



**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**UNIVERSIDADE DO PORTO**

# **LEUCEMIA MIELOIDE**

# **CRÓNICA**

**MONOGRAFIA**

Monografia realizada no âmbito do estágio curricular do 2º Ciclo de estudos conducentes ao Grau de Mestre em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Trabalho realizado sob orientação da Professora Doutora Alice Santos Silva com coorientação da Professora Doutora Susana Coimbra

Ana Beatriz Gonçalves da Cunha

Porto, julho de 2018

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA MONOGRAFIA APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Professora Alice Santos Silva e à Professora Susana Coimbra por terem aceite ser minhas orientadoras, por toda a ajuda, todo o tempo despendido, toda a atenção, todo o carinho e dedicação. Tornaram este caminho muito mais fácil de percorrer e espero ter correspondido às expectativas.

Queria também agradecer ao Dr. Carlos Mendes, diretor do Serviço de Hematologia Laboratorial do Instituto Português de Oncologia do Porto, por me ter permitido realizar um estágio de observação no IPO e pelos casos clínicos fornecidos, que vieram complementar o meu trabalho, assim como à Dr.<sup>a</sup> Cristina Silva, por toda a ajuda e dedicação, durante a minha estadia no IPO.

Gostaria de agradecer também à Dr.<sup>a</sup> Margarida Lima, ao Dr. João Rodrigues e à Dr.<sup>a</sup> Inês Freitas por me terem ajudado e explicado como é realizado o diagnóstico da leucemia mieloide crónica no Centro Hospitalar do Porto.

Gostaria de agradecer à minha família e amigos, especialmente aos meus pais e namorado, por toda a paciência, carinho e compreensão durante a realização da monografia. Vocês foram e serão sempre o meu porto seguro.

Por fim, agradeço também a todas as outras pessoas que contribuíram para a minha formação académica durante o Mestrado em Análises Clínicas.

A todos, um **muito** obrigada!

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

## **Resumo**

A Leucemia mieloide crónica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa, com origem monoclonal numa *stem cell* hematopoiética pluripotente. Deve-se a uma translocação recíproca entre o cromossoma 9 e 22, com formação do cromossoma Filadélfia (Ph). Desta translocação resulta o oncogene *BCR-ABL1*, que leva à expressão da proteína tirosina cinase BCR-ABL1 responsável pela elevada atividade mielopoiética e alteração no normal funcionamento destas células.

A prevalência é mais elevada nos adultos, com uma ligeira predominância no género masculino (1,4:1), sendo rara nas crianças. É habitualmente diagnosticada na fase crónica, em que os doentes são assintomáticos, apresentando alterações hematológicas e bioquímicas características. O doente apresenta leucocitose com precursores mieloides imaturos, basofilia e hiato leucémico. É também frequente apresentarem anemia normocrómica normocítica, alteração do número de plaquetas, aumento da desidrogenase láctica e hepatoesplenomegalia.

Algumas patologias, como a reação leucemoide e os síndromes mieloproliferativos, têm uma apresentação clínica e hematológica semelhantes à LMC, tais como leucocitose, trombocitose e hepatoesplenomegalia. O diagnóstico diferencial é feito por estudos citogenéticos, para pesquisa do cromossoma Ph.

A terapêutica de 1ª linha para a LMC, na fase crónica, inclui os inibidores de tirosina cinase, como o imatinib, nilotinib, e dasatinib, que atuam por inibição da proteína de fusão BCR-ABL1. O tratamento deve ser monitorizado, para avaliar a resposta ao tratamento e a evolução da doença. O estudo analítico (3, 6, 12 e 18 meses de tratamento), inclui a avaliação da resposta hematológica, citogenética e molecular.

A LMC pode progredir para uma fase acelerada da leucemia, mesmo estando o doente em tratamento, que se caracteriza por reaparecimento de leucocitose com formas mieloides imaturas, basofilia, esplenomegalia e apresentação de alterações cromossómicas adicionais. Da fase acelerada pode ainda evoluir para a fase blástica, que pode, no entanto, ter início em alguns dias a décadas após o diagnóstico de LMC. A crise blástica, com evolução para uma leucemia aguda, é caracterizada pelo aumento rápido do número de blastos (superior a 20%) e falência medular que resulta de uma proliferação descontrolada de precursores, habitualmente mieloides, não acompanhada de diferenciação e maturação.

Esta monografia pretende fazer uma revisão atual dos conhecimentos sobre a fisiopatologia da leucemia mieloide crónica, as suas principais manifestações clínicas e o seu diagnóstico diferencial, bem como o seu prognóstico e tratamento. Apresentam-se, ainda, a título ilustrativo, alguns casos clínicos de LMC em diferentes fases.

**Palavras-chave:** Leucemia mieloide crónica, cromossoma Filadélfia, gene *BCR-ABL1*, inibidores de tirosina cinase.

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

## **Abstract**

The Chronic myeloid leukaemia (CML) is a myeloproliferative neoplasia, with monoclonal origin in a pluripotent hematopoietic stem cell. This disease occurs due to a translocation between chromosome 9 and 22, forming the Philadelphia (Ph) chromosome. From this translocation results the *BCR-ABL1* oncogene that encodes a tyrosine kinase protein, the BCR-ABL1, which is responsible for the high myelopoeitic activity and the alteration of the normal function of the hematopoietic cells.

CML affects, mostly, adults, with a slight predominance in the male gender (1,4:1), being rare in children. Usually it's diagnosed in the chronic phase, where the patients are asymptomatic, presenting biochemical and haematological changes. The patients present leucocytosis with immature myeloid precursors, basophilia and leukemic hiatus. They also present normochromic and normocytic anaemia, alteration in the platelets number, increase in lactic dehydrogenase and hepatosplenomegaly.

Some diseases, like the leukemoid reaction and the myeloproliferative disorders, have a clinical and haematological presentation similar to CML, like leucocytosis, thrombocytosis and hepatosplenomegaly. The differential diagnosis is made by cytogenetic studies, through search of Ph chromosome.

The first line of treatment for CML, in chronic phase, includes the tyrosine kinase inhibitors, like imatinib, nilotinib and dasatinib, that act against the BCR-ABL1 protein. The treatment should be monitored to assess response to treatment and disease progression. The analytical study (at 3, 6, 12 and 18 months) include evaluation of haematological, cytogenetic and molecular response.

CML can evolve to the accelerated phase, even when the patient is being treated, and it's characterised by a reappearance of leucocytosis with immature myeloid precursors, basophilia, splenomegaly and appearance of additional chromosomic alterations. From the accelerated phase can evolve to the blastic phase, which may begin between a few days and decades after the diagnosis of CML. The blastic crisis, with evolution to an acute leukaemia, is characterised by the rapid increase in the number of blasts (over 20%) and marrow failure, which results from an uncontrolled proliferation of precursors, usually myeloid, without differentiation and maturation.

This work aims to present a current review of the state of art in pathophysiology of chronic myeloid leukaemia, its main clinical features, differential diagnosis, prognosis and treatment. It also presents some clinical cases of CML, in different phases.

**Keywords:** Chronic myeloid leukaemia, Philadelphia chromosome, *BCR-ABL1* gene, tyrosine kinase inhibitors.

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

## **Índice**

|                                                     |             |
|-----------------------------------------------------|-------------|
| <b>Agradecimentos .....</b>                         | <b>i</b>    |
| <b>Resumo .....</b>                                 | <b>iii</b>  |
| <b>Abstract.....</b>                                | <b>v</b>    |
| <b>Índice.....</b>                                  | <b>vii</b>  |
| <b>Índice de Figuras.....</b>                       | <b>ix</b>   |
| <b>Índice de tabelas .....</b>                      | <b>xi</b>   |
| <b>Lista de abreviaturas e símbolos .....</b>       | <b>xiii</b> |
| <b>1. Introdução .....</b>                          | <b>1</b>    |
| <b>2. Epidemiologia.....</b>                        | <b>2</b>    |
| <b>3. Etiologia.....</b>                            | <b>3</b>    |
| 3.1 Cromossoma Filadélfia .....                     | 5           |
| <b>4. Achados clínicos e laboratoriais.....</b>     | <b>9</b>    |
| 4.1 Alterações hematológicas .....                  | 10          |
| 4.2 Alterações bioquímicas .....                    | 14          |
| 4.3 Estudo citogenético.....                        | 14          |
| 4.4 Estudo molecular .....                          | 15          |
| <b>5. Diagnóstico diferencial.....</b>              | <b>16</b>   |
| <b>6. Tratamento .....</b>                          | <b>20</b>   |
| 6.1 Terapia com Inibidores de tirosina cinase ..... | 20          |
| 6.1.1 Prognóstico e monitorização .....             | 23          |
| 6.1.2 Imatinib .....                                | 27          |
| 6.1.3 Dasatinib.....                                | 29          |
| 6.1.4 Nilotinib .....                               | 30          |
| 6.1.5 Bosutinib e Ponatinib .....                   | 31          |
| 6.1.6 Escolha do TKI.....                           | 32          |
| 6.1.7 Desenvolvimento de resistências.....          | 33          |
| 6.1.8 Descontinuação da terapêutica com TKI.....    | 34          |
| 6.2 Outras terapias .....                           | 35          |

