A esta secção chegam os tubos de EDTA K3 destinado às contagens hematológicas, citrato de sódio para a velocidade de sedimentação e citrato para a coagulação.

TÉCNICAS MANUAIS DE HEMATOLOGIA

ESFREGAÇO SANGUÍNEO - Estudo morfológico do sangue periférico

É realizado um esfregaço sanguíneo sempre que este seja requerido pelo médico, e sempre que seja necessário confirmar, qualquer resultado obtido pelos métodos automáticos. Consiste assim, na preparação de uma fina camada de células sanguíneas sobre uma lâmina de vidro, para um exame microscópico, com o objectivo de visualizar a morfologia das várias células sanguíneas e fazer a fórmula leucocitária. É importante ter em atenção as três linhagens: eritrocítica (observar alterações morfológicas, tais como o tamanho, forma, cor e inclusões; alterações do estado de maturação), leucocitária (alterações morfológicas e alterações do estado de maturação) e plaquetária (alterações morfológicas e numéricas).

Um bom esfregaço sanguíneo deve, sempre que possível, ser efectuado logo após a colheita com sangue total, sem adição de anticoagulante. Deve ser fino, regular e homogéneo, apresentar bordos bem definidos e franja e deve diminuir a espessura da cabeça para a cauda.

Coloração de May-Grünwald-Giemsa

Após a execução do esfregaço sanguíneo, de modo a que este seja visualizado ao microscópico, as lâminas são posteriormente coradas usando a técnica de May-Grünwald-Giemsa (MGG). A técnica é realizada em vários passos e são usados três reagentes: solução de May-Grünwald (fixação do esfregaço efectuada pelo metanol presente na solução); tampão de fosfatos (dissociação do corante de May-Grünwald); e solução de Giemsa diluída (coloração).

Acção dos corantes:

Solução de May-Grünwald – solução metanólica de eosinato de azul de metileno (Azul de metileno + eosina)

- Eosina: Cora de rosa-alaranjado os componentes acidófilos (granulações dos eosinófilos e hemoglobina)
- Azul de metileno: Cora de azul os elementos basófilos (basófilos e ácidos nucleicos)

Solução de Giemsa

- Azul de metileno: Cora granulações azurófilas de vermelho-púrpura

Resultados de uma boa coloração: Eritrócitos com coloração rosada; plaquetas com coloração azulada; neutrófilos com núcleo azul-escuro e citoplasma rosa pálido com granulações que variam do rosa ao azul claro; linfócitos com núcleo azul violeta e o citoplasma azul; basófilos com núcleo púrpura a azul-escuro e citoplasma com granulações volumosas azuis-escuras; monócitos com núcleo azul violeta e citoplasma azul claro; e eosinófilos com núcleo azul e citoplasma rosa pálido com grânulos volumosos que variam do vermelho ao laranja.

Lâminas muito avermelhadas indicam acidez excessiva e lâminas azuladas indicam alcalinidade excessiva (11).

CONTAGEM MANUAL DE RETICULÓCITOS

Os reticulócitos são os precursores dos eritrócitos maduros. São eritrócitos jovens que se encontram em circulação há menos de 48 horas. São células anucleadas, que contêm no seu interior restos de material reticular que não apresenta afinidade com um corante comum, sendo necessário o uso de corantes supravitais para os por em evidência (11).

Princípio: Esta técnica pretende através da utilização de corantes vitais ou supravitais como a azul de cresil, evidenciar os reticulócitos presentes no sangue periférico. Este corante vai neutralizar e precipitar o RNA residual sobre a forma de grânulos de modo a ser possível, realizar uma contagem ao microscópico óptico.

Interpretação Clínica:

A contagem de reticulócitos é importante para avaliar a capacidade de resposta medular. Representa uma medida da produção de eritrócitos. Um aumento do número de reticulócitos após situações como quimioterapia, transplantes de medula óssea ou tratamento de anemias (ferropénicas ou por défice de vitamina B12 ou ácido fólico), indica uma boa capacidade de resposta medular – eritropoiese eficaz.

Esta contagem permite também classificar se uma anemia é regenerativa (valores elevados de reticulócitos) ou não (valores reduzidos de reticulócitos). Uma anemia regenerativa tem como principais causas as hemorragias e anemias hemolíticas, incluindo a doença hemolítica do recém-nascido. Por outro lado, situações como anemia por défice de ferro, folatos ou vitamina B12, anemias aplásticas e radioterapia conduzem a uma diminuição do número de reticulócitos e traduzem uma eritropoiese ineficaz – anemia não regenerativa.

CONTAGEM DE PLAQUETAS EM CÂMARA DE NEUBAUER

A contagem de plaquetas pode ser realizada por métodos automáticos ou manuais. Sempre que seja necessário a confirmação do valor das plaquetas obtido pelo método automático, recorre-se a uma contagem manual de plaquetas realizada em câmara de *Neubauer*.

Paralelamente à contagem, é importante a observação do esfregaço sanguíneo, de modo a verificar se há presença de plaquetas gigantes, agregados plaquetários ou variações na morfologia que sejam relevantes à interpretação da contagem. É importante que este seja executado logo após a colheita de modo a detectar falsas trombocitopénias.

Princípio: Sangue total diluído numa solução de oxalato de amónio. A solução é colocada numa câmara de *Neubauer* e as plaquetas são contadas no quadrado rectangular secundário central da câmara.

Interpretação Clínica:

A contagem de plaquetas tem interesse em algumas situações, nomeadamente em pessoas com problemas hemorrágicos; numa situação pré-operatória (precaução de possíveis hemorragias); em doentes submetidos a tratamento com citostáticos e/ou radioterapia (programação da terapêutica); doentes que tomam anticonvulsivantes; e sempre que o tempo de hemorragia esteja aumentado.

Um aumento do número de plaquetas (trombocitose) pode ocorrer de modo fisiológico, após o parto e após exercícios intensos e, em situações patológicas nomeadamente nas síndromes mieloproliferativas como a leucemia mieloide crónica (LMC).

Uma diminuição do número de plaquetas (trombocitopenia) pode ocorrer em situações fisiológicas na mulher, durante a menstruação e em situações patológicas como em algumas infecções virais em crianças (mononucleose, rubéola, ou dengue), algumas leucemias, neoplasias medulares, doenças auto-imunes (como o lúpus ou púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), onde o sistema imunitário cria anticorpos que atacam o próprio organismo e podem provocar a destruição das plaquetas), doenças renais como a púrpura trombocitopénica (PT) e a síndrome hemolítica urémica (SHU), doença de Von Willebrand, devido à acção de certos químicos (quimioterapia ou radioterapia) e medicamentos (4).

GRUPO SANGUÍNEOS - SISTEMA ABO E RHESUS

Os grupos sanguíneos são determinados pela presença de antigénios na superfície dos eritrócitos. São conhecidos mais de 250 antigénios diferentes que se agrupam em 29 sistemas entre os quais o sistema ABO e Rhesus.

Estes antígenos são transmitidos hereditariamente e independente uns dos outros. Os genes do sistema ABO estão localizados no cromossoma 9 e os do sistema Rh no cromossoma 1.

A determinação de um grupo sanguíneo consiste em verificar a presença ou ausência dos antígenos A, B e Rhesus (antígeno D) na superfície dos glóbulos vermelhos e, é de extrema importância em imuno-hematologia (12).

Sistema ABO

Os antígenos do sistema ABO são glicoproteínas formadas por uma sequência de 15 aminoácidos seguidos de uma cadeia de hidratos de carbono.

Os antígenos A e B podem ser transmitidos isoladamente, ou juntos definindo o tipo sanguíneo: tipo A (antígeno A); tipo B (antígeno B); tipo AB (antígeno A+B); e tipo O (ausência do antígeno A e do B).

Aos antígenos eritrocitários A e B, correspondem anticorpos naturais (aglutininas naturais), anti-A e anti-B respectivamente. Nos indivíduos do grupo O são encontrados anticorpos anti-A e anti-B. Estes anticorpos naturais são imunoglobulinas, geralmente do tipo IgM e IgG, de menor intensidade que os anticorpos imunes e, que possuem afinidade com os antígenos naturais correspondentes. Assim, quando uma pessoa recebe uma transfusão de sangue de um tipo não compatível com o seu ele, produz anticorpos contra o antígeno eritrocitário estranho (12).

Princípio: Consiste num teste de aglutinação em placa em que uma gota de sangue é posta em contacto com uma gota dos reagentes anti-A e anti-B. Após agitação observa-se um resultado positivo quando há presença de aglutinação e negativo quando não se observa aglutinação.

Interpretação dos resultados:

Tabela 4: Tipagem ABO

Grupo	Anti-A	Anti-B
A	+	-
B	-	+
AB	+	+

Sistema Rhesus (RH)

Consiste num sistema complexo que engloba os genes RHD e RHCE. Os indivíduos Rh-positivos possuem os dois genes RHD e RHCE enquanto os Rh-negativos apresentam deleção do gene RHD. Ou seja, um indivíduo é Rh positivo quando está presente o antígeno D e Rh negativo quando este está ausente (12).

O antígeno D pode ainda apresentar uma reacção fraca com o soro anti-D, sendo denominado D-fraco. Deste modo é necessário ser testado com soros mais sensíveis de modo a não atribuir erradamente Rh-negativo.

Princípio: O procedimento é igual ao realizado para a tipagem ABO, sendo realizado ao mesmo tempo. Neste caso a aglutinação corresponde a Rh positivo e a sua ausência é Rh negativo. Caso o resultado seja Rh negativo reencaminhamos para fora para confirmação.

Resultados e interpretação:

Tabela 5: Determinação do RH

	Anti-D
Rh positivo	+
Rh negativo	-

Quando um indivíduo é Rh negativo e entra em contacto com eritrócitos Rh positivo o seu sistema imunitário facilmente é estimulado produzindo anticorpos anti-Rh. Estas situações podem ocorrer numa gravidez ou transfusão, podendo dar origem à Doença Hemolítica do Recém-nascido ou reacções hemolíticas graves.

PROVA DE FALCIFORMAÇÃO – PRESENÇA DE HEMOGLOBINA S (HbS)

A anemia falciforme consiste numa doença hereditária caracterizada pela formação de uma hemoglobina anormal denominada hemoglobina S. A presença da hemoglobina S provoca a deformação dos eritrócitos, quando estes são expostas a baixos níveis de oxigênio, assumindo um formato de foice. Estas hemácias em forma de foice podem bloquear pequenos vasos sanguíneos, causando dor e prejudicando a circulação. O seu tempo de vida é diminuído causando assim uma anemia hemolítica.

A prova de falciformação baseia-se na transformação de glóbulos vermelhos em drepanócitos na presença de uma redução da concentração de oxigénio no meio.

Princípio: Adicionar uma gota de sangue total entre uma lâmina e lamela e comprimir um pouco a lamela para que o sangue fique bem espalhado em toda a lamela. De seguida, os bordos da lamela são selados com parafina líquida de modo a impedir qualquer contacto com oxigénio. Colocar na estufa cerca de 24-48 horas e visualizar a lâmina ao microscópico.

Interpretação clínica:

A prova da falciformação é requerida pelo clínico quando há suspeita de anemia falciforme.

A pesquisa da hemoglobina S é sempre feita, recorrendo em primeiro lugar à electroforese das hemoglobinas e, caso nesta esteja presente uma banda correspondente há hemoglobina S partimos então para a prova de falciformação.

Esta prova é positiva sempre que se observem células em forma de foice (células falciformes).

CRIOGLOBULINAS

As crioglobulinas são imunoglobulinas séricas que se tornam insolúveis a temperaturas reduzidas e se dissolvem após serem aquecidas.

A presença destas imunoglobulinas no sangue é denominada crioglobulinemia, uma doença vascular rara. Essas proteínas anormais tornam-se espessas e sólidas podendo bloquear os vasos sanguíneos. Os sintomas associados à crioglobulinemia são geralmente vasculares (púrpura com tendência a sangramentos, urticária ao frio, dor e cianose terminal) (13).

Princípio: O sangue é colhido com a ajuda de um seringa e agulha aquecidas a cerca de 37°C e colocado em 2 tubos também aquecidos. Um dos tubos é colocado a temperaturas reduzidas de modo a se observar a formação ou não de um precipitado indicativo da presença das crioglobulinas e, o outro é colocado na estufa para controlo. A observação da presença ou ausência do precipitado deve ser feita durante cerca de 7 dias.

Interpretação clínica:

A presença de crioglobulinas no sangue manifesta-se pela observação de um precipitado esbranquiçado no sangue que é dissolvido a 37°C. Estas encontram-se presentes no decurso de mielomas, na macroglobulinemia de Waldenström, leucemia linfocítica crônica, lúpus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren e doenças hepáticas (incluindo hepatite crônica, cirrose e hepatite C) (6).

CRIOAGLUTININAS

As crioaglutininas ou aglutininas frias são anticorpos da classe IgM dirigidos contra o antígeno I, presente na membrana eritrocitária. Quando sujeitas a temperaturas reduzidas são capazes de aglutinar os eritrócitos humanos (auto-anticorpos anti-eritrocitários).

Princípio: Para a determinação das crioaglutininas em laboratório é necessário primeiro a obtenção de hemácias. Para a separação das hemácias, o sangue é posto em contacto com anti-coagulante citrato de sódio e centrifugado. De seguida retira-se o plasma e adiciona-se soro fisiológico mais ou menos na mesma proporção do plasma, de modo a fazer a lavagem dos glóbulos (3 centrifugações). Após lavagem dos glóbulos, são realizadas uma série de diluições, nas quais se colocam o soro do doente, soro fisiológico e as hemácias. Os tubos são colocados a temperaturas reduzidas e no dia seguinte é observado em cada diluição se ocorreu ou não aglutinação.

Quando as aglutininas frias estão presentes, a aglutinação dos glóbulos vermelhos é visível enquanto a amostra está presente no frio e desaparece quando a amostra é aquecida. É anotada a diluição máxima em que se observa aglutinação e o resultado é expresso como um título.

Interpretação clínica:

A prova de crioaglutinação é utilizada, sobretudo como auxílio no diagnóstico de infecções pelo *Mycoplasma Pneumoniae*. Esta prova é positiva em cerca de 34% a 68% dos pacientes com a infecção. Não é um teste específico, podendo ser positivo em outras doenças como a mononucleose infecciosa, linfomas, doenças do colagénio, neoplasias, infecções crónicas, vírus influenza, artrite reumatóide entre outras.

A presença de crioaglutininas, nomeadamente em concentrações elevadas, resulta na aglutinação dos eritrócitos nos capilares sanguíneos, conduzindo a uma anemia hemolítica crónica (doença das aglutininas frias).

A presença das crioaglutininas pode ainda interferir em outros testes como a contagem de eritrócitos, determinação dos índices eritrocitários e do grupo sanguíneo.

SISTEMAS AUTOMÁTICOS DE HEMATOLOGIA

Sysmex XT-2000i

O Sysmex XT-2000i (Figura 10) é um analisador hematológico automatizado que utiliza diversas tecnologias de modo a obter resultados rápidos e precisos.

Este analisador permite a obtenção da fórmula sanguínea ou hemograma que compreende a contagem dos elementos figurados do sangue (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos, plaquetas e ainda reticulócitos quando é requerido), bem como o doseamento da hemoglobina e determinação do hematócrito e dos índices eritrocitários.