|           |                                                             |           |
|-----------|-------------------------------------------------------------|-----------|
| 6.3       | Terapias de suporte .....                                   | 36        |
| 6.4       | Casos especiais.....                                        | 37        |
| <b>7.</b> | <b>Fase acelerada e transformação blástica da LMC .....</b> | <b>37</b> |
| 7.1       | Fase acelerada .....                                        | 39        |
| 7.1.1     | Achados hematológicos .....                                 | 39        |
| 7.2       | Fase blástica.....                                          | 40        |
| 7.2.1     | Achados hematológicos .....                                 | 40        |
| 7.3       | Sintomatologia .....                                        | 42        |
| 7.4       | Alterações genéticas.....                                   | 42        |
| 7.5       | Prognóstico.....                                            | 42        |
| 7.6       | Tratamento.....                                             | 43        |
| 7.6.1     | Inibidores da tirosina cinase.....                          | 43        |
| <b>8.</b> | <b>Considerações finais .....</b>                           | <b>44</b> |
| <b>9.</b> | <b>Casos clínicos .....</b>                                 | <b>45</b> |
| 9.1       | Caso 1 .....                                                | 45        |
| 9.2       | Caso 2 .....                                                | 53        |
| 9.3       | Caso 3 .....                                                | 61        |
|           | <b>Referências.....</b>                                     | <b>64</b> |

## Índice de Figuras

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Esfregaço sanguíneo de um doente com leucemia mieloide crónica. ....                                                                                   | 1  |
| Figura 2 - Cariótipo de um doente, do género feminino, com leucemia mieloide crónica.<br>.....                                                                    | 2  |
| Figura 3 - Incidência da leucemia mieloide crónica segundo a idade e género.....                                                                                  | 3  |
| Figura 4 - Desenvolvimento da leucemia mieloide crónica (LMC).....                                                                                                | 4  |
| Figura 5 - Esquema da alteração cromossómica que ocorre nos doentes com leucemia<br>mieloide crónica. ....                                                        | 5  |
| Figura 6 - Representação esquemática dos genes <i>BCR</i> e <i>ABL1</i> .....                                                                                     | 6  |
| Figura 7 - Esquematização simplificada das diferentes vias de sinalização celular<br>afetadas pela proteína BCR-ABL1. ....                                        | 7  |
| Figura 8 - Pool de stem cells resistente ao tratamento de leucemia mieloide crónica<br>(LMC). ....                                                                | 9  |
| Figura 9 - Diferentes achados clínicos característicos da leucemia mieloide crónica<br>(LMC). ....                                                                | 10 |
| Figura 10 - Esfregaço sanguíneo de um doente com leucemia mieloide crónica.....                                                                                   | 10 |
| Figura 11 - Representação gráfica da contagem diferencial, no sangue periférico, na<br>leucemia mieloide crónica (LMC). ....                                      | 11 |
| Figura 12 - Esfregaço sanguíneo de um doente com leucemia mieloide crónica. ....                                                                                  | 12 |
| Figura 13 - Esfregaço de medula óssea de um doente com leucemia mieloide crónica.<br>.....                                                                        | 13 |
| Figura 14 - Representação da hibridação fluorescente <i>in situ</i> (FISH). ....                                                                                  | 16 |
| Figura 15 - Esfregaço sanguíneo corado pela fosfatase alcalina neutrofílica (NAP) de<br>um doente com leucemia mieloide crónica não tratada. ....                 | 17 |
| Figura 16 - Representação da evolução e interconversão dos síndromes<br>mieloproliferativos. ....                                                                 | 19 |
| Figura 17 - Mutações genéticas mais frequentes nos Síndromes mieloproliferativos e<br>respetivas percentagens. ....                                               | 20 |
| Figura 18 - Estruturas químicas de diferentes inibidores de tirosina cinase utilizados no<br>tratamento da leucemia mieloide crónica. ....                        | 21 |
| Figura 19 - Mecanismo de ação dos inibidores de tirosina cinase (TKI). ....                                                                                       | 23 |
| Figura 20 - Diferentes tipos de resposta ao tratamento da leucemia mieloide crónica.<br>.....                                                                     | 25 |
| Figura 21 - Respostas hematológicas e citogenéticas ótimas, observadas num doente<br>em remissão da leucemia mieloide crónica, após tratamento com imatinib. .... | 26 |

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 22 - Esquema da estrutura cristalina do domínio ABL1 e dos resíduos de aminoácidos críticos para a aquisição de resistência ao imatinib. ....              | 27 |
| Figura 23 - Esquema da estrutura cristalina do domínio ABL1 e dos resíduos de aminoácidos críticos para a aquisição de resistência ao dasatinib. ....             | 29 |
| Figura 24 - Esquema da estrutura cristalina do domínio ABL1 e dos resíduos de aminoácidos críticos para a aquisição de resistência ao nilotinib. ....             | 30 |
| Figura 25 - Esquema da estrutura cristalina do domínio ABL1 e dos resíduos de aminoácidos críticos para a aquisição de resistência ao bosutinib e ponatinib. .... | 31 |
| Figura 26 - Opções de tratamento para doentes com leucemia mieloide crónica, diagnosticados na fase crónica. ....                                                 | 32 |
| Figura 27 - Achados hematológicos de doentes com leucemia mieloide crónica na fase acelerada. ....                                                                | 40 |
| Figura 28 - Esfregaços de sangue periférico de doentes com leucemia mieloide crónica na fase blástica. ....                                                       | 41 |
| Figura 29 - Esfregaço de medula óssea de doentes com leucemia mieloide crónica na fase blástica. ....                                                             | 41 |
| Figura 30 - Gráfico de dispersão leucocitária, obtido no canal DIFF. ....                                                                                         | 47 |
| Figura 31 - Gráfico da eletroforese das proteínas séricas do doente. ....                                                                                         | 48 |
| Figura 32 - Esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica. ....                                                                                     | 50 |
| Figura 33 - Diferentes leucócitos maduros observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica. ....                                         | 51 |
| Figura 34 - Diferentes neutrófilos maduros, em banda e metamielócitos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica. ....             | 52 |
| Figura 35 - Gráfico de dispersão obtido no canal DIFF. ....                                                                                                       | 56 |
| Figura 36 - Diferentes leucócitos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica em fase blástica. ....                                | 58 |
| Figura 37 - Diferentes blastos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica em fase blástica. ....                                   | 59 |
| Figura 38 - Diferentes leucócitos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica. ....                                                 | 62 |

## **Índice de tabelas**

|                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Variantes moleculares da proteína BCR-ABL1 e doenças associadas. ....                                                                                   | 7  |
| Tabela 2 - Critérios importantes para o diagnóstico diferencial de leucemia mieloide crónica e reação leucemoide.....                                              | 17 |
| Tabela 3 - Características da leucemia mieloide crónica, policitemia vera, mielofibrose e trombocitemia essencial, importantes para o diagnóstico diferencial..... | 18 |
| Tabela 4 - Inibidores de tirosina cinase utilizados no tratamento da leucemia mieloide crónica. ....                                                               | 22 |
| Tabela 5 - Classificação da resposta ao tratamento de leucemia mieloide crónica...                                                                                 | 25 |
| Tabela 6 - Critérios para a definição de fase acelerada e fase blástica, segundo a Organização Mundial de Saúde e a <i>European Leukaemia Net</i> . ....           | 38 |
| Tabela 7 - Resultados do hemograma e do estudo da coagulação. ....                                                                                                 | 46 |
| Tabela 8 - Resultados da avaliação bioquímica.....                                                                                                                 | 48 |
| Tabela 9 - Resultados da eletroforese de proteínas. ....                                                                                                           | 49 |
| Tabela 10 - Resultados do hemograma e do estudo da coagulação. ....                                                                                                | 55 |
| Tabela 11 - Resultados da avaliação bioquímica atuais, na fase blástica. ....                                                                                      | 56 |
| Tabela 12 - Resultados do mielograma atual, na fase blástica. ....                                                                                                 | 57 |
| Tabela 13 - Resultados do hemograma do doente com leucemia mieloide crónica. .                                                                                     | 61 |