O hemograma é um dos exames complementares de diagnóstico mais requisitado e permite uma quantificação dos elementos celulares do sangue. É o exame indispensável no diagnóstico e controlo evolutivo da maior parte das doenças. Actualmente, o hemograma é feito em contadores hematológicos automatizados que aspiram o sangue e fazem a determinação dos vários parâmetros em canais separados. Os parâmetros calculados e respectivos princípios estão enumerados de seguida.

Amostra: Sangue total colhido em tubos com anticoagulante EDTA K3.

i) Determinação da hemoglobina - MÉTODO DE SLS-HEMOGLOBINA

Este método permite determinar a concentração de hemoglobina. É realizado num canal separado e após diluição evitando assim possíveis interferências como concentrações elevadas de leucócitos, lipemia ou proteínas anormais.



Figura 10: Contador hematológico Sysmex XT-2000i

Princípio: Método SLS-HB

Neste método a amostra é diluída com o reagente de lise - Lauril Sulfato de Sódio (SLS), livre de cianeto. A cadeia globina da molécula de hemoglobina é alterada por acção do grupo alquilo hidrofóbico do lauril sulfato de sódio que induz a conversão do átomo de ferro presente no grupo heme, do estado ferroso (Fe^{2+}) ao estado férrico (Fe^{3+}) formando metahemoglobina. Posteriormente, os grupos hidrofílicos do SLS vão-se ligar à metahemoglobina anteriormente formada, formando um complexo SLS-HB. Este complexo colorido é medido espectrofotometricamente e a absorvência é proporcional à concentração de hemoglobina presente na amostra (14).

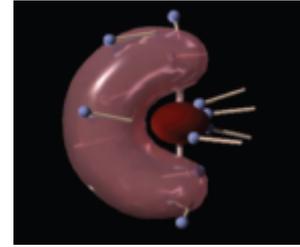


Figura 11: Método SLS-HB

ii) Contagem de eritrócitos e plaquetas - MÉTODO DE IMPEDÂNCIA E FOCAGEM HIDRODINÂMICA

Neste canal obtém-se a contagem de eritrócitos e plaquetas, e é calculado o volume globular médio (VGM) e o volume plaquetário médio (VPM).

Princípio:*Método de detecção por focagem hidrodinâmica*

Os eritrócitos e as plaquetas são contados num canal próprio utilizando o método de detecção de impedância ou corrente contínua (DC), combinado com a tecnologia de focagem hidrodinâmica, o que minimiza os fenómenos de coincidência e recirculação.

As células são injectadas sobre ligeira pressão para uma abertura formando uma coluna de partículas (Figura 12). No interior da coluna a amostra é diluída e sujeita a uma corrente contínua que provoca um alinhamento de partículas de modo a passarem por um orifício até ao tubo de captura.

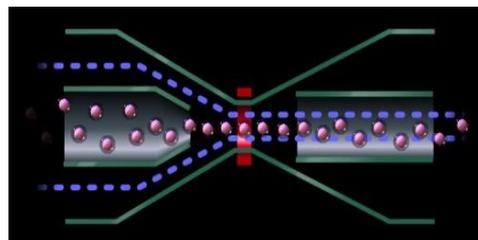


Figura 12: Contagem de células pelo Método de focagem hidrodinâmica

A resistência exercida pelos eléctrodos provoca uma mudança de impulso eléctrico que é proporcional ao tamanho das células sanguíneas (14).

O hematócrito (HCT) é directamente determinado através da detecção individual do volume de cada eritrócito (VGM) (15).

iii) Fórmula leucocitária e contagem de reticulócitos - CITOMETRIA DE FLUXO (Canal 4DIFF, WBC/BASO e RET/PLT)

A citometria de fluxo é uma técnica que permite analisar as características fisiológicas e químicas das células sanguíneas como o tamanho e a complexidade celular.

Princípio:

A amostra inicialmente é diluída e marcada com um marcador de fluorescência que se liga especificamente aos ácidos nucleicos. De seguida é transportada para a câmara de fluxo onde é iluminada por um feixe de lasers semi-condutores. O laser semiconductor ao incidir na amostra dispersa a luz em três sinais diferentes (Figura 13) que dão informações celulares distintas:

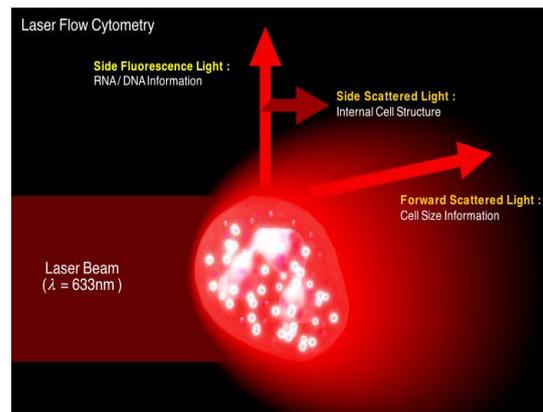


Figura 13: Citometria de fluxo

- **side scatter** (dispersão de luz lateral)- informação do conteúdo celular como o núcleo e grânulos;
- **forward scatter** (dispersão de luz frontal) – informação sobre o tamanho das células;
- **side fluorescence** (fluorescência)- informação sobre o conteúdo de RNA e DNA presente nas células (14).

A combinação destas informações fornece uma imagem concisa e exacta de cada célula sanguínea permitindo agrupar as células com propriedades físicas e químicas semelhantes num gráfico de dispersão (Figura 14).

O gráfico de dispersão exibe os grupos de células vermelhas designadas por “cell ghosts”, linfócitos, monócitos, eosinófilos, neutrófilos e basófilos.

O eixo do x representa a dispersão de luz lateral, e o eixo do y, a intensidade de fluorescência.

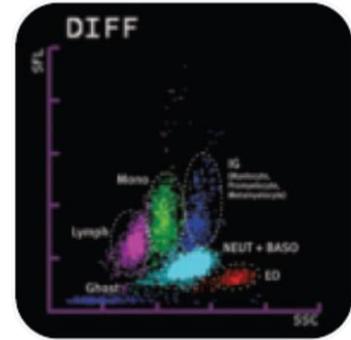


Figura14: Gráfico de dispersão obtido por citometria de fluxo

Diferenciação dos basófilos (Canal WBC/BASO)

A contagem de basófilos é feita utilizando um reagente de lise ácido que faz diminuir os eritrócitos e plaquetas, e reduz os leucócitos a núcleos à exceção dos basófilos. É assim, feita a contagem do número total de leucócitos e dos basófilos.

O diagrama de dispersão (figura 15) classifica o grupo de células vermelhas de “ghost”, basófilos e restantes leucócitos (linfócitos, monócitos e neutrófilos e eosinófilos).

No diagrama de dispersão, o eixo do x representa a intensidade da luz lateral dispersa, e o eixo y, a intensidade da luz frontal dispersa.

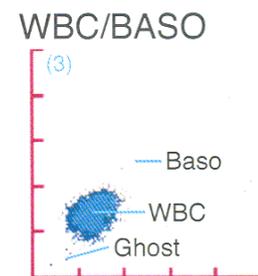


Figura15: Gráfico de dispersão dos basófilos

Reticulócitos (Canal RET/PLT)

A tecnologia de Citometria de Fluxo Fluorescente também é utilizada na contagem de reticulócitos. A determinação dos reticulócitos por métodos automáticos é mais rápida, precisa, e eficaz que a contagem manual.

Para esta determinação é usado um surfactante que perfura as membranas celulares dos glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas, o que permite que o marcador fluorescente penetre no interior das células e se ligue ao RNA.

O diagrama de dispersão onde constam os reticulócitos é dividido em três zonas, de acordo com a intensidade de fluorescência destes (Figura 16). O diagrama reflecte assim diferentes graus de maturidade dos reticulócitos. Em cada uma das zonas é contado o número total de reticulócitos.

- LFR – reticulócitos de baixa fluorescência;
- MFR – reticulócitos de fluorescência média;
- HFR – reticulócitos de fluorescência elevada.

A população de reticulócitos muito jovem também é analisada e reportada pelo parâmetro IRF (Fração de Reticulócitos Imaturos- MFR+HFR) fornecendo informações sobre a atividade medular (14).

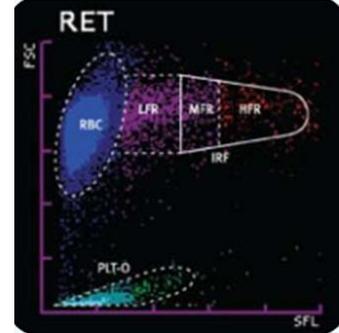


Figura 16: Gráfico de dispersão de reticulócitos

O diagrama de dispersão discrimina as células sanguíneas vermelhas maduras, reticulócitos e plaquetas e calcula a razão de reticulócitos, a contagem de reticulócitos, contagem de glóbulos vermelhos e de plaquetas.

No diagrama de dispersão, o eixo x representa a intensidade da luz fluorescente lateral, e o eixo y, a intensidade da dispersão de luz frontal.

ÍNDICES ERITROCITÁRIOS

Os índices eritrocitários são calculados automaticamente pelo aparelho através dos parâmetros RBC (contagem de glóbulos vermelhos), HGB (hemoglobina) e HCT (hematócrito).

VGM - Volume globular médio

O VGM correspondendo à média dos volumes ocupados pelos glóbulos vermelhos e é expresso pela seguinte fórmula:

$$\text{VGM (fL)} = \frac{\text{HCT (\%)}}{\text{RBC (X } 10^6/\mu\text{L)}} \times 10$$

HGM - Hemoglobina corpuscular média

O HGM avalia a quantidade de hemoglobina presente nos glóbulos vermelhos. É expresso em picogramas e obtêm-se pela seguinte fórmula:

$$\text{HGM (pg)} = \frac{\text{HB (g/dL)}}{\text{RBC (x } 10^6/\mu\text{L)}} \times 10$$

CHGM - Concentração de hemoglobina corpuscular média

O CHGM estima a concentração média de hemoglobina presente nos glóbulos vermelhos. É o índice hematológico que avalia a cor dos eritrócitos. É expresso em percentagem e calculado pela seguinte expressão:

$$\text{CHCM (g/dL)} = \frac{\text{HB (g/dL)}}{\text{HCT (\%)}} \times 100 \quad (14)$$

RDW- Coeficiente de dispersão eritrocitária (coeficiente de variação da distribuição do volume dos eritrócitos)

O RDW traduz a variação de tamanho entre os eritrócitos - índice de anisocitose. Expresso em percentagem e obtido pelo aparelho através do histograma de volumes dos eritrócitos.

Exemplo de resultados obtidos num hemograma

HEMOGRAMA (Mét. CF/COL)		
ERITROGRAMA:		
Eritrócitos	4,64	x10 ⁶ /mm ³
Hemoglobina	13,4	g/dL
Hematócrito	40,2	%
VGM	86,6	μ ³
HGM	28,9	pg
CHGM	33,3	g/dL
RDW	12,9	%
LEUCOGRAMA:		
Leucócitos	5710	/mm ³
Neutrófilos	61,1 %	3490 /mm ³
Eosinófilos	1,4 %	80 /mm ³
Basófilos	0,2 %	10 /mm ³
Linfócitos	31,2 %	1780 /mm ³
Monócitos	6,1 %	350 /mm ³
TROMBOCITOGRAMA		
Plaquetas (Mét. CF)	231	x10 ³ /mm ³

Figura 17: Hemograma com Plaquetas- Exemplo

Interpretação dos parâmetros obtidos no hemograma:

Série vermelha (eritrograma)

O distúrbio mais frequente e relevante desta série é a anemia. A anemia consiste numa redução da quantidade de hemoglobina presente nos eritrócitos, ou do hematócrito.

A anemia pode ser classificada morfológicamente recorrendo aos índices eritrocitários VGM e CHGM.

O VGM é o índice mais importante para a classificação morfológica das anemias. Através do VGM a anemia pode ser classificada em anemia microcítica, normocítica ou macrocítica. Na tabela seguinte estão algumas das causas destas anemias (Tabela 6) (16).

Tabela 6- Classificação das anemias através do VGM

Anemia Microcítica (VGM<80fL)	Deficiência em ferro, talassémias, anemia sideroblástica, anemia das doenças crónicas (ex: leucemia crónica, linfoma, tuberculose, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistémico, doença hepática crónica).
Anemia Normocítica (VGM 80-100fL)	Anemias hemolíticas, insuficiência renal.
Anemia Macrocítica (VGM>100fl)	Doença hepática crónica, anemia megaloblástica, alcoolismo, síndromes mielodisplásicas, anemia aplástica, drogas.

Através do índice CHGM estas podem ainda ser classificadas em normocromicas, hipocrómicas ou hiperocrómicas (Tabela 7).

Tabela 7: Classificação morfológica das anemias

Anemia Hipocrómica (CHGM<32g/dL)	Deficiência em ferro, Doença crónica.
Anemia Normocrómica (CHGM 32-36g/dL)	Anemia hemolítica.
Anemia Hiperocrómica (CHGM >36g/dL)	Esferocitose hereditária.

Através da contagem de reticulócitos, podemos ainda, determinar se uma anemia é regenerativa (número elevado de reticulócitos) ou não regenerativa (número reduzido de reticulócitos).

Série branca (LEUCOGRAMA)

O estudo da série branca permite evidenciar estados infecciosos e leucémicos. Apesar de todos os leucócitos agirem na defesa do organismo, as suas funções diferem.

Na tabela seguinte estão resumidas algumas das causas mais frequentes que provocam alterações quantitativas em cada um dos leucócitos (Tabela 8).

Tabela 8: Alterações quantitativas dos glóbulos brancos (16)

Neutrófilos	Neutrofilia	Infecções bacterianas sobretudo nas inflamações, leucemia mieloide crónica (LMC), administração de drogas, tabagismo.
	Neutropenia	Medicamentosa, anemia megaloblástica, Leucemia mieloide aguda (LMA), lúpus eritematoso sistémico.
Basófilos	Basofilia	Varicela, varíola, LMC, mielofibrose, policitemia vera, trombocitopenia essencial, leucemia a basófilos.
Eosinófilos	Eosinofilia	Doenças alérgicas, parasitoses, LMA, LMC, hipersensibilidade medicamentosa, neoplasias, doenças auto-imunes.
Monócitos	Monocitose	Tuberculose, brucelose, malária, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistémico, LMA monocítica, LMA Mielomonocítica, linfoma de hodgkin.
Linfócitos	Linfocitose	Infecções virais e bacterianas, leucemia linfocítica crónica, macroglobulinemia de Waldenstrom.
	Linfopenia	HIV, lúpus eritematoso sistémico, uso de corticosteroides.

Série plaquetária (trombocitograma)

O aumento (trombocitose) ou diminuição (trombocitopenia) do número de plaquetas pode conduzir a estados trombóticos ou hemorrágicos respectivamente.

Tabela 9: Alterações quantitativas das plaquetas (16)

Trombocitopenia	<ul style="list-style-type: none"> • diminuição da produção de plaquetas: leucemias, linfomas, anemia megaloblástica, Síndrome de Bernard-Soulier, Síndrome de Wiscott-Aldrich, Síndrome da plaqueta cinzenta, Síndrome de Chediak-Higashi, Síndrome de May-Hegglin, álcool, fármacos. • aumento da destruição de plaquetas: secundária a infecções virais (HIV, dengue, malária), síndromes mieloproliferativas, doenças auto-imunes (Púrpura trombocitopénica idiopática, lúpus eritematoso sistémico), púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), coagulação intravascular disseminada (CID), síndrome hemolítica urémica (SHU), secundária a uso de drogas). • distribuição anormal das plaquetas (desvio cinético para o baço): hiperesplenismo
Trombocitose	<ul style="list-style-type: none"> • Situações fisiológicas: Após o parto, após exercícios físicos intensos. • Situações patológicas: Neoplasias mieloproliferativas (principalmente a trombocitemia essencial), anemia ferropénica, doenças inflamatórias crónicas, infecciosas ou reumáticas a acompanhar a neutrofilia e após hemorragias.

VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO – VES-MATIC 30



Figura 18: VES-MATIC

30

O VES-MATIC 30 (Figura 18) consiste num analisador automático concebido para a determinação da velocidade de sedimentação globular usando tubos específicos.

A velocidade de sedimentação consiste na velocidade de queda espontânea dos diversos elementos figurados do sangue, em suspensão no plasma. Corresponde à distância que os glóbulos vermelhos percorrem em 1 hora.

A sedimentação dos glóbulos vermelhos engloba três etapas fundamentais: a primeira corresponde à agregação ou formação de Roulex; a segunda à queda dos roulex; e por fim a sedimentação dos eritrócitos no fundo do tubo.

Esta determinação é feita por um método automático que permite obter resultados que são equivalentes aos calculados usando o método de *Westergren* (1^o hora) em 25 minutos.

Princípio:

O sangue que foi inicialmente colhido em tubos especiais é homogeneizado pelo equipamento e deixado em repouso por um tempo predefinido de modo a que ocorra a sedimentação. Por fim, a leitura do nível de sedimentação é feita por sensores óptico-electrónicos (17).

Interpretação Clínica:

O valor da velocidade de sedimentação pode ser influenciado por alguns factores como a concentração de algumas proteínas, cuja concentração plasmática varia na presença de processos inflamatórios ou patologias (como neoplasias); por factores eritrocitários (número, tamanho e forma dos eritrócitos, formação de rouleaux); e por anemia. Alguns fenómenos mecânicos (enchimento incorrecto do tubo, vibrações, temperatura, tempo de espera e proporção sangue/anticoagulante), também podem afectar o valor da velocidade de sedimentação.

Este teste não é específico de determinadas condições clínicas nem de hemopatias, mas o seu valor encontra-se alterado em infecções agudas e crónicas (tuberculose e sífilis), processos inflamatórios agudos (apendicite), doenças reumáticas

(febre reumática, artrite reumatoide), necrose tecidual, leucemias, linfomas, mielomas, plasmocitomas, anemias e neoplasias em geral.

Valores diminuídos também podem ser encontrados em policitémias, hipofibrinogénemia, diminuição de globulinas plasmáticas (ex. hipogamaglobulinémia) situações associadas a alterações da forma do GV.

Valores normais de VS não excluem um estado mórbido, mas pelo contrário, valores aumentados em geral traduzem uma doença em evolução, embora de maneira subclínica.

ELECTROFORESE DE HEMOGLOBINAS – HB GOLD

O HB GOLD (Figura 19) é um aparelho automático de hematologia destinado ao ensaio das fracções de hemoglobina.



Figura 19: HB Gold

A electroforese de hemoglobinas tem como objectivo separar e quantificar os diferentes tipos de hemoglobinas presentes no sangue periférico, com o interesse de diagnosticar patologias que envolvem formas anormais de hemoglobina (hemoglobinopatias).

Os tipos de hemoglobina mais comuns são:

- Hb A- maior percentagem de hemoglobina encontrada nos adultos;
- HB F- Hemoglobina fetal. É a principal hemoglobina presente no feto e no recém-nascido. Após o nascimento decresce e é substituída pela HbA, ficando apenas uma quantidade vestigial.
- Hb A2 – encontrada em pequenas quantidades nos adultos.

As hemoglobinopatias podem ser classificadas em hemoglobinopatias qualitativas resultantes de alterações na estrutura das globulinas, onde se inclui as variantes de hemoglobina HbS, HbC, HbE e HbD ou quantitativas, em que há ausência ou diminuição da síntese das cadeias globínicas originando talassémias.

Princípio: O HB Glod utiliza a técnica automática de cromatografia de permuta catiónica de baixa pressão que utiliza um gradiente de força iónica de modo a separar e eluir os subtipos e variantes de hemoglobina presente numa amostra de sangue total hemolisado. As fracções de hemoglobina separadas são monitorizadas através da absorção de luz a 415nm e o cromograma obtido é gravado e armazenado no computador (18).

Interpretação Clínica:

O padrão electroforético de um adulto normal inclui apenas os seguintes tipos de hemoglobinas nas seguintes proporções:

Tabela 10: Fracções de hemoglobina presentes num adulto anormal

Hemoglobina A	96 – 98 %
Hemoglobina A2	1,5 – 3,5 %
Hemoglobina F	0 – 1 %

A presença na electroforese de picos anormais permite a identificação das variantes de hemoglobina e detecção da hemoglobinopatia presente.

A drepanocitose e as talassémias constituem as hemoglobinopatias mais comuns mundialmente e representam um grave problema de saúde pública em várias partes do mundo.

A drepanocitose resulta de uma mutação no gene que codifica a cadeia β -globina, que leva à substituição do aminoácido glutamina pela valina resultando assim, uma molécula de hemoglobina modificada denominada HbS. Esta hemoglobinopatia é detectada na electroforese pela presença da HbS, que pode estar presente em quantidades moderadas, indicando apenas um traço falciforme (portadores heterozigóticos) ou em grande quantidades e acompanhada da ausência de HbA e presença de HbF (portadores homozigóticos) causando uma anemia hemolítica grave.

As talassémias podem ser classificadas de acordo com o tipo de cadeia globina afectada. Se a deficiência for na síntese das cadeias alfa temos a α -talassémia, se for na cadeia β estamos perante uma β -talassémia. Estas podem ainda, ser classificadas consoante a pessoa tenha um gene defeituoso (talassémia *minor*) ou dois genes defeituosos (talassémia *major*).

A presença de β -talassémia *minor* na electroforese é detectada pela diminuição do pico de hemoglobina A e aumento da hemoglobina A2 e HbF, e a β -talassémia *major* pela ausência da hemoglobina A, acompanhada de níveis elevados de hemoglobina fetal F.

Níveis elevados de Hb F, além de estarem presentes na drepanocitose e β -talassémia também se encontram demasiado elevados numa condição rara chamada persistência hereditária de hemoglobina fetal, distúrbio hereditário assintomático.

Menos frequentes, podem ainda, ser detectadas na electroforese de hemoglobinas outras hemoglobinopatias como a hemoglobinopatia C e a hemoglobinopatia E.

A hemoglobinopatia C também é observada na população africana, contudo é mais rara que a drepanocitose. Esta hemoglobinopatia resulta da troca do ácido glutâmico pela lisina na cadeia β -globina dando origem à hemoglobina C. Na electroforese, esta hemoglobina pode estar presente em baixas quantidades (portadores heterozigóticos HbAC) indicando apenas um traço de hemoglobina C ou, em quantidades elevadas (portadores homozigóticos HbCC) causando a doença da Hemoglobina C que se traduz numa anemia hemolítica crónica e pode danificar o fígado e o baço.

A hemoglobinopatia E é muito frequente no sudoeste asiático e em descendentes de pessoas desta região. A electroforese revela a presença de HbE, que na forma homozigótica causa uma anemia hemolítica ligeira e a forma heterozigótica não apresenta sintomas (16).

HEMOGLOBINA GLICADA - ADAMS A1C HA8160

Este aparelho automático (Figura 20) é usado com a finalidade de efetuar a medição da concentração média de glicose nos últimos três meses (hemoglobina glicada).

A hemoglobina é a principal proteína no interior dos eritrócitos e quando os níveis de glicose no sangue estão altos, parte desta hemoglobina é



Figura 20: ADAMS A1C HA-8160

sujeita a uma reacção química não enzimática com a glicose em excesso.

A ligação entre a HbA e a glicose é um tipo de glicação não-enzimática, contínua, lenta e irreversível. A primeira fase da reacção entre a glicose e a valina N-terminal da cadeia β da hemoglobina A é reversível e origina um composto intermediário denominado pré-A1C, HbA1c lábil ou instável, aldimina ou, ainda, base de Schiff. A segunda fase resulta em um composto estável tipo cetamina, não mais dissociável, agora denominado de HbA1c ou, simplesmente, A1C (Figura 21) (2).

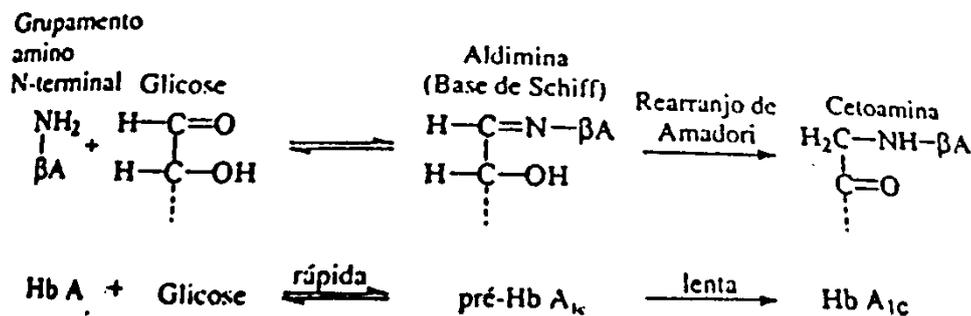


Figura 21: Reacção de formação da HbA1c (2).

A quantidade de hemoglobina glicada que é formada depende assim, da concentração de glicose no sangue e do tempo de vida médio dos eritrócitos (cerca de 120 dias). Assim, a medida da quantidade de glicose ligada à hemoglobina pode fornecer uma avaliação do controle glicémico médio no período de 90 a 120 dias antes do exame (2).

Princípio: O doseamento da hemoglobina é feito usando a técnica cromatográfica de Cromatografia Líquida de Alta pressão (HPLC) e a coluna é composta por uma resina de troca catiónica de fase reversa. A leitura das fracções obtidas é realizada a 415 nm e 500nm. O aparelho é capaz de diluir, hemolisar e remover a base de schiff (HbA1c lábil) permitindo a obtenção de resultados precisos para HbA1c (19).

Interpretação clínica:

O doseamento da hemoglobina glicada é importante não só no momento do diagnóstico da diabetes, mas principalmente na monitorização do controle glicémico em pacientes diabéticos a longo prazo. Esta análise apresenta vantagens face à

determinação da glicemia em jejum uma vez que não é necessária a condição de jejum; o seu valor não é afectado pela ingestão alimentar ou prática de exercício recente; não sofre alterações em casos de *stress* ou doença; e tem ainda uma maior estabilidade.

A interpretação do valor da Hb glicada é influenciada por todas as situações que alterem a vida média dos glóbulos vermelhos ou situações que afectam a HbA. Os resultados podem encontrar-se falsamente diminuídos em anemias hemolíticas ou hemorragias recentes (redução do tempo de vida-médio dos glóbulos vermelhos) e na presença de grandes quantidades de vitaminas C e E. Por outro lado podem encontrar-se falsamente elevados em anemias ferropénicas e anemias por défice de vitamina B12 ou folatos devido há grande proporção de eritrócitos senescentes.

Os valores normais da hemoglobina glicada encontram-se normalmente entre 4% e 6%. Valores elevados encontram-se associados a um risco de complicações crónicas.

ESTUDO DA HEMOSTASE

O sistema hemostático protege o sistema vascular e permite, em caso de lesão, que os tecidos sejam reparados e as suas funções sejam restabelecidas. A reconstrução depende de interacções complexas entre a parede dos vasos, as plaquetas e os processos de coagulação e fibrinólise.

É um dos mecanismos de defesa mais básicos do organismo pois preserva a integridade da circulação e limita a perda de sangue.

O mecanismo de hemostasia pode ser dividido em várias fases. A primeira fase, hemostase primária, ocorre logo após a lesão do vaso sanguíneo; a segunda, hemostase secundária engloba os fenómenos que conduzem à formação do coágulo; e a terceira, hemostase terciária corresponde ao processo de fibrinólise, ou seja à dissolução do coágulo de fibrina e regresso ao estado inicial.

O mecanismo de hemostase encontra-se em equilíbrio dinâmico entre os factores activadores e inibidores da coagulação. Sempre que, por qualquer razão, haja um desequilíbrio este pode vir a desencadear a ocorrência de fenómenos trombóticos ou hemorrágicos (20).

Hemostase primária

Na hemostase primária ocorre lesão do vaso sanguíneo e imediata vasoconstricção deste, de modo a diminuir o fluxo local e permitir o maior contacto entre as plaquetas circulantes e o ponto onde o endotélio sofreu a lesão. Esse simples contacto é suficiente para a activação das plaquetas e adesão plaquetária ao local lesado. Forma-se um tampão plaquetário que representa o primeiro mecanismo de defesa do organismo contra a perda sanguínea. À adesão plaquetária, segue-se a agregação plaquetária e logo depois a activação do mecanismo da coagulação.

I. Contagem de Plaquetas - É o teste preferencialmente escolhido para a avaliação global do mecanismo da hemostase primária. (referido anteriormente)

II. Tempo de hemorragia- método de Duke

O tempo de hemorragia corresponde ao tempo de duração de uma pequena hemorragia após uma pequena incisão no vaso sanguíneo. É dependente da função plaquetária e da integridade funcional do vaso. O tempo de sangramento depende muito da profundidade e extensão da incisão praticada, sendo por isso um teste com sensibilidade relativa.

Princípio: Consiste em fazer uma pequena incisão com a ajuda de uma lanceta na derme do lóbulo da orelha. A gota de sangue que sai da incisão é recolhida de 30 em 30 segundos para um papel de filtro, até parar a hemorragia. O tempo é reportado em minutos.

Interpretação clínica:

Um aumento do tempo de hemorragia é geralmente devido a trombocitopenia. Outras causas de um aumento do tempo de hemorragia são a toma de medicamentos que inibam as funções plaquetárias como a aspirina; deficiência ou ausência do factor Willebrand como a doença de Willebrand; e trombopatias congénitas (ex: doença de Glanzmann, síndrome de Bernard-Soulier) (20).

Hemostase secundária

A hemostase secundária, mais designada de coagulação sanguínea é uma cascata enzimática complexa no qual os seus componentes são activados por proteólise e cujo produto final é a fibrina que forma a base do coágulo sanguíneo.

I. Tempo de coagulação

Corresponde ao tempo necessário para a que ocorra a coagulação do sangue após a sua colheita.

Princípio: É realizada a colheita de sangue para dois tubos. Um tubo é colocado na estufa e vai-se observando de 30 em 30 segundos se houve formação do coágulo. O outro é deixado na mão à temperatura exterior e vai-se vigiando até que ocorra também a coagulação. O resultado é dado em minutos.

Interpretação Clínica:

O tempo de coagulação alterado confirma a presença de defeitos nos factores da coagulação. Valores aumentados encontram-se, por exemplo, nas hemofilias (A e B) e na presença de anticoagulantes circulantes (12).

II. Cascata da coagulação - SYMEX CA-500

O Symex CA-500 (Figura 22) é um instrumento totalmente automatizado envolvido no estudo da hemostase, nomeadamente da hemostase secundária (coagulação). No laboratório neste aparelho ao nível da hemostase secundária são determinados o tempo de protrombina (TP) e Razão Normalizada Internacional (INR), o tempo de tromboplastina parcial activado (APTT) e o fibrinogénio.