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

## **Lista de abreviaturas e símbolos**

↑ - Aumento

↓ - Diminuição

**ABL1** - *Abelson murine leukaemia viral oncogene homolog 1*

**ABL2** - *Abelson murine leukaemia viral oncogene homolog 2*

**ALP** - Fosfatase alcalina

**ALT** - Alanina aminotransferase

**aPTT** - Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

**AST** - Aspartato aminotransferase

**ATP** - Adenosina trifosfato

**BCR** - *Breakpoint cluster regions*

**CALR** - *Calreticulina*

**CCR** - Resposta citogenética completa

**c-FMS** - *Colony-stimulating factor-1*

**CHR** - Resposta hematológica completa

**c-KIT** - *Mast/stem cell growth factor receptor*

**CLP** - Célula progenitora linfóide

**CMP** - Célula progenitora mieloide

**CMR** - Resposta molecular completa

**CTFF** - Capacidade total de fixação do ferro

**DEVH** - Doença do enxerto-versus-hospedeiro

**DNA** - Ácido desoxirribonucleico

**ELN** - *European Leukaemia Net*

**EUTOS** - *European Treatment and Outcome Study*

**FDA** - *Food and Drug Administration (EUA)*

**FISH** - Hibridação fluorescente *in situ*

**FSC** - Dispersão frontal

**G-CSF** - Fator estimulador de colónias de granulócitos

**GGT** - Gama-glutamil transferase

**GM-CSF** - Fator estimulador de colónias de granulócitos e monócitos

**GMP** - Progenitor de granulócitos e macrófagos

**Hb** - Concentração de Hemoglobina

**HSC** - Stem cell hematopoiética

**IFN- $\alpha$**  - Interferão-alfa

**INR** - *International Normalized Ratio*

**IPO** - Instituto Português de Oncologia do Porto

**IRIS** - *International Randomized Study of Interferon versus ST1571*

**JAK/STAT** - *Janus kinase-signal transducer and activator of transcription*

**JAK2** - *Janus kinase 2*

**Kb** - Par de bases

**LDH** - Desidrogenase láctica

**LLA** - Leucemia linfóide aguda

**LMA** - Leucemia mieloide aguda

**LMC** - Leucemia Mieloide Crônica

**LMMC** - Leucemia mielomonocítica crônica

**LNC** - Leucemia neutrofílica crônica

**M-bcr** - *Major breakpoint cluster region*

**m-bcr** - *Minor breakpoint cluster region*

**MCHC** - Concentração de Hemoglobina globular média

**mCR** - Resposta citogenética minor

**MEP** - Progenitor de eritrócitos e megacariócitos

**MF** - Mielofibrose

**MMR** - Resposta molecular major

**MO** - Medula óssea

**MPL** - Recetor da trombopoietina

**mRNA** - Ácido ribonucleico mensageiro

**NAP** - Fosfatase alcalina dos neutrófilos

**NCCN** - *National Comprehensive Cancer Network*

**NF-KB** - Fator Nuclear-KB

**NK** - Células *Natural Killers*

**OMS** - Organização Mundial de Saúde

**PCR** - Resposta citogenética parcial

**PDGFRB** - *Platelet-derived growth factor receptors*

**Ph** - Cromossoma Filadelfia

**PI3K/AKT** - *Phosphatidylinositol-3 kinase*

**PT** - Tempo de Protrombina

**PV** - Policitemia vera

**qRT-PCR** - Reação de Polimerização em Cadeia transcriptase reversa quantitativo em tempo real

**RAS** - *Rat Sarcoma*

**RDW** - Amplitude de distribuição dos eritrócitos

**SFL** - Fluorescência lateral

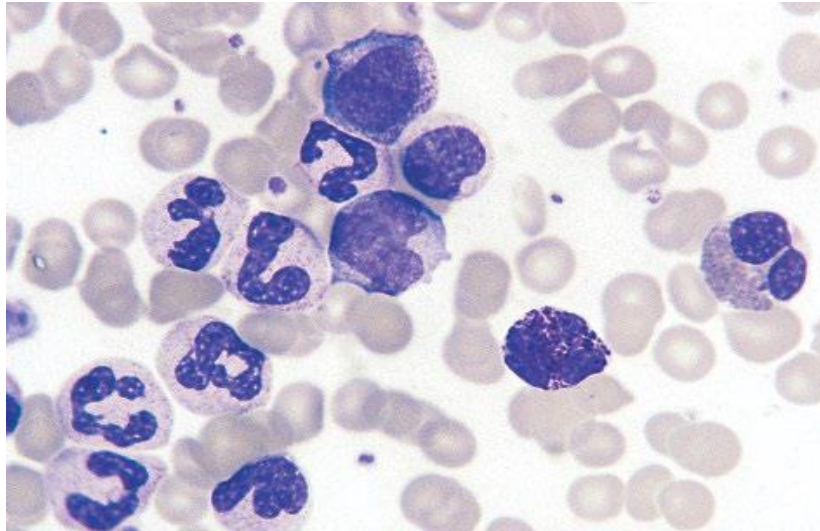
**TE** - Trombocitemia essencial

**TKI** - Inibidor da tirosina cinase

**μ-bcr** - *Micro breakpoint cluster region*

## 1. Introdução

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma doença monoclonal de células hematopoiéticas pluripotentes, que se manifesta com extrema leucocitose, imaturidade granulocítica e basofilia (Figura 1). Anemia e trombocitose são também frequentes (1).



*Figura 1 - Esfregaço sanguíneo de um doente com leucemia mieloide crônica.*

*Ampliação: 1000x.*

*Figura adaptada de Bain, B. J. (2).*

Em mais de 95% dos casos as células hematopoiéticas apresentam uma translocação recíproca entre o cromossoma 9 e 22, o que leva a um encurtamento do braço longo de um dos cromossomas 22 (22q-), denominado Cromossoma Filadélfia (Ph).

Em 1845 foram descritos, por Bennett e por Virchow, casos de cadáveres que apresentavam esplenomegalia, anemia severa e leucocitose. Foram reportados posteriormente mais casos, mas foi apenas em 1847 que Virchow introduziu, pela primeira vez, a designação de leucemia.

Em 1878, Neumann propôs que a medula não só era o local de produção das células sanguíneas, mas também o local onde se originava a leucemia. Em 1960, Nowel e Hungerford publicaram o caso de dois doentes com esta patologia, que aparentemente apresentavam uma perda do braço longo do cromossoma 22.

Em 1973, Rowley mostrou que a aparente perda de material genético no cromossoma 22 se tratava de uma translocação recíproca entre o cromossoma 9 e 22 (Figura 2) (1, 3-5).

## Leucemia mieloide crónica

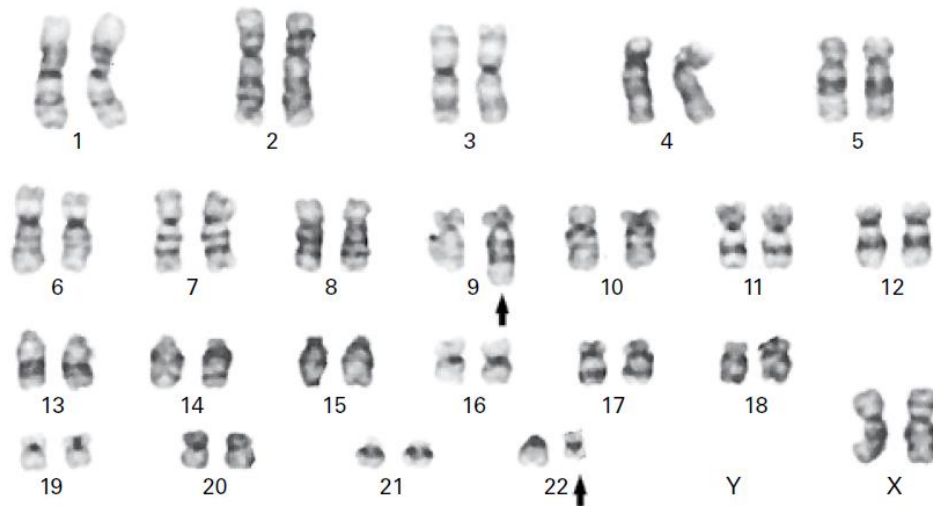


Figura 2 - Cariótipo de um doente, do género feminino, com leucemia mieloide crónica.

Figura adaptada de Bain, B. J. (2).

Como resultado da translocação, dá-se a fusão do gene *ABL1*, do cromossoma 9, com o segmento *BCR*, no cromossoma 22. Estudos moleculares esclareceram que este gene de fusão codifica para a síntese de uma tirosina cinase ativa (BCR-ABL1), que é responsável pelas transformações malignas observadas nesta leucemia (1).

A LMC é diagnosticada, habitualmente, na fase crónica, em que apresenta uma elevada atividade de proliferação mieloide. Não sendo tratada, pode progredir para a fase acelerada em que a mielopoiese é cada vez menos eficaz, culminando com a evolução para a fase blástica (1, 3-5).

## 2. Epidemiologia

A incidência da LMC em países desenvolvidos manteve-se constante durante a última década, tendo um valor de 1,6:100000/ano, com um predomínio ligeiro no género masculino (razão homem/mulheres de 1,4:1) (Figura 3) (2).