Figura 22: Symex Ca-500

Coagulação

A formação do coágulo de fibrina envolve complexas interações entre proteases plasmáticas e seus co-factores, que culminam na formação da trombina, que, por

proteólise, converte o fibrinogénio solúvel em fibrina insolúvel (21). De modo a explicar a fisiologia da coagulação foi proposta a cascata da coagulação.

Cascata da coagulação

A cascata da coagulação clássica divide a coagulação em duas vias principais: uma **via extrínseca** que é activada como consequência de uma lesão vascular (envolvendo componentes do sangue, mas, também, elementos que usualmente não estão presentes no espaço intravascular), e uma **via intrínseca** ou de contacto (iniciada por componentes presentes no espaço intravascular). Ambas convergem numa via comum que conduz à formação de trombina.

Via intrínseca

A calicreína, o factor XII e o quinogénio de alto peso molecular (HMWK) formam um complexo com o colagénio sub-endotelial (activação por contacto). O factor XII liga-se ao HMWK e é convertido lentamente numa protease activa (FXIIa). Esta protease converte o factor XI na sua forma activa (FXIa), que por sua vez, activa o factor IX. O factor IXa, juntamente com o factor VIIIa, iões cálcio e fosfolípidos pró-coagulantes (presentes na membrana das plaquetas activadas ou de células tecidulares) são as unidades catalíticas necessárias para a activação do factor X (Figura 23) (20).

Via extrínseca

Na via extrínseca, o factor VII plasmático, na presença do seu co-factor, o factor tecidual (FT) e iões Ca^{2+} formam um complexo que permite a activação do factor VII. O complexo FVIIa/FT/ Ca^{2+} activa, então, os seus substratos fisiológicos – os factores IX e X. O factor X activado entra então na via comum tal como o factor X activado da via extrínseca (Figura 23) (20).

Via comum

Esta via inicia-se com a activação do factor X pela acção de proteases geradas nas reacções anteriores. As duas vias culminam, então, na conversão da pró-trombina em trombina pelo factor Xa, na presença de cálcio, do factor Va e de fosfolípidos pró-coagulantes (complexo pró-trombinase).

Esta conversão da pró-trombina ocorre muito mais rapidamente na superfície de plaquetas activadas, apesar de poder ocorrer em várias membranas (naturais ou artificiais) ricas em fosfolípidos.

Após a degradação do fibrinogénio pela trombina, libertam-se dois fibrinopeptidos A e dois fibrinopeptidos B, dando origem à fibrina solúvel. O factor XIII permite a formação de ligações covalentes entre os monómeros de fibrina, conduzindo à formação de fibrina insolúvel.

Esta é a visão clássica da cascata da coagulação e a de maior utilidade do ponto de vista clínico (20).

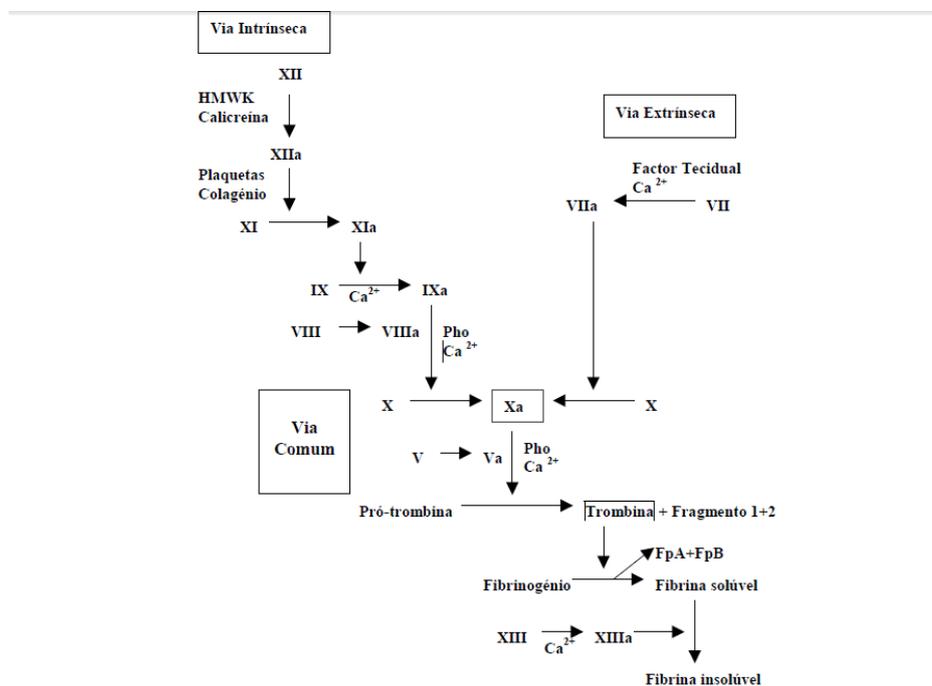


Figura 23: Cascata da coagulação. Cascata de reacções iniciadas quando o sangue é exposto a uma superfície carregada negativamente (via intrínseca) ou quando é exposto ao factor tecidual (via extrínseca). *Legenda:* HMWK - cininogénio de alto peso molecular; Fp - fibrinopeptídeo; Pho – fosfolípidos; FT – factor tecidual)

Estudo da cascata da coagulação- TP, TPP e fibrinogénio

I. Tempo de protrombina (TP)

O tempo de protrombina consiste no tempo de coagulação de um plasma citratado e pobre em plaquetas após a adição de um excesso de tromboplastina e iões cálcio.

Este teste explora a via tecidual ou extrínseca e o tronco comum da coagulação. É sensível a deficiências nos factores VII, X, V, II da coagulação e no fibrinogénio.

Amostra: Plasma citratado

Princípio:

Método de detecção foto-óptico

O aparelho determina o tempo de coagulação medindo as alterações na intensidade da luz, dispersa por uma amostra, devido a um aumento da turbidez. À medida que a coagulação ocorre, a amostra vai-se tornando mais turva devido à formação de coágulos de fibrina, e esta turvação termina após conclusão da coagulação.

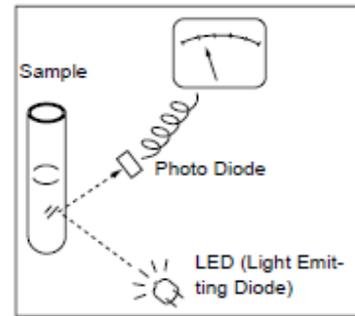


Figura 24: Método de detecção foto-óptico

Os raios de luz do díodo emissor de luz (LED) são reflectidos e espalhados pela amostra (Figura 24). Um fotodiodo absorve a luz dispersa e converte a intensidade detectada em sinais eléctricos. O tempo de coagulação é determinado por um método de detecção de percentagem.

Os resultados são dados em tempo (segundos) ou taxa de protrombina (%):

$$\mathbf{TP (s)} = \frac{\mathbf{TP \text{ do paciente (s)}}}{\mathbf{TP \text{ de referência (s)}}$$

Contudo, devido à falta de padronização do reagente tromboplastina, os valores de TP não eram reprodutíveis de um laboratório para outro. Assim, de modo a reduzir as diferenças entre os vários tipos de testes utilizados, procedeu-se à padronização das tromboplastinas atribuindo-se a cada uma o seu ISI. Assim, deve monitorizar-se a dose diária de anticoagulante através do INR (Razão Normalizada Internacional) (22).

$$\mathbf{INR = (TP)^{ISI}}$$

ISI = Índice de Sensibilidade Internacional. É determinada pelo fabricante individual

do reagente Tromboplastina (resulta da comparação da sua sensibilidade com a da tromboplastina padrão internacional).

Interpretação clínica:

Este teste é, sobretudo, utilizado para o controlo da terapêutica com anticoagulantes orais. Doentes que têm de manter níveis de anticoagulação constante, para prevenção de fenómenos trombóticos, devem ser monitorizados com o TP expresso em INR, e cujo resultado se deve manter entre os 2.0 e os 3.0.

O tempo de protrombina prolonga-se em deficiências selectivas ou conjuntas dos factores II, V, VII, X da coagulação e fibrinogénio.

Como os quatro factores da coagulação são sintetizados no fígado, três dos quais são vitamina K-dependentes (II, VII, X), o TP também é usado para auxiliar o estudo das coagulopatias secundárias às doenças hepatobiliares e em situação de carência de vitamina K, encontrando-se elevado nas hipovitaminoses K e insuficiência hepatocelular (12).

O TP encontra-se também prolongado na coagulação intravascular disseminada (CID) uma vez que, durante esta, há consumo de plaquetas e dos factores I, II, V e VIII, o que leva ao prolongamento do TP.

II. Tempo de tromboplastina parcial activado (APTT)

O tempo de tromboplastina parcial activado consiste no tempo de coagulação de um plasma citratado e pobre em plaquetas, na presença de fosfolípidos e de um activador de superfície, (caulino, celite, sílica micronizada) que padroniza o início da coagulação pela rápida activação do factor XII.

Explora a via intrínseca e comum da coagulação, pois é sensível a deficiências nos factores XII, XI, IX, VIII, X, V, II e fibrinogénio.

Amostra: Plasma citratado.

Princípio: Mesmo método referido para o TP.

Interpretação clínica:

A medição do APTT é muito útil na monitorização da terapia anticoagulante com heparina. A heparina é um anticoagulante administrado por via injectável que é muito utilizado em doentes com risco de doença cardíaca. Estes doentes devem manter os valores de APTT dentro dos valores estabelecidos

É o método mais adequado para investigar coagulopatias por défice de um ou mais factores da coagulação com a hemofilia. A hemofilia A traduz-se por um défice no factor VIII e a hemofilia B num défice do factor IX. O APTT encontra-se prolongado em quase 100% dos casos de hemofilia e na maioria das coagulopatias, com excepção das deficiências dos factores VII e XIII.

O APTT também se altera na presença de inibidores da coagulação e de anticoagulantes, assim como nas disfibrinogenemias, na insuficiência hepática e na CID (12).

Este teste pode, ainda, ser aplicado na detecção do anticoagulante lúpico. O prolongamento do APTT testemunha a presença de um anticoagulante circulante que pode estar presente no lúpus, poliartrite reumatóide e HIV.

III. Fibrinogénio

O fibrinogénio, também conhecido como Factor I da coagulação, é fundamental na formação do coágulo, sendo convertido em fibrina na presença de trombina. É produzido no fígado e, quando não funciona correctamente, ou está ausente ou em níveis muito baixos, há dificuldades na formação do coágulo sanguíneo.

O fibrinogénio também é importante na hemostase primária, actuando na agregação plaquetária através da ligação da glicoproteína IIb/IIIa na superfície das plaquetas activadas.

Princípio: Cálculo automático realizado pelo aparelho

Interpretação clínica:

Os valores de fibrinogénio estão relacionados com a velocidade de formação do coágulo. Assim, concentrações elevadas de fibrinogénio associam-se a um aumento do risco trombótico enquanto, concentrações baixas de fibrinogénio prejudicam a formação de coágulos estáveis.

Níveis elevados de fibrinogénio (hiperfibrinemias) observam-se em processos inflamatórios (reumatismo inflamatório, cancro, linfomas) uma vez que este é uma proteína de fase aguda positiva.

Níveis baixos de fibrinogénio (hipofibrinemia) podem ser encontrados quando há deficiências deste factor que se traduzem em distúrbios hemorrágicos hereditários muito raros. Estas podem ser resultado de anomalias quantitativas que resultam na ausência completa do fibrinogénio (afibrogenemia) ou baixa quantidade do fibrinogénio (hipofibrinogenemia) ou anomalia qualitativa que resulta do mau funcionamento do fibrinogénio (disfibrinogenemia). Como causas destas anomalias encontram-se as doenças hepáticas, coagulação intravascular disseminada (CID) e hiperfibrinólise.

Hemostase terciária – Fibrinólise

A fibrinólise é o processo fisiológico que promove a dissolução do coágulo de fibrina. A fibrina é degradada pela plasmina levando à produção de fragmentos circulantes que são depois destruídas por outras proteínases ou pelos rins e fígado (figura 25).

No laboratório não é realizado nenhum teste que estude a avaliação do sistema fibrinolítico, hemostase terciária.

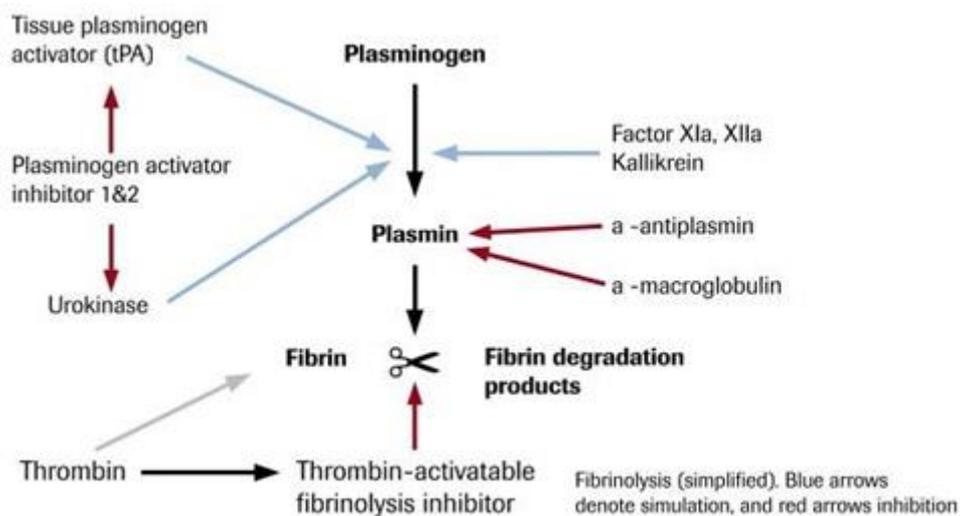


Figura 25: Hemostase terciária- Fibrinólise

III. IMUNOLOGIA

A imunologia engloba o estudo do sistema imunitário e suas patologias.

No laboratório são realizadas várias técnicas imunológicas (técnicas manuais de aglutinação bem como sistemas automáticos) que pretendem avaliar a actividade do sistema imunitário perante determinados microorganismos. São determinados também nesta secção um grande número de parâmetros que têm como base princípios imunológicos.

Nesta secção são utilizados os tubos de soro que anteriormente foram centrifugados a 3500 rpm durante 15 min.

TÉCNICAS MANUAIS DE IMUNOLOGIA

DIG (Diagnóstico imunológico da gravidez)

Este teste permite a detecção da hormona gonadotrofina coriónica humana (β -hCG) na urina ou no soro, de modo a diagnosticar uma possível gravidez. Consiste num teste qualitativo, uma vez que apenas detecta a presença desta hormona.

Esta hormona é uma glicoproteína produzida durante a formação da placenta após fertilização. É a única hormona exclusiva da gravidez e o seu aparecimento na urina ou soro, pouco tempo depois da fertilização e aumento durante a gestação, fazem desta hormona um excelente marcador no diagnóstico precoce da gravidez.

Amostra: Soro ou urina. A amostra de urina a usar deve ser, de preferência, a primeira urina da manhã, uma vez que é onde a hormona está presente numa concentração mais elevada.

Princípio:

Teste rápido de imunoensaio cromatográfico

A amostra migra por capilaridade sobre uma membrana onde vai reagir com anticorpos e, um resultado positivo é indicado pela presença de duas linhas coloridas.

A primeira linha contém um anticorpo monoclonal hCG que detecta a presença da hormona hCG, e a segunda linha consiste numa linha controlo sendo composta por anticorpos policlonais de cabra e partículas de ouro coloidais. Esta segunda linha

colorida funciona como um controlo interno do procedimento, de modo a assegurar que a quantidade de amostra usada foi suficiente e que houve absorção da mesma na membrana (10).

Rosa bengala (Reacção de Huddleson) – Teste da brucelose

Este teste é um teste de rastreio que permite o diagnóstico da Brucelose, uma antropozoonose causada por bactérias do género *Brucella*.

A transmissão da bactéria ocorre essencialmente, pela ingestão de produtos de animais infectados como o consumo do leite não pasteurizado, ou do próprio queijo e pelo contacto com animais infectados. A ingestão de alimentos contaminados propicia a multiplicação das bactérias na mucosa intestinal, onde elas se disseminam.

O diagnóstico da brucelose baseia-se em critérios bacteriológicos e serológicos, sendo o teste de eleição o de aglutinação rápida.

Princípio:

Teste de aglutinação rápido em placa ou cartão

A amostra é posta em contacto com aglutininas específicas da brucelose, antígeno brucélico corado de rosa bengala e tamponado a pH 3.65 (prova do antígeno tamponado), sendo a reacção positiva, ou seja a presença de anticorpos no soro específicos da brucelose quando se observa uma aglutinação mesmo sendo fraca (10).

Reacção de Waller-Rose

O teste Waller-Rose é um teste de aglutinação rápida que permite uma determinação qualitativa do Factor Reumatóide.

Os factores reumatóides são um grupo de auto-anticorpos geralmente da classe IgM, dirigidos contra o fragmento Fc das IgG humanas.

É um auto-anticorpo de grande importância no diagnóstico da artrite reumatóide, uma vez que está presente em cerca de 50% a 80% dos pacientes alguns meses após o início da doença. Contudo, também pode ser encontrado em outros processos auto-imunes, como no lúpus eritematoso sistémico e síndrome de Sjögren; em processos

infecciosos como a malária, mononucleose, endocardite e hepatite; processos inflamatórios crónicos, como a sarcoidose e leishmaniose; e processos neoplásicos.

Princípio:

Teste rápido de hemaglutinação em placa

A amostra é posta em contacto com eritrócitos de carneiro revestidos com imunoglobulinas de coelho anti-eritrócitos de carneiro. Na presença de factor reumatóide na amostra observa-se aglutinação (10).

Monoteste

Este teste é usado no diagnóstico da mononucleose infecciosa. Detecta a presença de anticorpos heterófilos da infecção no sangue total, soro ou plasma.

A mononucleose infecciosa, também conhecida por doença do beijo é causada por um vírus da família dos *Herpes* vírus chamado *Epstein-Barr*, cuja transmissão ocorre essencialmente através do contacto com saliva contaminada.

O diagnóstico da mononucleose é sobretudo serológico e inclui a pesquisa de anticorpos heterófilos. Estes anticorpos aparecem durante o curso da doença e são capazes de aglutinar hemácias de carneiro e de cavalo. São anticorpos da classe IgM não-específicos para mononucleose, podendo estar presentes em outras doenças.

Princípio:

Teste imunocromatográfico de fluxo lateral

A amostra migra por capilaridade numa membrana onde vai reagir com partículas recobertas de antigénio extraído de eritrócitos de bovino, formando uma linha colorida, que nos indica um resultado positivo.

De modo a haver um controlo interno do teste, forma-se ainda uma segunda linha colorida, que nos permite verificar que o volume da amostra foi suficiente e que a absorção da mesma na membrana ocorreu (10).

Assim, um resultado positivo, ou seja a presença de anticorpos heterófilos da mononucleose infecciosa é dado por duas linhas coloridas.

VDRL

Este teste é usado no diagnóstico e acompanhamento da terapêutica em pacientes com Sífilis.

A Sífilis é uma doença causada por uma bactéria espiroqueta denominada *Treponema Pallidum*, cuja infecção conduz ao aparecimento de anticorpos denominados reaginas. Esta pode ser transmitida sexualmente, e de forma vertical durante a gravidez, causando danos ao feto diferentes dos da sífilis clássica.

Este teste permite uma identificação qualitativa e também semi-quantitativa, uma vez que um resultado positivo pode ser quantificado posteriormente por diluições do soro. O resultado é dado em formas de diluição e, quanto maior for a diluição que se detecta o anticorpo, mais positivo é o resultado.

Os resultados dados por este teste não são específicos, pois pode positivar em outras doenças como a hepatite, mononucleose infecciosa, malária, lepra e lúpus eritematoso sistémico, conduzindo a falsos positivos.

Princípio:

Teste de floculação

Uma gota da amostra é posta em contacto com uma gota de reagente, antigénio de VDRL modificado contendo micropartículas de carbono. Assim, quando na amostra está presente o anticorpo “reagina” este vai reagir com o antigénio formando agregados pretos que são visíveis macroscopicamente devido à presença das partículas de carbono. Na presença de um resultado positivo efectua-se diluições em série de modo a testar até que diluição ocorre floculação.

Quando não estão presentes anticorpos contra a Sífilis não se observa floculação e visualiza-se uma cor cinzenta uniforme em todo o círculo (10).

SISTEMAS AUTOMÁTICOS DE IMUNOLOGIA

ADVIA Centaur XP

O sistema ADVIA Centaur XP (Figura 26) é um analisador automático de imunoensaio que utiliza a tecnologia de quimiluminescência directa. Na quimiluminescência associada ao imunoensaio a luz emitida pela reacção é proporcional à quantidade do analito presente na amostra em estudo. Os ensaios do ADVIA Centaur XP utilizam éster de acridina (EA) como marcador quimioluminescente.



Figura 26: Advia Centaur XP

O *pack* de reagente é constituído por uma fase líquida e uma fase sólida, sendo a fase sólida constituída por partículas magnéticas revestidas (PPM's). Durante a incubação, as PPM's revestidas na cuvette ligam-se ao anticorpo ou antígeno alvo e quando o sistema é exposto a um campo magnético, os ímanes atraem as PPM's ligadas ao antígeno ou anticorpo ficando estas imobilizadas enquanto a restante amostra, à qual não se ligaram as PPM's é eluída (23).

O sistema utiliza uma variedade de formatos para detectar antígenos, bem como anticorpos:

a) Imunoensaio do tipo Sandwich

Este ensaio decorre em duas etapas e é o anticorpo que é marcado (éster de acridina) em vez do antígeno.

Numa primeira etapa, o antígeno presente na amostra reage com um anticorpo marcado com EA formando um complexo antígeno-anticorpo.

Em seguida, é adicionada uma fase sólida que consiste em PPM's revestidas com anticorpos específicos da amostra que, após incubação, vão-se ligar ao antígeno presente na amostra, que por sua vez já se encontrava ligado ao anticorpo marcado formando o complexo PPM-anticorpo-

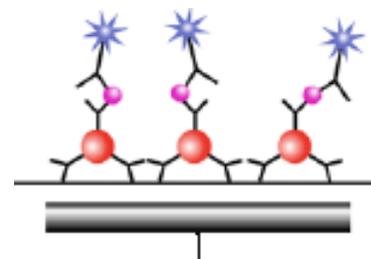


Figura 27: Imunoensaio do tipo Sandwich.

antígeno-anticorpo-EA (Figura 27). Estes anticorpos reconhecem uma região do antígeno distinta daquela que se liga ao anticorpo primário.

Num formato do tipo sanduíche, a concentração do antígeno específico do analito na amostra e a emissão de luz em RLUs têm uma relação directa.

b) Imunoensaio competitivo

Neste tipo de ensaio, o antígeno presente na amostra do doente e um antígeno idêntico, mas marcado com EA, competem por locais de ligação no anticorpo que está ligado a PPM's (Figura 28).

Assim, quanto mais antígenos específicos estiverem presentes na amostra, menos antígenos marcados com EA são ligados.

Neste sistema a partícula marcada também pode ser o anticorpo que vai competir com anticorpos presentes na amostra por locais de ligação ao antígeno ligado a PPM.

No ensaio competitivo, a concentração de antígeno/anticorpo na amostra e a emissão de luz em RLUs têm uma relação inversa (23).

De acordo com os ensaios anteriormente descritos são determinados os seguintes parâmetros analíticos (Tabela 11).

Tabela 11: Parâmetros analíticos e respectivas técnicas

Tipo de Ensaio	Análise	
Competitivo	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Vitamina B12 ▪ Ácido fólico ▪ T4 ▪ FT4 ▪ T3 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ FT3 ▪ Estradiol ▪ Progesterona ▪ Testosterona
Sandwich	<ul style="list-style-type: none"> ▪ PTH ▪ Insulina ▪ HbsAg ▪ Prolactina 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ PSA ▪ CEA ▪ CA 15.3 ▪ CA 125

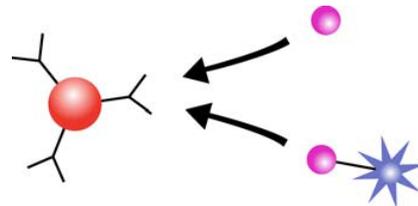


Figura 28: Imunoensaio competitivo

	<ul style="list-style-type: none">▪ LH▪ FSH▪ TSH	<ul style="list-style-type: none">▪ CA 19.9▪ AFP
--	--	---

ANEMIA

Vitamina B12

A vitamina B12 (cobalamina) é uma vitamina essencial para os humanos. É necessária à eritropoiese, à síntese de DNA e na formação e manutenção da bainha de mielina. A vitamina B 12 está presente sobretudo em alimentos de origem animal tal como a carne, peixe, ovos e leite e, só é absorvida após conjugação com o factor intrínseco (FI).

Interpretação clínica:

O défice de vitamina B12 pode ser devido a várias causas entre as quais, a mais importante é a secreção diminuída do factor intrínseco que se traduz numa anemia perniciosa. Outras causas comuns são a baixa ingestão de alimentos ricos em vitamina B12 (mais frequente nos vegetarianos), má absorção intestinal e uso de medicamentos.

A carência de vitamina B 12 provoca anemias megaloblásticas com presença de glóbulos vermelhos grandes e imaturos no sangue periférico e neuropatias (2).

Folatos (Ácido fólico)

Os folatos incluem, entre outros, o ácido fólico e actuam como coenzimas em reacções metabólicas essenciais ao organismo onde há transferência de unidades de carbono. Eles têm um papel importante no metabolismo dos aminoácidos, na síntese dos ácidos nucleicos, bem como na formação das células sanguíneas e de alguns dos constituintes do tecido nervoso.

Os folatos são obtidos através da alimentação de vegetais verdes, frutos, fígado e fermento.

Interpretação clínica:

A deficiência de folatos é uma das deficiências vitamínicas mais comuns. Pode ser o resultado de uma ingestão inadequada, frequente nos idosos e alcoólicos; má absorção durante doenças como a doença celíaca, uso de fármacos; metabolismo anormal ou necessidades acrescidas tal como em gravidezes repetidas.

Qualquer carência, deficiência ou não utilização dos folatos conduz a uma diminuição da síntese do DNA, redução do número de mitoses e numa anemia megaloblástica.

Uma vez que, as consequências eritrocitárias da carência de vitamina B12 e de ácido fólico são bastante idênticas, os seus doseamentos devem ser realizados em simultâneo (2).

METABOLISMO ÓSSEO

PTH

A hormona paratiróide (PTH) é sintetizada e secretada pelas glândulas paratiróides, e é responsável pela regulação da concentração de cálcio e fósforo na corrente sanguínea. No osso, a PTH é responsável pela libertação de cálcio, através de um aumento da reabsorção óssea, estimulando a actividade dos osteoclastos e inibindo a actividade dos osteoblastos; no rim provoca um aumento da reabsorção de cálcio e diminuição da reabsorção de fosfato; e a nível intestinal promove a formação da vitamina D activa (1,25-dihidroxitamina D), que por sua vez estimula a absorção intestinal de cálcio e fosfato.

Quando estão presentes baixas concentrações de cálcio em circulação há secreção de PTH de modo a aumentar a concentração de cálcio e do mesmo modo quando estão presentes níveis elevados de cálcio a sua secreção é inibida (2).

Interpretação clínica:

Os níveis de PTH podem ser usados para monitorizar os pacientes que têm condições ou doenças que causam desequilíbrios crónicos de cálcio e, para monitorar tumores da paratiróide.

Os valores de PTH acompanhados dos valores de cálcio são úteis para distinguir doentes com hiperparitiroidismo, hipoparitiroidismo ou hipercalcemia maligna.

Numa situação de hipercalcemia, a PTH pode encontrar-se elevada tratando-se de uma hipercalcemia paratiroídiana, ou baixa indicando uma origem extraparatiroídiana da hipercalcemia. A PTH está muito diminuída na hipercalcemia maligna, contribuindo assim para o reconhecimento desta doença.

O hiperparatiroidismo pode ser classificado em hiperparatiroidismo primário ou hiperparatiroidismo secundário. O hiperparatiroidismo primário é devido à presença de tumores na paratiróide que secretam PTH de forma desregulada, havendo um excesso de produção de PTH e, conseqüente hipercalcemia. O hiperparatiroidismo secundário surge principalmente em pacientes com insuficiência renal como conseqüência da hipocalcémia. Nestes pacientes, o fosfato não é eficientemente excretado, interrompendo o equilíbrio com o cálcio. Estes pacientes são também incapazes de produzir a forma activa da vitamina D, tornando-se incapazes de absorver adequadamente o cálcio da dieta. Outras causas de hipertiroidismo secundário são a má absorção de cálcio, doenças intestinais ou deficiência de vitamina D.

No hipoparatiroidismo, os níveis de PTH são indetectáveis ou em concentrações muito baixas e, acompanhados de níveis baixos de cálcio e elevados de fosfato. O hipoparatiroidismo pode ser devido a causas que incluem defeitos na paratiróide, remoção da glândula, causas auto-imunes que levam à destruição das paratiróides entre outras, ou pode ainda, tratar-se de uma resistência à PTH (pseudo-hipoparatiroidismo.)

DIABETES

Insulina

A insulina é uma hormona proteica sintetizada, armazenada e segregada pelas células β das ilhotas de Langerhans do pâncreas, e actua na regulação dos níveis de glicose no sangue.

É uma hormona anabolizante que estimula a captação de glicose no tecido adiposo e muscular, promove a conversão da glicose em glicogénio ou em lípidos para armazenamento, estimula a produção de glicose no fígado, estimula a síntese proteica e inibe a degradação das proteínas.

A insulina é libertada em resposta a grandes concentrações de glicose no sangue, normalmente após as refeições.

Interpretação clínica:

A determinação quantitativa da insulina é útil para estudar a diabetes *mellitus*, bem como para avaliar doentes com hipoglicemia em jejum, determinar os motivos da resistência à insulina e avaliar também as anomalias nas células β secretórias do pâncreas.

Na diabetes *mellitus* insulino dependente (diabetes do tipo I) os níveis de insulina estão diminuídos ou muito baixos, uma vez que há uma deficiência na produção de insulina, que pode ser resultado quer de uma auto-destruição das células β ou da presença de auto-anticorpos da insulina.

Na diabetes *mellitus* não insulino dependente (diabetes do tipo II) os níveis de insulina estão normais ou elevados, uma vez que esta resulta de resistência à insulina.