## Leucemia mieloide crónica

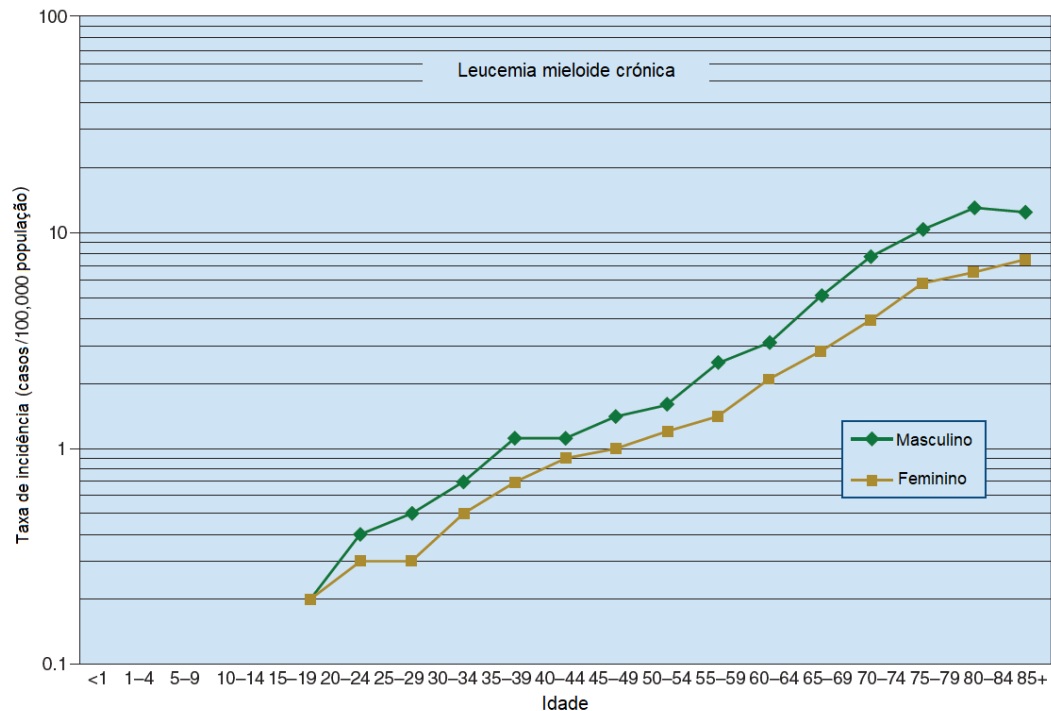


Figura 3 - Incidência da leucemia mieloide crónica segundo a idade e género.

Figura adaptada de Liesveld, J. L., et al. (1).

Na Figura 3 é possível verificar um aumento exponencial da incidência de LMC desde a adolescência até à velhice. É uma doença mais frequente no adulto, sendo frequentemente diagnosticada em indivíduos de 50-60 anos; nos países em desenvolvimento, é mais comum o diagnóstico em indivíduos de 30-40 anos.

A LMC representa cerca de 15% de todas as leucemias e 20% de todos os casos de leucemia em adultos nas sociedades Ocidentais (1, 3, 5-7).

Existem também casos reportados de LMC em crianças, mas é uma condição muito rara, representando 2-3% das leucemias observadas em crianças e tem uma incidência de 0,6-1,2:100000 crianças/ano (8).

### 3. Etiologia

A LMC resulta da transformação maligna de uma célula da linha germinativa hematopoética, das *stem cells* mieloides, o que é evidenciado por i) alterações na eritropoiese, granulocitopoiese, monocitopoiese e trombocitopoiese na fase crónica da LMC; ii) presença do cromossoma Filadélfia nos eritroblastos, granulócitos, macrófagos e megacariócitos; iii) variação no *breakpoint* do cromossoma 22, entre diferentes doentes

## Leucemia mieloide crónica

com LMC, contudo, no mesmo doente, verifica-se o mesmo *breakpoint* em todas as células (Figura 4) (1).

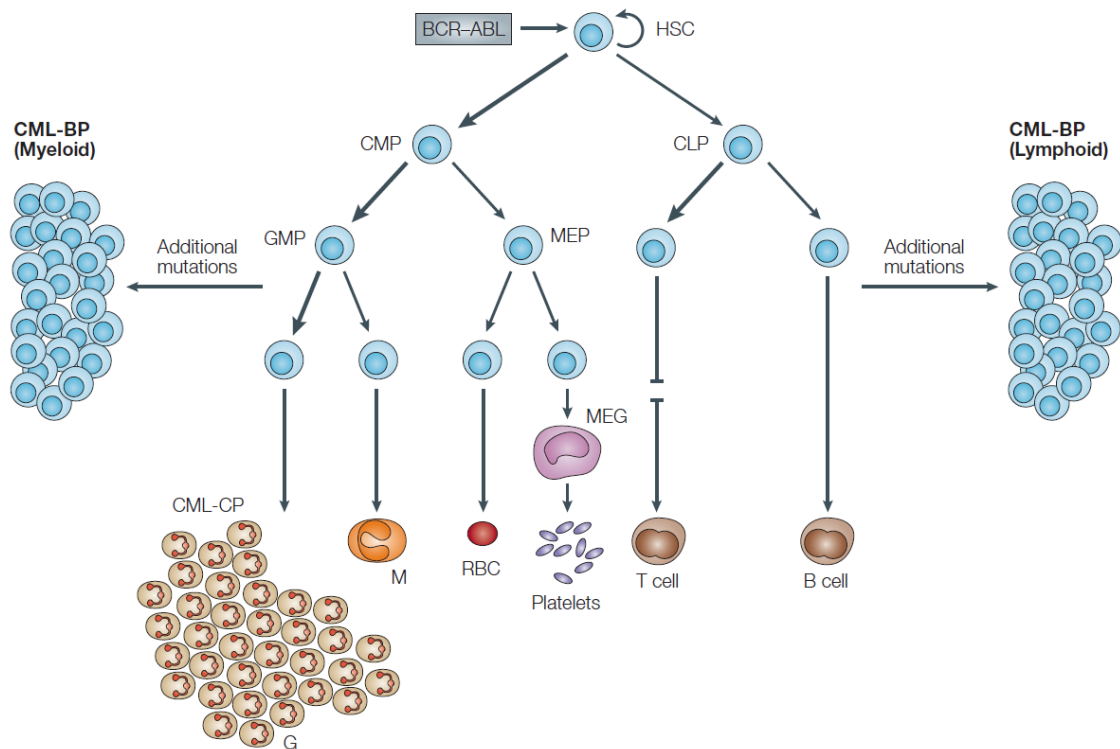


Figura 4 - Desenvolvimento da leucemia mieloide crónica (LMC). A LMC tem início numa stem cell hematopoética (HSC), onde se dá a translocação (9;22) e formação do gene BCR-ABL1. Estas células têm o poder de se autorrenovarem e de se dividirem e diferenciarem em diferentes tipos de células, como na célula progenitora mieloide (CMP), que se diferencia no progenitor de granulócitos e macrófagos (GMP; progenitor dos granulócitos (G) e dos monócitos (M)) e no progenitor de eritrócitos e megacariócitos (MEP; progenitor dos eritrócitos (RBC) e dos megacariócitos (MEG), produtor de plaquetas). As HSC ainda se podem diferenciar na célula progenitora linfóide (CLP), que se diferencia em linfócitos B e linfócitos T. Durante a fase crónica da LMC (CML-CP), verifica-se uma extrema granulocitose. Com a aquisição de novas mutações, a LMC pode agravar-se, progredindo para a fase blástica (CML-BP), podendo ser de origem mieloide (em, aproximadamente, dois terços dos casos) ou de origem linfóide (cerca de um terço dos casos).

Figura adaptada de Ren., R. (9).

Esta stem cell apresenta alterações moleculares no cromossoma 22 (rearranjo no gene BCR) com posterior fusão da sua extremidade 5' com a extremidade 3' do gene ABL1 do cromossoma 9 (10). Esta fusão leva à formação do gene quimérico BCR-ABL1 que determina o início da fase crónica da LMC (11, 12).

Nos casos em que não é possível detetar o cromossoma Ph, o oncogene pode estar localizado no cromossoma 9, a que se dá o nome de “cromossoma Filadélfia mascarado” (13).

A aquisição de outras alterações genéticas pode resultar no agravamento da doença, com progressão para a fase acelerada e/ou para transformação blástica (14).

A exposição a elevadas doses de radiação ionizante aumenta o risco de desenvolver LMC.

Compostos químicos, como o benzeno e agentes alquilantes, com reconhecida ação genotóxica, não são causadores de LMC, possivelmente pela sua incapacidade de induzir translocações específicas de cromossomas (1, 3).

### 3.1 Cromossoma Filadélfia

O cromossoma Filadélfia é resultado da translocação de material genético entre o cromossoma 9 e o cromossoma 22, com quebras na posição 34 e na posição 11, respetivamente ( $t(9;22)(q34;q11)$ ; Figura 5).