Doentes com tumores pancreáticos com secreção de insulina, insulinomas levam ao aumento anormal dos níveis de insulina circulante conduzindo a uma situação de hipoglicémia (2).

HEPATITE B

Hbs Ag- antígeno de superfície da hepatite B

O vírus da hepatite B é um vírus de genoma DNA pertencente à família *Hepadnaviridae*. A transmissão ocorre por contacto com fluidos biológicos, nomeadamente, sangue, esperma, fluidos vaginais, saliva e leite materno.

O antígeno de superfície ou de invólucro viral da hepatite B é um marcador serológico distintivo da Hepatite B aguda ou crónica. Juntamente com o DNA viral, é o primeiro marcador da infecção a ser detectável (2–6 semanas antes dos sintomas). O antígeno HBs induz a formação de anticorpos protectores contra todas as estirpes virais causadoras da hepatite B.

Interpretação clínica:

A sua determinação é útil no diagnóstico da infecção pelo HBV e sua monitorização. Atinge níveis máximos durante a fase aguda da doença, e declina até tornar-se indetectável entre 4-6 meses após o aparecimento dos sintomas. A sua persistência em circulação, por mais de 6 meses após o início dos sintomas, indica uma infecção crónica ou portador assintomático (hepatite persistente).

A sua determinação também é útil para avaliar a eficácia dos fármacos antivíricos. O rastreio pré-natal do HbsAg tem sido recomendado para que os recém-nascidos de mães portadoras possam obter tratamento profilático.

ENDOCRINOLOGIA REPRODUTIVA

Prolactina

A prolactina é uma hormona sintetizada pelas células da adeno-hipófise. A sua principal função é a estimulação da produção de leite e respectiva manutenção durante a lactação. É libertada para a corrente sanguínea num ritmo circadiano, atingindo níveis máximos durante o início do sono profundo e valores mais baixos por volta do meio-dia. A prolactina é controlada pelo hipotálamo através de vários factores que controlam a sua secreção, tais como a dopamina e o GABA (principais factores inibidores) e o TRH, VIP e a serotonina que estimulam a sua produção. O principal estímulo fisiológico para a libertação de prolactina é a amamentação (2).

Interpretação clínica:

O aumento dos níveis de prolactina (hiperprolactinémia) têm como consequências nas mulheres, irregularidades na menstruação, galactorreia, amenorreia e infertilidade. No homem é responsável por um hipogonadismo que pode gerar impotência sexual por prejudicar a produção de testosterona.

A causa mais comum da hiperprolactinémia é a iatrogénica, associada a administração de medicamentos, mas também pode ocorrer devido a tumores na hipófise (hiperprolactinémia primária) e devido a hipotiroidismo ou insuficiência renal (hiperprolactinémia secundária). Níveis muito elevados de prolactina estão presentes nos adenomas de prolactina.

Os níveis de prolactina também podem ser influenciados por factores exógenos como o exercício físico, o *stress*, hipoglicemia ou sono que conduzem a aumentos momentâneos nos níveis de prolactina (2).

Défices de prolactina são raros e traduzem-se basicamente em ausências de lactação após o parto.

Estradiol (17-beta-estradiol) - E2

O estradiol é uma hormona sexual feminina produzida pelos folículos ováricos e corpo lúteo durante o ciclo menstrual e, pela placenta durante a gravidez. A sua principal função consiste no crescimento dos órgãos sexuais femininos e no desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários femininos.

No início da fase folicular os níveis de estradiol são baixos e constantes até ao 7º dia onde começam a subir ligeiramente. Quando o estradiol atinge níveis mais elevados este suprime o nível de FSH por retroacção negativa no hipotálamo e na hipófise e activa a libertação de LH. Quando a LH atinge o seu máximo os níveis de estradiol descem. A ovulação ocorre após 12 a 14 horas um pico de LH e 24 a 36 horas o pico do estradiol. Depois da ovulação, na fase luteínica os níveis de estradiol aumentam novamente, alcançando um nível máximo cerca de 8 dias após a ovulação implicando a regressão do corpo lúteo (Figura 29). Os níveis de estradiol diminuem iniciando assim um novo ciclo caso não haja fecundação.

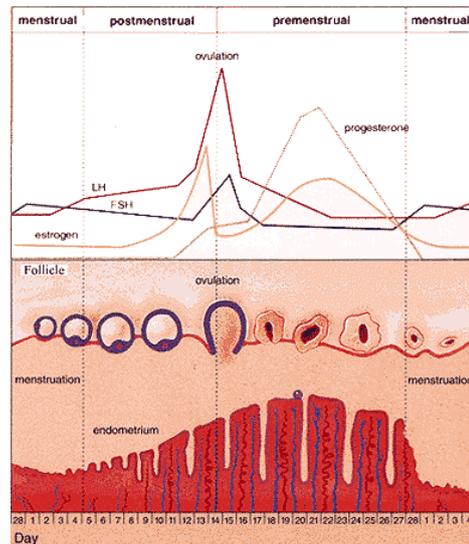


Figura 29: Ciclo menstrual

Interpretação clínica:

Os níveis de estradiol no sangue são importantes para avaliar o funcionamento dos ovários, e o desenvolvimento dos folículos no caso de inseminação *in vitro*. Níveis normais de estradiol permitem ovulação e gravidez adequadas, além de favorecer uma estrutura óssea saudável e boa regulação nos níveis de colesterol.

Nas mulheres, níveis elevados de estradiol podem resultar numa hiperfunção primária ou secundária dos ovários. Níveis elevados de estradiol são detectados durante uma gravidez ou terapia de reprodução assistida, e em tumores nos ovários, testículos ou supra-renais.

Os níveis diminuídos de estrogénios podem indicar hipogonadismo primário (disfunção ovariana), como na síndrome de Turner ou hipogonadismo secundário, como no hipopituitarismo ou menopausa.

Nos homens os níveis de estradiol normalmente são baixos, contudo podem-se encontrar elevados numa situação de ginecomastia (2).

Progesterona

A progesterona é uma das hormonas esteróides femininas. É produzida pelo corpo lúteo no ovário a partir da adolescência, onde exerce a função de preparar o útero para receber o embrião. Durante a gravidez, deixa de ser produzida pelo corpo lúteo, e começa a ser produzida pela placenta, actuando assim, de modo a manter a gravidez. Os níveis de progesterona encontram-se elevados com a ovulação, caindo depois para níveis baixos com a indução da menstruação (2).

Interpretação clínica:

Níveis baixos de progesterona têm como principais consequências a amenorreia ou a falta de menstruação. Muitas mulheres inférteis, com falhas de implantação e com abortos recorrentes apresentam baixos níveis de progesterona no sangue.

Níveis elevados podem ser detectados numa gravidez múltipla ou em carcinoma ovariano.

LH e FSH

A LH (hormona luteinizante) e a FSH (hormona folículo-estimulante) são duas hormonas polipeptídicas sintetizadas pelas células da adeno-hipófise (hipófise anterior), sobre o controlo do hipotálamo. São libertadas de forma pulsátil durante o ciclo menstrual.

Na mulher, a LH desencadeia a ovulação e mantém a secreção do estradiol e da progesterona pelo corpo amarelo durante a fase luteínica e a FSH assegura a maturação folicular e a produção de estrogénios durante a fase folicular. No homem, a LH estimula as células de Leydig nos testículos, a produzirem testosterona e a FSH contribui para a espermatogénese pela sua acção sobre os tubos seminíferos (2).

Interpretação clínica:

O doseamento da LH e da FSH é importante no estudo do funcionamento do sistema reprodutor feminino e masculino.

Níveis aumentados de LH e FSH estão associados a diversas condições tais como: a menopausa como consequência da libertação diminuída do estradiol; no hipogonadismo primário nas mulheres (síndrome dos ovários poliquísticos, síndrome de Turner, tumores nos ovários, entre outras); e no hipogonadismo primário nos homens (síndrome de Klinefelter, tumor das células germinais entre outras causas).

Níveis reduzidos de LH e FSH encontram-se associados a distúrbios da glândula hipofisária ou do hipotálamo (hipogonadismo secundário).

Em crianças pequenas, a presença de níveis elevados de LH e FSH e/ou desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários numa idade extraordinariamente jovem, são uma indicação de puberdade precoce (2).

Testosterona

A testosterona é o principal androgénio masculino. É segregado nos homens pelas células de Leydig dos testículos, e nas mulheres pelos ovários, em níveis muito inferiores. A sua estimulação e produção é controlada pela LH.

A produção de testosterona é maior nas primeiras horas da manhã e mais baixa durante a noite. Os seus níveis também aumentam após o exercício e diminuem após imobilização e sobrecarga de glucose.

A sua principal função está relacionada com o desenvolvimento dos caracteres sexuais masculinos como o engrossamento da voz, desejo sexual, crescimento de pelos e aumento da massa muscular (2).

Interpretação clínica

No sexo masculino a deficiência de testosterona ocorre em casos de hipogonadismo primário como na síndrome de Klinefelter e no hipogonadismo secundário, como resultado de doenças hipotalâmicas ou hipofisárias, resultando em infertilidade, diminuição da libido e da potência sexual. Um aumento dos níveis de testosterona no homem pode ser detectado em tumores testiculares, tumores adrenais produtores de testosterona, hiperplasia adrenal congénita entre outros.

Nas mulheres os níveis de testosterona normalmente são baixos. Níveis aumentados podem ser indicativos de síndrome dos ovários poliquísticos ou hiperplasia adrenal congénita entre outras, e as manifestações incluem infertilidade, hirsutismo, amenorreia e obesidade (2).

FUNÇÃO TIROIDEIA

Na grande maioria dos casos, as doenças da tiróide desenvolvem-se de um modo lento e silencioso, porque os sinais e os sintomas são frequentemente desconhecidos pelo paciente. Assim, são facilmente confundidas com outras patologias como a hiperlipidemia, irregularidades menstruais, menopausa ou depressão.

A tiróide secreta duas hormonas, a tiroxina e a triiodotorironina conhecidos por T4 e T3 respectivamente.

A T3 e a T4 são segregadas para a circulação em resposta à hormona estimulante da tiróide (TSH) e desempenham um papel fundamental no metabolismo. A secreção de T3 e T4 é regulada por um mecanismo de retroacção negativo que envolve a glândula tiróide, a glândula pituitária e o hipotálamo.

TSH

A TSH (hormona tireoestimulante) é uma glicoproteína sintetizada pelas células da hipófise anterior. Esta hormona é responsável pela regulação da função endócrina da tiróide.

A libertação de TSH é estimulada pela TRH (hormona libertadora da tirotropina), um tripéptido secretado pelos neurónios hipotalâmicos que actua na hipófise anterior. A TSH, por sua vez, vai interagir com receptores específicos na tiróide e exercer as suas funções, ou seja estimular a tiróide a libertar as suas hormonas.

A secreção da TSH é muito sensível às variações das hormonas tiroideias circulantes. Fracas elevações de T3 ou de T4 inibem-na e uma diminuição da produção destas hormonas, mesmo sem haver baixa das suas concentrações sanguíneas, é suficiente para estimular a sua secreção.

A TSH é secretada para a circulação sanguínea de forma circadiana em que os níveis mais altos prevalecem entre as duas e as quatro horas da manhã e os mais baixos entre as cinco e as seis horas da tarde (2).

Interpretação clínica:

O doseamento do TSH é o teste mais indicado no diagnóstico das anomalias das hormonas da tiróide, sendo usado como teste inicial no estudo da função tiroideia.

O doseamento do TSH é importante no diagnóstico diferencial do hipotireoidismo primário (doenças da tiróide) onde os níveis de TSH estão elevados, do hipotireoidismo secundário e terciário (doenças hipofisárias e hipotalâmicas respectivamente) em que os níveis de TSH estão baixos.

Os níveis de TSH no soro são baixos em todas as formas de hipertireoidismo excepto em casos raros como num tumor hipofisário secretante de TSH.

T4 – tiroxina

A tiroxina é a principal hormona tiroideia e desempenha um papel essencial no metabolismo. T4 é o produto primário de secreção da tiróide que posteriormente sofre desiodação originando o T3.

Na circulação, encontra-se 99,97% ligado a proteínas de transporte principalmente à TBG (globulina ligante de tiroxina), pré-albumina e albumina. Apenas uma pequena fracção se encontra livre e é esta pequena parte que exerce a actividade biológica (2).

Interpretação clínica:

Normalmente, valores elevados de T4 podem indicar hipertireoidismo e valores baixos hipotireoidismo. Contudo, como o T4 encontra-se na sua maioria ligado a proteínas de ligação como a TBG, os seus valores podem sofrer variações consoante haja alterações nestas proteínas. Assim, os níveis de T4 podem estar diminuídos na síndrome nefrótica, em doenças gastrointestinais e uso glucocorticóides ou androgénios em que a concentração de TBG é diminuída, e aumentados numa gravidez, uso de pílulas anticoncepcionais ou estrogénios, hepatites crónicas activas quando os níveis de TBG são altos.

Situações que bloqueiam a transformação do T4 em T3 também provocam uma elevação dos níveis de T4.

T4 Livre

T4 livre, ou T4 não ligada a proteínas de transporte, corresponde à fracção metabolicamente activa.

Interpretação clínica:

Esta fracção é mais indicada no diagnóstico do hipertiroidismo (valores elevados) e do hipotiroidismo (valores diminuídos) uma vez que, ao contrário da T4 não sofre influência pelos valores de TBG e outros factores fisiológicos, farmacológicos ou patológicos.

T3 – Triiodotironina total

A T3 é a segunda hormona tiroideia e, resulta essencialmente da desiodação periférica de T4, sendo apenas, uma parte secretada directamente pela própria tiróide.

A T3 circula na forma livre (0,3%) ou ligada a proteínas transportadoras (99,7%), sobretudo à globulina de ligação à tiroxina (TBG) e, em menor grau à albumina e à pré-albumina.

T3 é quatro a cinco vezes mais activa fisiologicamente que a T4 (2).

Interpretação clínica:

Os níveis de T3 encontram-se baixos no hipotiroidismo, contudo estes demoram mais a diminuir que os de T4 e podem muitas vezes encontrar-se normais com níveis de T4 diminuídos e TSH aumentados. Alguns medicamentos, bem como doenças agudas e crónicas podem causar uma diminuição transitória dos níveis de T3, uma vez que estes inibem a desiodação do T4 em T3.

Os seus níveis encontram-se elevados no hipertiroidismo e em níveis mais elevados que T4, uma vez que o T3 origina quer da secreção tiroidiana aumentada quer da transformação periférica de T4 em T3.

Os factores que modificam a ligação de T4 à TBG são os mesmos que influenciam a ligação de T3, contudo a causa de erro é menor uma vez que a afinidade de T3 à TBG é menor.

O doseamento da T3 deve ser acompanhado de outros testes uma vez que este sofre muitas vezes interferência com o *stress* e outros factores.

T3 livre

A T3 livre ou seja a fracção não ligada a proteínas é a fracção fisiologicamente activa.

Interpretação clínica:

O doseamento da T3L, tal como a T4L, é importante quando há níveis alterados de T3 total devido às proteínas de ligação à T3, principalmente a TBG.

A T3 livre é elevada no hipertiroidismo, sendo por vezes, a única hormona tiroideia elevada em alguns casos de hipertiroidismo. A T3 pode também elevar-se em alguns adenomas tóxicos que secretam preferencialmente T3, sendo este aumento acompanhado de T4 normal e TSH diminuído.

O teste é muito útil no ajustamento de medicamentos anti-tireoidianos durante o tratamento do hipertiroidismo.

MARCADORES TUMORAIS

Os marcadores tumorais consistem em macromoléculas que estão presentes num tumor, sangue ou líquido biológico, cuja presença ou alteração das suas concentrações esta relacionada com a formação do tumor e o aparecimento de células neoplásicas. Os marcadores tumorais são usados na clínica para diagnóstico, prognóstico e monitorizar os efeitos da terapêutica bem como alvos de tratamento. Estes marcadores são quantificados por métodos imunológicos neste aparelho (2).

PSA Total

O PSA, antígeno específico da próstata é uma glicoproteína produzida pelo epitélio glandular da próstata. Encontra-se em circulação principalmente sob duas

formas que são detectáveis por testes imunológicos, a forma livre e a forma complexada.

O PSA é encontrado em tecidos prostáticos normais, benignos, hiperplásicos ou malignos, não se encontrando em mais nenhum outro tecido. Este apresenta valores indetectáveis em mulheres e em homens que tenham realizado prostatectomia (2).

Interpretação clínica:

O doseamento apenas do PSA, não é eficaz para a detecção do cancro da próstata, porque este é específico do tecido prostático e não do cancro, sendo usado em conjunto com o toque rectal.

O PSA é detectado no soro de homens com tecido da próstata normal, contudo encontra-se aumentado em homens com hiperplasia benigna da próstata e cancro da próstata, sendo mais elevado neste último.

O seu doseamento é importante na monitorização do tratamento do cancro da próstata, sendo útil para determinar uma possível recaída após o tratamento. Este também é útil na avaliação da presença de metástases. Assim, quando há um aumento do nível de PSA após tratamento, este é indicativo de doença residual ou recorrente sendo necessário tratamento adicional (2).

PSA Livre

O doseamento do PSA livre é importante para calcular a razão entre o PSA livre e PSA total. Esta razão é útil para discriminar se estamos perante uma hiperplasia benigna da próstata ou carcinoma. Quanto mais baixa for a razão, maior o risco de carcinoma. Uma relação PSA livre/ PSA total <15% é um forte indicador de cancro.

CEA

O CEA, antigénio carcinoembrionário pertence ao grupo dos antigénios oncofetais, antigénios que são produzidos durante a vida fetal. Está presente no epitélio entodérmico embrionário e encontra-se em grandes concentrações no feto, diminuindo na altura do nascimento, e elevando-se novamente na presença de cancro.

Interpretação clínica:

Os valores de CEA podem elevar-se em algumas situações malignas, preferencialmente no carcinoma colorectal (70%), mas também no carcinoma pulmonar (45%), gástrico (59%), mama (40%), pancreático (55%), ovariano (25%), uterino (40%), e ainda em situações benignas, tais como hepatites, cirrose hepática, enfisema pulmonar, colite ulcerativa, doença benigna da mama e em fumadores.

O CEA é um marcador de baixa especificidade e, como tal a sua principal utilização é na monitorização e estadiamento do cancro colorectal. Após tratamento ou remoção do tecido canceroso os seus níveis diminuem, voltando ao normal dentro de poucos meses. Contudo, podem aumentar novamente em situações de recorrência ou na possibilidade de metástases (24).

CA 15-3

O CA 15-3 é uma glicoproteína produzida pelas células epiteliais glandulares. É o marcador tumoral usado por excelência no carcinoma da mama.

Interpretação clínica:

O CA 15-3 desempenha um papel importante no acompanhamento e avaliação da eficácia do tratamento do carcinoma da mama, bem como no aparecimento de metástases ou recidivas.

A sua sensibilidade varia de acordo com a massa tumoral e o estadiamento clínico, sendo quase de 100% numa doença muito disseminada.

Níveis elevados de CA 15.3 também foram observados em outras neoplasias, tais como cancro do pâncreas, ovário e dos pulmões e, em doenças não malignas como a hepatite crónica, tuberculose, sarcoidose e lúpus eritematoso sistémico (24).

CA 125

O CA 125 é um marcador usado principalmente no carcinoma epitelial do ovário sendo também útil no cancro endometrial (2).

Interpretação clínica:

O seu doseamento é essencial no seguimento da resposta ao tratamento e na detecção precoce de uma possível recaída no carcinoma do ovário. Na fase pós-

operatória os valores de CA 125 relacionam-se com o volume de tumor e constituem assim, um indicativo de prognóstico do resultado clínico.

A sua sensibilidade no cancro do ovário varia de acordo com o estadio em que o cancro se encontra, sendo próxima de 100% no último estadio (estadio 4).

O CA 125 também se encontra elevado noutras situações malignas como no carcinoma pancreático, pulmonar, mamário, colorectal entre outros e em doenças benignas como endometriose, cirrose hepática, hepatite e doença pélvica inflamatória. Valores elevados de CA 125 podem ainda ser encontrados numa gravidez predominantemente no primeiro trimestre e ainda 1-2% das mulheres saudáveis (24).

CA 19.9

O CA 19.9, também conhecido como antigénio de Lewis é uma glicoproteína produzida pelos canalículos biliares e pancreáticos humanos, bem como por células epiteliais do estômago, do cólon, endométrio e glândulas salivares (2).

Interpretação clínica:

O CA 19.9 é indicado como marcador tumoral em carcinomas do trato gastrointestinal: no cancro do pâncreas e trato biliar como primeira escolha e no colorectal como segunda escolha.

A sua sensibilidade é variável com a localização do tumor: pâncreas 70-94%, vesícula biliar 60-79%, hepatocelular 30-50%, gástrico 40-60% e colorretal cerca de 30-40%. Em menor frequência também pode positivar no cancro de mama, de pulmão e de cabeça e pescoço. Algumas doenças como cirrose hepática, pancreatite, doença inflamatória intestinal e doenças auto-imunes podem elevar o CA 19-9.

É um marcador tumoral útil, sobretudo no diagnóstico diferencial de carcinoma do pâncreas e pancreatite, no estadiamento e na monitoração do tratamento em doentes com cancro do pâncreas (24).

AFP

A alfafetoproteína é a principal glicoproteína do soro fetal e, tal como o CEA, é um antigénio oncofetal. É sintetizada durante o estado embrionário pelo saco vitelino e fígado fetal, e lançada para o soro fetal onde desempenha funções de transporte plasmático e manutenção da pressão oncótica. Desaparece após o nascimento.

Interpretação clínica:

Os níveis de AFP nos adultos normalmente são baixos, contudo, elevam-se numa gestação, em situações benignas como nas hepatites crónicas e cirroses onde há regeneração hepática, e em situações malignas como no carcinoma hepatocelular, alguns tumores de células germinativas nomeadamente nos ovários e nos testículos, teratocarcinoma dos testículos e ainda em tumores com metástases no fígado.

A AFP é considerada um marcador de hepatocarcinomas, uma vez que há uma elevação em grande parte destes tumores. Os níveis de AFP são úteis para determinar o prognóstico e no monitoramento da terapia para carcinoma hepatocelular. Níveis elevados após tratamento podem indicar presença de metástases ou remoção incompleta do tumor no caso de cirurgia.

A alfafetoproteína tem como principal papel a monitorização da terapia para o carcinoma de testículo, sendo um bom elemento de vigilância após a retirada do mesmo. O uso combinado da AFP com a hCG é útil para a monitorização de doentes com cancro testicular não seminomatoso.

É importante o doseamento da AFP numa gravidez, uma vez que crianças que apresentem defeitos do tubo neural² apresentam níveis elevados de AFP durante o segundo trimestre (24).

VIDAS

O VIDAS (Figura 30) é um sistema multiparamétrico de imunoensaio que permite a realização de diversos testes em simultâneo. São determinados assim, vários parâmetros ao mesmo tempo.



Figura 30: VIDAS

O sistema VIDAS utiliza cones que constituem a fase sólida da reacção e estão sensibilizados com Ag's (antigénios) ou Ac's (anticorpos), e barretes que contêm os reagentes necessários à reacção (25).

² Os defeitos do tubo neural são malformações fetais no cérebro ou na espinal medula causados pela deficiência de ácido fólico durante a gestação

Princípio: O sistema VIDAS utiliza o princípio ELFA, que combina o método ELISA com uma leitura final em fluorescência.

A amostra inicialmente é incubada com um anticorpo /ou antígeno marcado com a enzima fosfatase alcalina. De seguida ocorrem etapas de lavagem de forma a remover os componentes e o anticorpo/antígeno em excesso. Na etapa final de revelação, a enzima do conjugado catalisa a reação de hidrólise do substrato 4-metil-umbeliferilfosfato (4-MUP) em 4-metil-umbeliferona (4-MU), do qual resulta emissão de fluorescência a 450nm após excitação a 370nm. A emissão de fluorescência é proporcional à quantidade de antígeno ou anticorpo presente na amostra.

Testes realizados

β -hCG

A hormona coriônica gonadotrófica é uma glicoproteína produzida pelas células do sinciciotrofoblasto da placenta, logo após a fecundação.

O seu papel fisiológico é de manter o corpo amarelo, permitindo a sua transformação em corpo amarelo gestacional e estimular a produção de progesterona e estrogénios nos primeiros meses de gravidez. É também um marcador de tumores trofoblásticos, testiculares e outros tumores produtores de β - hCG.

Interpretação clínica:

O doseamento da β -hCG é usado principalmente como teste de diagnóstico precoce de uma gravidez.

Na presença de uma gravidez o resultado além de positivo indica também o número de semanas de gestação. Os valores de β -hCG aumentam exponencialmente durante o primeiro trimestre até atingir um pico, depois sofrem um rápido declínio estabilizando até ao fim da gravidez.

O doseamento da hormona β -hCG pode também ser útil no prognóstico e acompanhamento terapêutico de tumores trofoblásticos. No homem, o doseamento é útil no diagnóstico e monitoramento terapêutico de tumores testiculares.

PATOLOGIAS TIROIDEIAS

ATG (Anti-TG)

Os auto-anticorpos anti-tireoglobulina (anti-TG) são auto-anticorpos dirigidos contra a tireoglobulina, componente principal do colóide tireodiano.

A tireoglobulina é uma glicoproteína sintetizada pelas células foliculares da tiróide e constitui o componente principal do colóide folicular. É responsável pela incorporação de iodo e funciona como pré-hormona na síntese da T4 e T3 (2).

Interpretação clínica:

Os auto-anticorpos anti-tireoglobulina são importantes na avaliação dos distúrbios da tiróide, nomeadamente em doenças tiroideias auto-imunes. Encontram-se aumentados na tiroidite de Hashimoto (cerca de 85%) e na doença de Graves (mais de 30%).

Observam-se títulos elevados de anticorpos no carcinoma da tiróide e estes podem interferir com o doseamento da tireoglobulina, impedindo assim o uso da tireoglobulina como marcador no carcinoma da tiróide.

Os anticorpos anti – Tg também podem ser detectados, com menos frequência, noutras patologias auto-imunes como a diabetes *mellitus* tipo I e artrite reumatóide e ainda, numa pequena percentagem da população saudável.

ATPO (Anti-TPO)

Os anticorpos anti-peroxidase (anti-TPO) são auto-anticorpos dirigidos contra a enzima peroxidase. Enzima presente na membrana das células foliculares da tiróide e que catalisa a iodinação da tirosina em tireoglobulina durante a biossíntese de T3 e T4.

Interpretação clínica:

Os anticorpos anti-TPO são usados no diagnóstico de doenças auto-imunes da tiróide, encontrando-se elevados essencialmente na tiroidite crónica de Hashimoto (forma primária de hipotireoidismo) em cerca de 90%, e em mais de 70% na doença de Graves.

Os anticorpos anti-TPO também são frequentemente detectados noutras doenças auto-imunes como a artrite reumatóide, a doença de Addison e a diabetes *mellitus* tipo I.

Encontram-se ainda presentes, mas em fracas concentrações em pessoas assintomáticas, em particularmente nas pessoas idosas e mais nas mulheres. Os níveis destes anticorpos aumentam nas mulheres com tiroidite pós-parto.

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO PRÉ-NATAL

Toxoplasmose

A toxoplasmose é uma parasitose provocada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, parasita oportunista em grávidas e em pacientes imunodeprimidos. As principais formas de transmissão são através da ingestão de carne crua ou mal cozinhada contendo quistos, ou por contacto com fezes de gatos infectados (hospedeiros definitivos).

Em pessoas imunocompetentes as infecções são normalmente assintomáticas, sendo que o maior risco ocorre em mulheres grávidas. Se a infecção ocorrer no primeiro trimestre de gravidez pode-se gerar um quadro agudo que termina com a morte do feto ou num atraso físico mental profundo do recém-nascido (26).

Pesquisa de anticorpos IgG e IgM

O diagnóstico da toxoplasmose é baseado principalmente na detecção de anticorpos da classe IgG e IgM anti-*Toxoplasma gondii*. A interpretação da presença ou ausência destes anticorpos encontra-se de forma sucinta na seguinte tabela (Tabela 12).

Tabela 12: Diagnóstico serológico da toxoplasmose

IgG	IgM	Interpretação	Procedimento
Negativo	Negativo	Não houve contacto com o vírus. Maior susceptibilidade de contrair a infecção durante a gravidez	Prevenção: repetição em intervalos de 3 a 3 meses durante a gestação
Positivo	Negativo	Infecção antiga	Protecção imunológica contra a infecção
Negativo	Positivo	Infecção aguda ou falso positivo de IgM	Segunda colheita após \pm 15 dias. Caso haja seroconversão das IgG é indicativo da presença de infecção
Positivo	Positivo	Presença de infecção,	Avidez das IgG* e western-

		reactivação ou falso positivo	blot de IGM
--	--	-------------------------------	-------------

***Avidez da IgG- permite determinar o tempo de infecção.** Anticorpos IgG de baixa avidéz são encontrados nos quadros com menos de três meses de duração. Já a presença de IgG de alta avidéz aparece nas infecções com mais de três meses de evolução (26).

CMV

O CMV é um vírus de genoma DNA pertencente à família *herpesviridae*.

A sua transmissão ocorre por via vertical, por contacto com líquidos biológicos onde o vírus pode estar presente e ainda, em consequência de transfusões ou transplantes de órgãos, em indivíduos imunodeprimidos. O vírus tem um período de incubação de 4 a 12 semanas.

A infecção pelo CMV na maioria dos casos conduz a uma infecção assintomática contudo, o grupo de maior risco são as grávidas uma vez que há um grande risco para o feto se a primo-infecção acontecer durante a gravidez. O CMV também pode conduzir a infecções severas nos imunodeprimidos (26).

Pesquisa de anticorpos IgG e IgM

A interpretação da presença de anticorpos é similar à interpretação feita na tabela 12 para a toxoplasmose. Após confirmação da infecção pelo CMV em grávidas é importante, certificar se houve ou não infecção fetal, uma vez que nem sempre há transmissão da infecção para o feto. O diagnóstico de infecção congénita é realizado através de amniocentese, com pesquisa directa do vírus (PCR ou cultura viral). Posteriormente, caso se tenha verificado a presença de infecção congénita é importante a realização do diagnóstico pós-natal que normalmente é feito por pesquisa directa do vírus numa amostra de urina colhida até às primeiras 3 semanas (26).