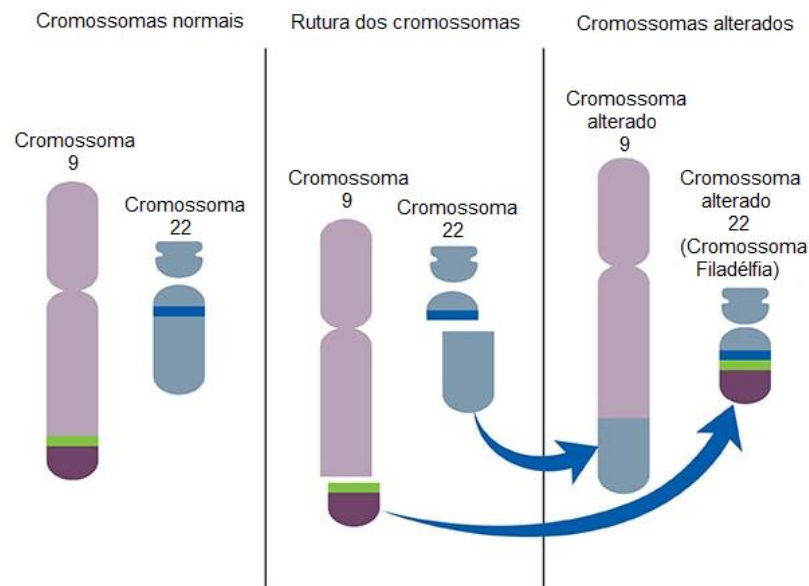


Figura 5 - Esquema da alteração cromossômica que ocorre nos doentes com leucemia mieloide crónica. A  $t(9;22)$  promove a justaposição dos genes do cromossoma 9 e 22, formando o cromossoma Filadélfia.

Figura adaptada de Mayo Clinic (15).

A translocação leva à fusão de dois genes, o gene *ABL1*, do cromossoma 9, e o gene *BCR*, do cromossoma 22, resultando no oncogene *BCR-ABL1* (10).

Nas células normais, o gene *ABL1* codifica uma tirosina cinase, que se encontra distribuída pelo núcleo e citoplasma da célula e é responsável por traduzir sinais, para regular a estrutura do citoesqueleto (9). O gene *BCR* codifica uma serina-treonina cinase que, quando oligomeriza, tem a capacidade de autofosforilação e de fosforilação de várias proteínas (1). Na LMC, a justaposição dos genes *BCR* e *ABL1* promove a autofosforilação e ativação constitutiva da própria proteína (16).

As quebras nos genes *BCR* e *ABL1* ocorrem nos intrões (Figura 6) (3).

## Leucemia mieloide crónica

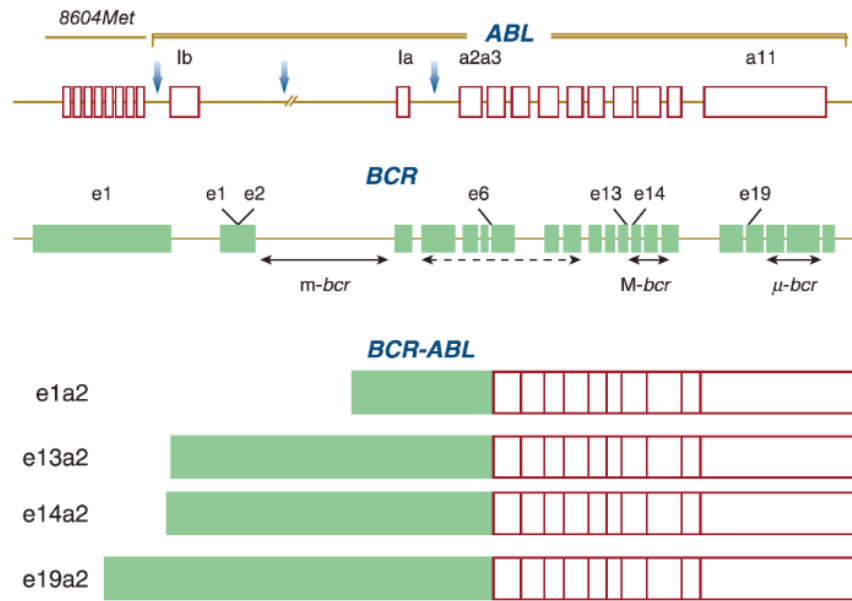


Figura 6 - Representação esquemática dos genes *BCR* e *ABL1*. Os exões encontram-se numerados. Estão representados os três principais breakpoint cluster regions e as zonas de rutura no gene *ABL1* (setas). Na parte inferior estão representados os diferentes transcritos do gene de fusão *BCR-ABL1*.

Figura adaptada de Liesveld, J. L. et al. (1).

O gene *ABL1* pode sofrer rutura em diferentes pontos, que podem variar de 15 a mais de 40 kb a montante do primeiro exão - antes do exão lb, após o exão la ou entre os dois (mais frequente) (1).

Relativamente ao gene *BCR*, as quebras localizam-se em 3 regiões distintas - *breakpoint cluster regions* (bcr) (Tabela 1). Na maioria dos doentes com LMC, a rutura dá-se na região *major breakpoint cluster region* (M-bcr), que abrange os exões 12-16 e que leva à formação dos transcritos de mRNA e14a2 ou e13a2 e que codifica uma proteína com 210 kDa (p210<sup>BCR-ABL1</sup>). Em alguns casos de LMC (raros), a quebra dá-se entre os exões e2' e e2, denominado *minor breakpoint cluster region* (m-bcr), que leva à produção do transcrito e1a2 e que codifica uma proteína com 190 kDa (p190<sup>BCR-ABL1</sup>), associada, normalmente, a leucemia linfóide aguda ou, em alguns casos, a LMC com monocitose, semelhante à leucemia mielomonocítica crónica (LMMC). A rutura também pode ocorrer na região *micro breakpoint cluster region* (μ-bcr), que leva à produção de uma proteína com 230 kDa (p230<sup>BCR-ABL1</sup>), associada a leucemia neutrofílica crónica (LNC) ou a LMC com trombocitose, assemelhando-se à trombocitemia essencial (TE) (1, 5, 17).

Tabela 1 - Variantes moleculares da proteína BCR-ABL1 e doenças associadas.

| Proteína                 | Breakpoint | Doença associada                                                                                                             |
|--------------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| p210 <sup>BCR-ABL1</sup> | M-bcr      | Maioria dos casos são LMC<br>Cerca de 1/3 dos casos são LLA Ph-positivas                                                     |
| p190 <sup>BCR-ABL1</sup> | m-bcr      | A minoria dos casos são LMC, normalmente com monocitose<br>Cerca de 2/3 dos casos são LLA Ph-positivas<br>Casos raros de LMA |
| p230 <sup>BCR-ABL1</sup> | μ-bcr      | LNC<br>LMC com trombocitose significativa                                                                                    |

LLA, leucemia linfóide aguda; LMA, leucemia mieloide aguda; LMC, leucemia mieloide crônica; LNC, leucemia neutrofílica crônica; M-bcr, major breakpoint cluster region; m-bcr, minor breakpoint cluster region; Ph, cromossoma Filadélfia; μ-bcr, micro breakpoint cluster region.

Tabela adaptada de Bain, B. J. (2).

A proteína BCR-ABL1, ao contrário do que acontece com a proteína ABL1, localiza-se apenas no citoplasma, o que torna possível a sua interação com várias moléculas, especialmente proteínas envolvidas na sinalização celular (Figura 7) (1). As principais vias afetadas são a via RAS (“*Rat Sarcoma*”), a via PI3K/AKT (“*Phosphatidylinositol-3 kinase*”) e a via JAK/STAT (“*Janus kinase/signal transducer and activator of transcription*”), responsáveis pelo controlo da proliferação celular e apoptose (18). A alteração destas vias leva ao aumento da proliferação das células mielóides, à perda de capacidade de adesão das células na medula óssea e ao aumento do tempo de vida das mesmas (19).