Rubéola

A rubéola é causada por um vírus de genoma RNA pertencente à família *Togaviridae*. O período de incubação do vírus é de 2 a 3 semanas e a transmissão ocorre

através de gotículas de saliva ou pelas secreções nasofaríngeas. O indivíduo infectado é contagioso 8 dias antes a 8 dias após o início dos sinais clínicos.

A doença caracteriza-se por linfadenopatias, erupções maculopapulosas, febre e um mal-estar geral. Contudo, a importância desta doença está relacionada com a sua capacidade de provocar malformações graves no feto cuja mãe foi infectada durante a gravidez, mais particularmente quando a primo-infecção ocorre durante o primeiro trimestre (26).

Pesquisa de anticorpos anti-IgG e IgM

A importância da determinação dos anticorpos é, assim de avaliar a existência de imunidade nomeadamente antes de uma gravidez, fazendo esta pesquisa parte dos testes pré-natais.

Anti-IgG

A detecção dos anticorpos IgG é importante na avaliação do estado imunológico e no diagnóstico de infecção da rubéola. A presença de anticorpos IgG normalmente indica a presença de imunidade que pode ter sido induzida por uma infecção passada ou vacinação. Na presença de um resultado positivo é necessário realizar uma segunda colheita espaçada de ± 15 dias da primeira. Nesta segunda colheita, se os títulos de anticorpos forem estáveis, estamos perante uma infecção antiga, caso haja um aumento dos títulos de anticorpos poderá significar uma primo-infecção. Contudo, para confirmar uma primo-infecção é necessário proceder à determinação da avidéz das IGG.

O teste de avidéz da IgG pode auxiliar na diferenciação de infecção atual ou passada, ou IgM falso-positivo. Anticorpos IgG de baixa avidéz são detectados nos primeiros três meses de infecção; depois deste período, encontram-se os IgG de alta avidéz.

Anti-IgM

A presença de anticorpos IgM pode indicar, na maioria dos casos uma infecção aguda (primo-infecção recente) e, mais raramente pode estar relacionada com situações de reinfecção ou casos em que as IgM persistem durante mais tempo que o normal. A sua duração na circulação sanguínea é de 3 a 6 semanas após os sintomas, após o qual tendem a desaparecer.

A pesquisa de IgM é de grande utilidade no diagnóstico de infecção em recém-nascidos, pois a sua presença indica infecção congénita, já que esta classe de anticorpos não atravessa a placenta.

HEPATITES

Hepatite A

A hepatite A é causada por um vírus de genoma RNA, da família dos picornavírus que entra no organismo através do aparelho digestivo e multiplica-se no fígado, causando neste órgão a inflamação denominada hepatite A. O modo de transmissão é através de alimentos ou água contaminada com dejectos contendo o vírus (via fecal-oral). Durante o período de incubação (20 a 40 dias), a doença não se manifesta.

Inicialmente assemelha-se a uma gripe com febre, mialgias e mal-estar geral, depois aparece a icterícia, a falta de apetite e os vómitos (4).

Pesquisa de anticorpos Anti-HAV total e IgM

Anti-IgM

Os anticorpos IgM estão presentes numa infecção recente. Detectam-se logo no início da infecção com os primeiros sintomas e persistem 2 a 4 meses.

Anti-HAV (IgG + IgM)

Não há um exame específico para a determinação dos anticorpos IgG. O teste usado detecta os dois tipos (IgM e IgG). Um resultado positivo indica a presença de uma infecção actual ou passada, ou uma vacinação anterior. Assim, perante um resultado positivo é que se deve dosear as IgM.

Hepatite B

A hepatite B é considerada a hepatite mais perigosa. É causada por um vírus de genoma DNA pertencente à família dos hepadnavírus. O vírus pode ser transmitido por via parental, sexual e vertical.

Após um período de incubação longo, de 60–90 dias em média, surgem os sintomas que incluem icterícia, fadiga, dores abdominais, perda de apetite, náuseas e vômitos.

A infecção por este vírus pode apresentar-se clinicamente de duas formas: infecção aguda (com ou sem sintomatologia) e infecção crónica (com ou sem sintomatologia). Uma infecção aguda pode ou não evoluir para uma infecção crónica, dependendo do tipo de vírus e, principalmente da resposta imunológica do hospedeiro.

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HBV baseia-se na detecção serológica de antígenos virais e dos respectivos anticorpos, bem como do DNA viral (constituente do genoma viral) (Figura 31 e Tabela 13) (26).

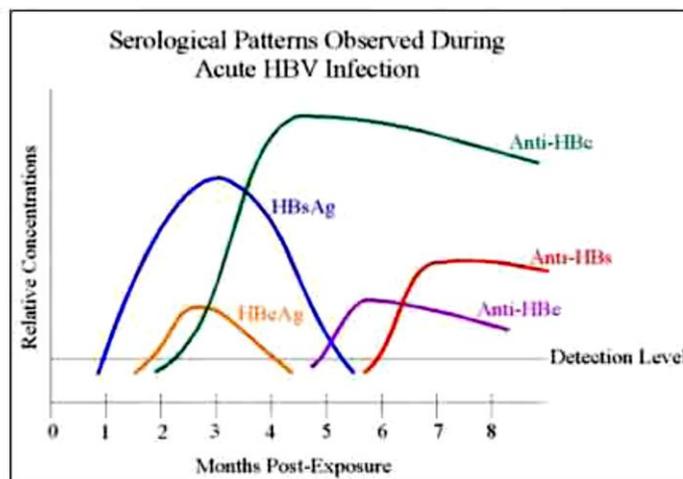


Figura 31: Perfil de anticorpos e antígenos observado no curso de uma infecção pelo HBV

Tabela 13: Marcadores serológicos de diagnóstico da hepatite B

<p>Anti-HBs (Anticorpos anti-HBs)</p>	<p>A presença destes anticorpos em circulação induzem normalmente imunidade para o vírus da hepatite B ou exposição anterior ao vírus. É usado normalmente para verificar a eficácia da vacinação contra o vírus da hepatite B. Surgem 1 a 2 meses após a infecção ou na fase de resolução da infecção aguda, após o desaparecimento do Ag HBs indicando a evolução da doença para a cura.</p>
<p>AgHBe (antígeno de replicação viral) / Anti-Hbe (anticorpo específico do</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>AgHBe</i> - É considerado um marcador de replicação e de infecciosidade do HBV. É detectado em fases de replicação viral, indicando que se trata de uma hepatite activa. Numa infecção aguda desaparece de circulação pouco depois do aparecimento dos sintomas e depois do AgHBs, dando-se a seroconversão para

HBe)	<p>anti-HBe. Pode estar presente numa infecção crónica indicando uma replicação activa.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anti-Hbe - encontra-se associado ao declínio da infecciosidade e o seu aparecimento geralmente corresponde à recuperação da infecção aguda.
Anti-HBc total (anticorpos IgM e IgG para o antígeno HBc)	<p>O AgHBc, antígeno do “core é um antígeno intracelular que apenas é detectado nos hepatócitos infectados. Os anticorpos anti-HBC, são os primeiros a serem detectados e, podem estar presentes numa infecção aguda, crónica ou infecção antiga. Quando aparecem em conjunto com o anticorpo anti-HBs significa infecção passada, com imunidade.</p>

Hepatite C

A hepatite C é uma doença infecciosa causada pelo vírus da hepatite C, pertencente à família *flaviviridae*. O seu período de incubação varia entre 6 a oito semanas e a transmissão ocorre através de contacto directo com sangue ou produtos contaminados.

A infecção pelo HCV evolui para uma hepatite crónica em cerca de 80% dos casos e nestes casos pode conduzir a cirrose hepática ou carcinoma hepatocelular (4).

Determinação dos anticorpos HCV (Anti-HCV)

Os anticorpos anti-HCV surgem entre 15 dias e 6 meses após a infecção e são indicativos de uma infecção recente ou passada. Em caso de positividade, de modo a confirmar a infecção com o vírus é necessário fazer-se a pesquisa de RNA viral (único marcador directo da infecção pelo HCV. Os anticorpos podem permanecer positivos “por tempo indeterminado” após um tratamento bem-sucedido.

HIV (detecção do HIV I, HIV II e do antígeno p24 do HIV I)

O vírus da imunodeficiência humana é um vírus de genoma RNA pertencente à família dos retrovírus. Existem dois tipos, HIV-1 e HIV-2, ambos agentes causais da SIDA. A sua transmissão é principalmente por via sexual, por contacto com sangue contaminado, perinatal e transplacentária. A infecção por este vírus é uma infecção crónica uma vez que o hospedeiro é incapaz de eliminar o vírus.

A pesquisa de anticorpos é o método mais comum de diagnóstico da infecção pelo HIV (26).

Determinação dos anticorpos anti-HIV I, anti-HIV II e Ag p24

Quando a transmissão do HIV ocorre, o sistema imunitário desenvolve anticorpos contra o vírus, que podem ser detectados por testes de rastreio cerca de 2 a 8 semanas após a exposição ao vírus. Contudo, se a exposição ao vírus é mais recente o nível de anticorpos pode ser demasiado baixo e terá de se repetir a pesquisa de anticorpos. Assim, de modo a ultrapassar este problema, surgiram os testes de rastreio de 4ª geração que permitem a determinação simultânea do antígeno p24, e dos anticorpos para o HIV I e HIV II.

Os níveis de antígeno p24 são tipicamente elevados no início da infecção (período entre a contaminação e o aparecimento de anticorpos) e assim, a combinação da detecção do antígeno e dos anticorpos aumenta a probabilidade de detecção da infecção pelo HIV, diminuindo o intervalo de tempo entre a contaminação e o diagnóstico.

Caso o resultado do teste seja positivo, é necessário primeiro a repetição do teste de imunoensaio. Após repetição, o resultado deve ser confirmado recorrendo a um teste mais específico (teste de confirmação) como o Western-Blot (WB) (26).

CONTROLO DE QUALIDADE EM ANÁLISES CLÍNICAS

É fundamental um controlo de qualidade rigoroso em cada uma das fases do processo analítico (pré-analítica, analítica e pós-analítica).

Na fase pré-analítica o controlo de qualidade passa pelo atendimento dos utentes nomeadamente uma identificação correcta do utente até à colheita e triagem correcta dos produtos. Na fase pós-analítica o controlo recai essencialmente sobre a validação dos resultados. Contudo, é a fase analítica que requer um maior controlo de qualidade e onde aparecem os conceitos de controlo de qualidade interno e externo.

O controlo de qualidade interno (CQI) consiste na análise de uma amostra controlo com valores conhecidos dos analitos, de modo a avaliar a precisão dos resultados. É realizado diariamente depois da manutenção inicial dos aparelhos e antes de se testarem as amostras nas quais se pretende determinar este analito. Os resultados do controlo são gravados no aparelho e são construídas cartas de controlo de modo a analisar se os resultados se encontram dentro dos limites aceitáveis de erro (média mais ou menos dois desvios padrão).

O CQI é importante, na medida em que permite controlar os erros a que os processos analíticos estão sujeitos, ou seja ver se os erros estão dentro dos limites bem definidos, uma vez que muitos deles são mesmo impossíveis de eliminar.

O controlo de qualidade externo (CQE) é um controlo interlaboratorial. Consiste na análise de uma amostra desconhecida que é enviada pelo programa de avaliação externa de qualidade em que o laboratório está inscrito – INSA (Instituto Nacional de Saúde Ricardo Jorge). Posteriormente, os resultados são comparados com os resultados obtidos pelos outros participantes no programa.

Com a participação no programa de avaliação externa da qualidade o laboratório pode assegurar que os seus resultados se aproximam o mais possível dos valores reais (exactidão).

CONCLUSÃO

A realização do estágio curricular no âmbito do mestrado em Análises Clínicas, bem como a elaboração do presente relatório de estágio permitiu-me por em prática e aprofundar todos os conhecimentos teóricos e práticos adquiridos ao longo da parte curricular do mestrado. Os conhecimentos que tinha anteriormente ajudaram-me, sobretudo a perceber a importância do pedido de cada análise e saber interpretar os resultados obtidos.

O facto de o laboratório onde realizei o meu estágio ser pequeno, penso que acabou por ser uma mais valia, pois permitiu-me adquirir muito mais experiência no manuseamento das amostras e dos aparelhos bem como na realização das técnicas manuais implementadas no laboratório.

Através do estágio consegui acompanhar e perceber como decorre toda a rotina de um analista clínico ao longo do dia de trabalho e perceber a importância de um controlo rigoroso de cada uma das fases do circuito analítico e como um erro em qualquer delas pode ser crucial para a obtenção de resultados incorrectos.

Foi sem dúvida uma experiência muito enriquecedora a nível profissional e também pessoal uma vez que gostava de trabalhar nesta área no futuro.

BIBLIOGRAFIA

1. Manual de Olympus Au400.
2. Burtis CA, Ashwood ER . Tietz Fundamentos de Química Clínica. 4nd ed. Guanabara Koogan; 1998
3. Jorge F. Diagnóstico e classificação da Diabetes Mellitus. DGS. Norma nr 002/2011. 2011
4. Lab Tests Online [Internet]. [Updated 2013 Dec; cited 2014 Jun]; Available from: <http://www.labtestsonline.org.br/>.
5. Pereira JM. Diagnóstico sistemático da nefropatia diabética. DGS. Circular normativa Nº 13/DGCG
6. Caquet R. Guia prático de Análises Clínicas. 1nd ed. Climepsi editores; 2004
7. Sebia. MINICAP PROTEIN manual.
8. Manual de utilizador do Aution Max-4280.
9. Lopes HJJ. O laboratório clínico na avaliação da Função renal. Gold analisa. [Internet] .[updated 2013 Nov 3; cited 2014 Jun]; Available from: <http://www.goldanalisa.com.br/publicacoes.asp>.
10. Bulas presentes nos Kit's dos testes rápidos.
11. Oliveira RAG. Hemograma - como fazer a interpretação. Livraria médica paulista editora. 2007.
12. Lorenzi TF. Manual de Hematologia- Propedêutica e Clínica.4nded. Guanabara Kooga; 2006
13. Oliveira HP. Hematologia clínica. 2nd ed. Livraria atheneu; 1983
14. Symex XT-2000i/XT-1800i Instructions for use
15. Sysmex. XT-2000-Hematology-Analyzer [Internet].[updated 2013 NOV; cited 2014 Jun]; Available from: <https://www.sysmex.com/la/pt/Products/Hematology/XTSeries/Pages/XT-2000-Hematology-Analyzer.aspx>
16. Hoffbrand V, Moss PAH, Pettit J. Essential Haematology. 5nded; 2006
17. Manual de operação Ves-Matic 30/30 Plus
18. Manual de utilizador do analisador HBGGold
19. ADAMS A1c HA-8160 MANUAL DE INSTRUÇÕES.

20. Moreira A, Coelho T. Função hemostática e sua avaliação. Serviço de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. 2001.
21. Franci, Rendrik F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. 2001. 229-237.
22. Sysmex CA-500 series - Manual de operação
23. Guia do Operador do ADVIA Centaur XP
24. Almeida JRC . Marcadores Tumoriais: Revisão de Literatura. Revista Brasileira de Cancerologia.2007:53; 305-316.
25. BioMérieux[Internet] .[updated 2013 NOV; cited 2014 jun];
Available from:
http://www.biomerieux.pt/servlet/srt/bio/portugal/dynPage?doc=PTG_CLN_PRD_G_PRD_CLN_102
26. Pereira, Prof. J M. Documentos complementares das aulas de virologia Clínica .