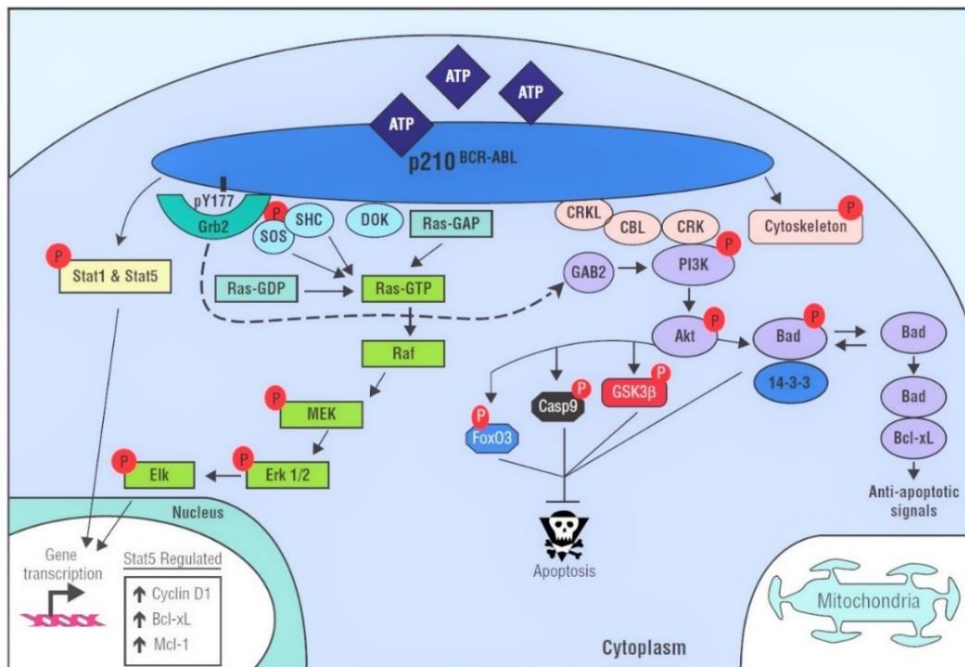


Figura 7 - Esquematização simplificada das diferentes vias de sinalização celular afetadas pela proteína BCR-ABL1. A proteína BCR-ABL1 atua direta ou indiretamente sobre inúmeras proteínas importantes para o normal funcionamento da célula, alterando diferentes vias de sinalização celular. As vias afetadas pela BCR-ABL1 incluem a via RAS/MAP, a via PI3K/AKT e a via JAK/STAT, responsáveis pela proliferação celular e apoptose. A desregulação destas vias leva a alterações no crescimento e sobrevivência das células mielóides.

Figura adaptada de Hazlehurst, L. A. et al. (9).

A via RAS é mediada por recetores de tirosina cinase e é responsável pela proliferação celular, diferenciação celular e pela apoptose, com várias proteínas a regular as diferentes fases do ciclo celular. Encontra-se localizada na superfície interna da membrana, mediando a transmissão dos sinais dos recetores membranares para os fatores de transcrição presentes no núcleo. A ativação constitutiva desta via nas células neoplásicas provoca a desregulação dos fatores de transcrição necessários para o funcionamento normal da célula (20).

Em células neoplásicas, a ativação constitutiva da via PI3K/AKT resulta na inibição da sinalização antiapoptótica (21). A AKT regula os mecanismos antiapoptóticos, atuando em proteínas como a BAD e CASPASE 9 (proteínas pró-apoptóticas). Quando a proteína BAD sofre fosforilação, por ação da AKT, deixa de inibir a BCL2 (proteína antiapoptótica); a ativação constitutiva da BAD anula, portanto, a sua capacidade de induzir apoptose. A ação da AKT sobre a CASPASE 9 também inibe a apoptose, uma vez que esta já não é capaz de induzir a cascata das caspases (22).

A via JAK/STAT é composta pelas STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B e STAT6. Nas células normais, a ativação da JAK2 leva à ativação das proteínas STAT que, quando ativadas, entram no núcleo onde alteram a expressão de genes, atuando, por exemplo, ao nível das proteínas BCL-X<sub>L</sub> e ciclinas D1 e D2 (12). Na LMC, a proteína BCR-ABL parece atuar ao nível da STAT5, determinando a sua ativação constitutiva. Esta ativação provoca um aumento da expressão das proteínas antiapoptóticas, como a BCL2, MCL-1 e BCL-X<sub>L</sub>, e um aumento da expressão da ciclina D1, que tem uma função importante no ciclo celular (na fase G1 e S). Desta forma, a ativação constitutiva do fator STAT5 leva à sobre-expressão do gene *BCR-XL* (1, 23).

A proteína BCR-ABL1 provoca também a ativação do fator de transcrição nuclear “*Nuclear factor*” (NF)-KB, o que também contribui para influenciar a expressão de genes na célula (12).

A elevada atividade mielopoiética induzida pela proteína BCR-ABL1 contribui, ainda, para aumentar a produção de espécies reativas de oxigénio na célula, o que pode alterar o normal funcionamento de várias enzimas. Pode também contribuir para a instabilidade genómica, o que potencia a aquisição de novas alterações genéticas, promovendo a progressão da LMC para fases mais graves da doença (12).

A reparação do DNA nas células dos doentes com LMC é inadequada. Nas células normais, quando ocorrem danos na molécula de DNA, são ativados mecanismos de reparação e/ou de apoptose; as células neoplásicas demoram mais tempo na reparação, mesmo em casos de reparações instáveis, potenciando assim a ocorrência de outras mutações (12).

Parte das células neoplásicas ficam na fase G<sub>0</sub> do ciclo celular, formando uma *pool* resistente ao tratamento e, desta forma, se a terapêutica for interrompida, o crescimento do tumor pode ser estimulado (Figura 8) (24).

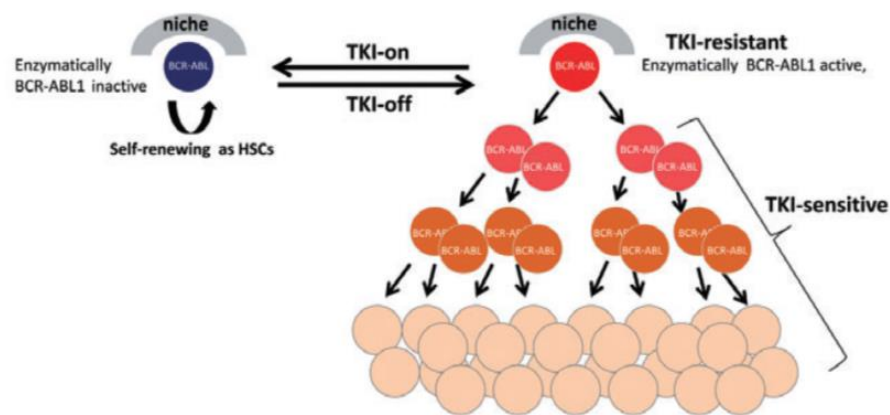


Figura 8 - Pool de stem cells resistente ao tratamento de leucemia mieloide crônica (LMC). A LMC tem origem numa stem cell hematopoiética (HSC) que, graças à translocação (9;22) começa a expressar a proteína BCR-ABL1. A função enzimática da BCR-ABL1 é inativada com o tratamento com inibidores de tirosina cinase (TKI). Contudo, parte das stem cells neoplásicas é resistente aos TKIs e, desta forma, formam uma pool resistente ao tratamento. Caso a terapêutica seja interrompida, o doente pode sofrer uma recaída.

Figura adaptada de Naka, K. et al. (25).

## 4. Achados clínicos e laboratoriais

A maioria dos doentes (cerca de 95%) é diagnosticado com LMC na fase crônica. Este diagnóstico é muitas vezes acidental, dado que a maioria dos doentes é assintomática nesta fase da doença (3).

Quando os doentes são sintomáticos, as queixas mais frequentes são fadiga, anorexia, desconforto abdominal, perda de peso, saciedade precoce e suores noturnos (associados ao aumento do metabolismo). Estes sintomas não são específicos da LMC e têm um início gradual. Ao exame físico é frequente a deteção de esplenomegalia (Figura 9A), presente em 90% dos doentes (1, 3).

Podem apresentar sintomas menos comuns como suores noturnos, intolerância ao calor (características do aumento do metabolismo), artrite gotosa (Figura 9B; aguda, relacionada com o aumento dos níveis do ácido úrico), priapismo, dores de cabeça e alterações visuais (Figura 9C) e auditivas (relacionados com a leucostase), entre outros (1, 2, 12).

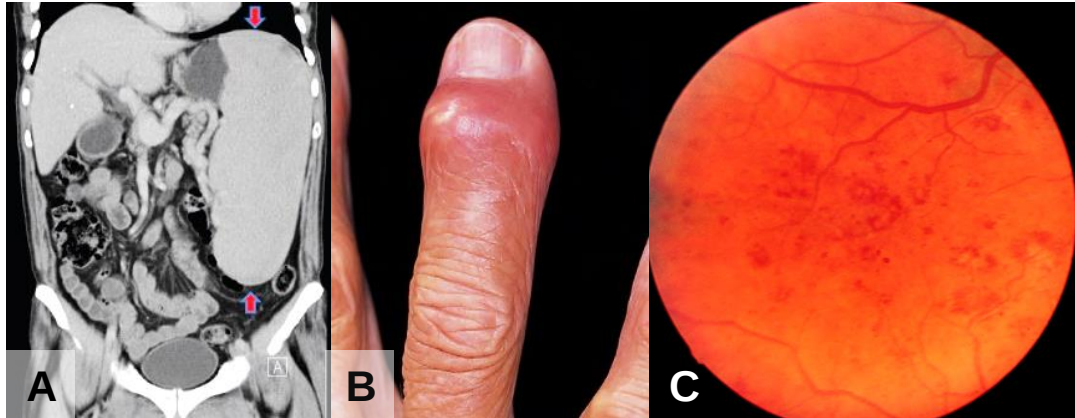


Figura 9 - Diferentes achados clínicos característicos da leucemia mieloide crónica (LMC). (A) Esplenomegalia de um doente com LMC (setas vermelhas). (B) Doente com LMC, apresentando artrite, devido à deposição de ácido úrico. (C) Fundo ocular de um doente com LMC, apresentando infiltrados leucocitários.

Figura A foi retirada da página <https://oncohemakey.com/the-leukaemias/>, acedida a 26 de junho de 2018, e as figuras B e C foram adaptadas de Hoffbrand, A. V. et al. (26).

#### 4.1 Alterações hematológicas

A suspeita de LMC pode surgir após análise do hemograma. No eritrograma, é frequente observar-se anemia normocrómica normocítica de gravidade variável, podendo observar-se eritroblastos no sangue periférico.

Relativamente ao leucograma, observa-se leucocitose, na maioria das vezes superior a  $25 \times 10^9/l$ , mas estes valores podem aumentar muito em doentes sem tratamento. Observa-se um desvio à esquerda, com precursores mielóides granulocíticos não escalonados segundo a sua maturação (Figura 10) (1, 3).

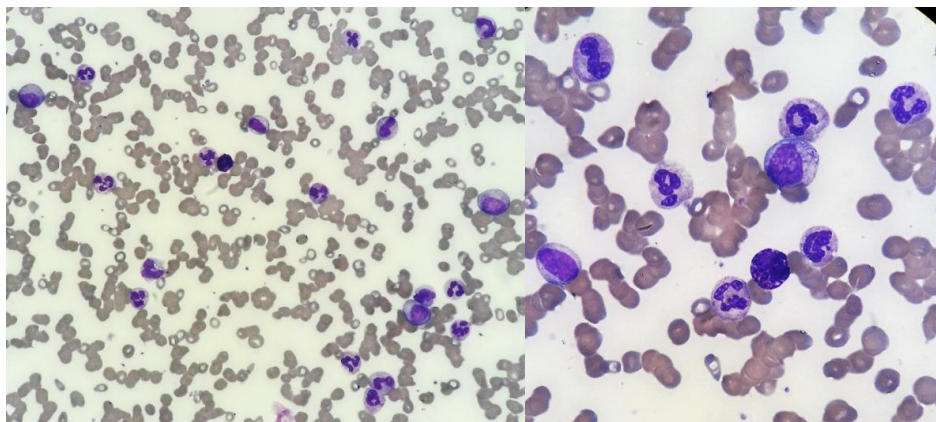
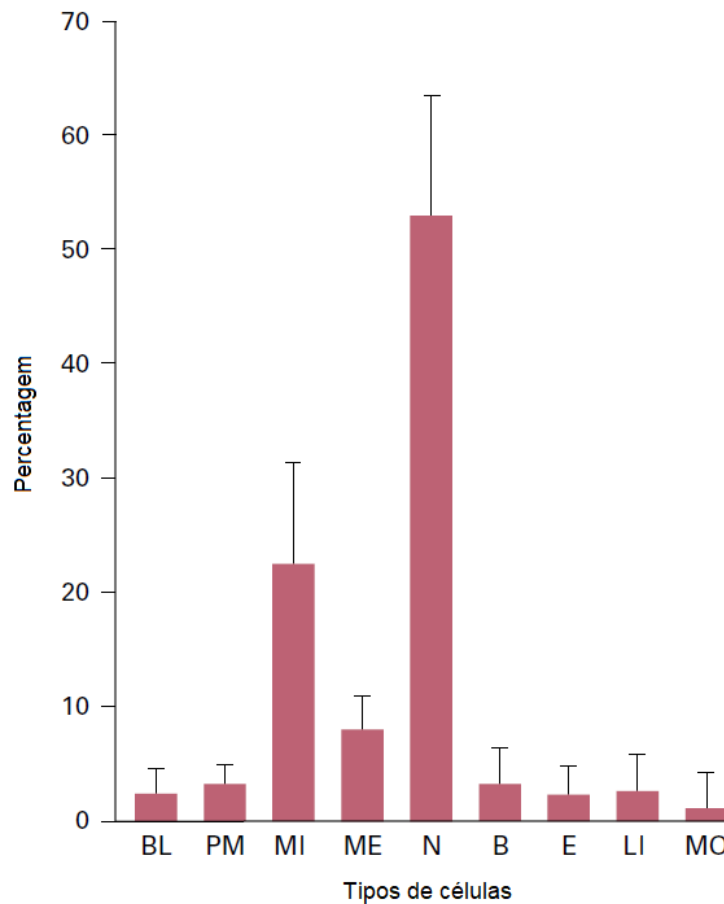


Figura 10 - Esfregaço sanguíneo de um doente com leucemia mieloide crónica. É possível observar leucocitose e imaturidade granulocítica. Imagens facultadas pela Dr.<sup>a</sup> Inês Freitas, do Centro Hospitalar do Porto.

Ampliação: 1000x.

## Leucemia mieloide crônica

É característico da LMC observar-se um hiato leucémico, com percentagens mais elevadas de mielócitos e neutrófilos maduros (Figura 11) (2).



*Figura 11 - Representação gráfica da contagem diferencial, no sangue periférico, na leucemia mieloide crônica (LMC). Foram analisados 50 casos de doentes com LMC, não tratados, todos com presença do cromossoma Ph. Em cada caso foram contadas 1500 células.*

*BL, blastos; PM, promielócitos; MI, mielócitos; ME, metamielócitos; N, neutrófilos; B, basófilos; E, eosinófilos; LI, linfócitos; MO, monócitos.*

*Figura adaptada de Bain, B. J. (2).*

A percentagem dos eosinófilos pode não estar aumentada, contudo os valores absolutos estão. Observa-se basofilia na maior parte dos casos, o que constitui um achado laboratorial importante para o diagnóstico presuntivo (Figura 12). O número absoluto de monócitos normalmente está aumentado, mas a sua percentagem pode não ultrapassar os 3% (2).

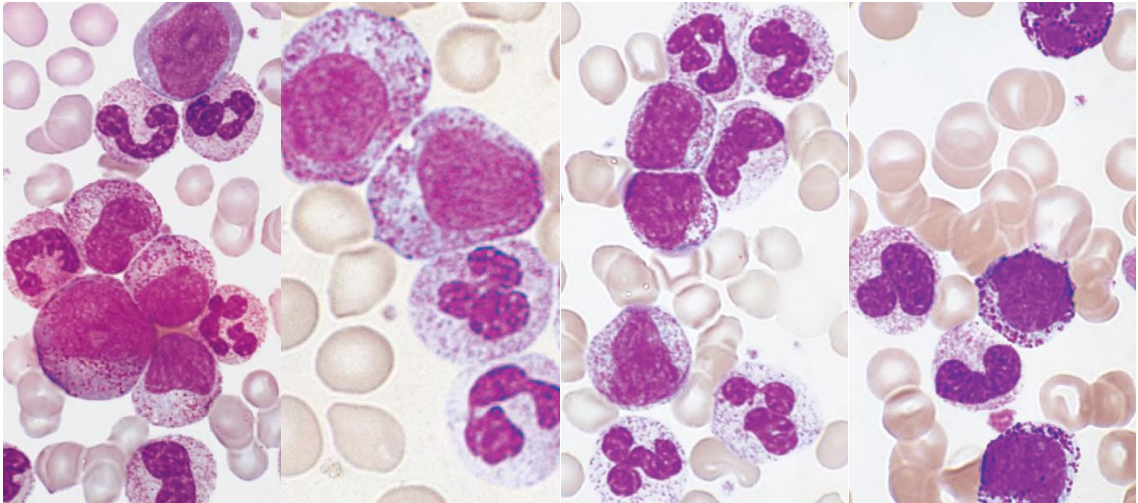


Figura 12 - Esfregaço sanguíneo de um doente com leucemia mieloide crônica. É possível observar leucocitose, basofilia e imaturidade granulocítica.

Ampliação: 1000x.

Figuras adaptadas de Hoffbrand, A. V. et al. (26).

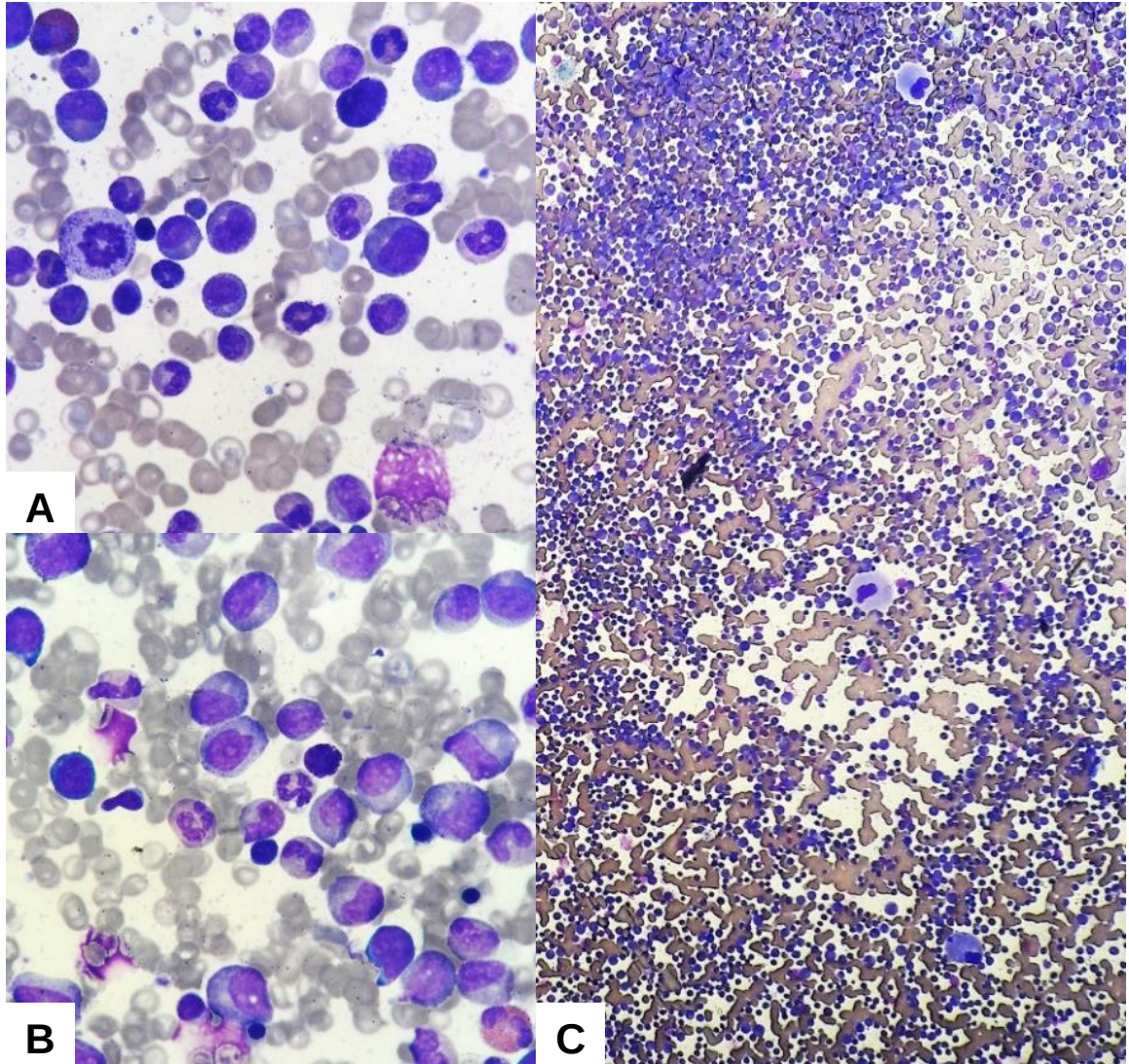
Podem observar-se alterações funcionais nos neutrófilos, nomeadamente na sua capacidade de adesão, migração e fagocitose. Estas alterações são normalmente ligeiras e compensadas pelo grande número de células, não predispondo assim o doente para infeções oportunistas.

Em 95% dos doentes com LMC, a atividade da fosfatase alcalina dos neutrófilos (NAP) encontra-se diminuída ou ausente (2). A atividade da NAP aumenta em situações de inflamação/infeção intensa ou quando os doentes já se encontram em tratamento. É, pois, um achado útil para a diferenciação da LMC e da reação leucemoide, o que será discutido mais à frente (1).

Os valores dos linfócitos estão normalmente aumentados, resultado do aumento dos linfócitos T-*helper* e células T-supressoras. Contudo, os linfócitos B, geralmente, não estão aumentados.

Os valores das plaquetas podem ser normais ou elevados e podem aumentar com o desenrolar da doença (podendo chegar a  $1000 \times 10^9/l$ ) (1).

O estudo da medula óssea revela hiperclularidade mieloide (Figura 13), com tecido hematopoiético a ocupar 75-90% do seu volume. Há predomínio da granulocitopoiese, com maturação normal, podendo apresentar um ligeiro desvio à esquerda (1, 3). A razão mieloide/eritroide está aumentada, variando entre 10:1 e 30:1 (o normal é 2:1 a 4:1). A eritropoiese está diminuída e o número de megacariócitos pode estar normal ou aumentado. Observa-se eosinofilia e/ou basofilia, refletindo-se a sua proporção no sangue periférico. A percentagem de blastos é habitualmente menor que 5% e o número de figuras mitóticas está aumentado (3, 5, 27).



*Figura 13 - Esfregaço de medula óssea de um doente com leucemia mieloide crónica. (A, B e C) É possível observar intensa granulocitopoiese, imaturidade celular e megacariócitos. Imagens facultadas pela Dr.<sup>a</sup> Inês Freitas, do Centro Hospitalar do Porto.*

*Ampliação: (A-B) 1000x; (C) 400x.*

Embora na maioria dos doentes com LMC estejam presentes os achados clínicos comuns, alguns doentes poderão apresentar características que podem dificultar o diagnóstico, como i) leucocitose devida principalmente a neutrófilos segmentados, assemelhando-se à leucemia neutrofílica crónica; ii) trombocitose marcada, acompanhada por leucocitose ligeira, assemelhando-se à trombocitemia essencial; iii) leucocitose com monocitose, sugestivo de leucemia mielomonocítica crónica e iv) ocorrência de fases aceleradas ou blástica, sem história de fase crónica (17). Tudo isto dificulta o diagnóstico entre LMC e os síndromes mieloproliferativos, a leucemia mieloide aguda (LMA) e a leucemia linfóide aguda (LLA), pelo que deverá ser sempre confirmado com a identificação do cromossoma Ph ou de transcritos *BCR-ABL1* (10).

## 4.2 Alterações bioquímicas

Nos doentes com LMC não tratados observa-se hiperuricemia e hiperuricosúria, devido ao aumento do metabolismo nestes doentes. A excreção de ácido úrico nestes doentes é 2-3 vezes maior que o valor normal e pode provocar bloqueio do trato urinário. A formação de cálculos nos rins é comum e, em alguns casos, podem desenvolver artrite gotosa aguda ou nefropatia. As complicações resultantes do excesso de produção de urato podem aumentar devido a períodos de jejum prolongados (*starvation*), a acidose, a doença renal ou a tratamento com fármacos diuréticos.

Dado que os neutrófilos produzem transcobalaminas que se ligam à vitamina B12, as transcobalaminas I e III, estes doentes com granulocitose têm uma capacidade de ligação à vitamina B12 aumentada, o que explica o aumento dos níveis da vitamina B12 sérica para valores 10 vezes superiores ao normal. Os valores normalizam com o tratamento da LMC.

Os doentes com LMC na fase crónica apresentam os níveis circulantes de histamina aumentados (valor médio de 5000 ng/ml nos casos de LMC *versus* 50 ng/ml nos indivíduos saudáveis), o que resulta da basofilia que caracteriza a leucemia. Em caso de basofilia extrema, com aumento significativo de histamina sérica ( $\geq 100$  vezes o valor normal) o doente poderá apresentar prurido intenso (muitas vezes incapacitante), urticária e hiperacidez gástrica.

Nestes doentes é também frequente observar concentrações séricas elevadas de desidrogenase láctica (LDH), estados de hipercalcemia e hipocalémia (durante a fase crónica) e níveis de colesterol sérico diminuídos (1).

## 4.3 Estudo citogenético

Em mais de 90% dos doentes com a sintomatologia e achados clínicos típicos de LMC, tanto as células mieloides da medula óssea como as células nucleadas sanguíneas apresentam o cromossoma Ph. Este cromossoma está, portanto, presente em todas as linhas celulares mieloides (granulócitos, monócitos e megacariócitos) (1).

Cerca de 70% dos doentes na fase crónica de LMC apresentam como alteração genética apenas o cromossoma Ph. Aproximadamente 20% apresentam ainda outras alterações genéticas, como ausência do cromossoma Y, trissomias, normalmente no cromossoma 8, e outras alterações genéticas estáveis (1, 28).

Em 5% dos doentes com LMC ocorrem variações na translocação, a qual envolve normalmente 3 cromossomas (todos exceto o Y). Nestes casos, o cromossoma Ph está presente, mas a troca de material genético dá-se com outro cromossoma que não o 9 ou

envolve troca de material genético entre o cromossoma 9, 22 e outro cromossoma (1). Ainda, 10% dos doentes têm uma deleção no cromossoma 9, adjacente à zona de quebra, que se acredita ser um fator importante na resistência à terapêutica com interferão-alfa (IFN- $\alpha$ ) (29).

As células neoplásicas dos doentes com LMC apresentam telómeros mais curtos do que os das células normais, intensificando a instabilidade genómica nestes doentes. O ritmo de encurtamento do telómero durante a fase crónica encontra-se correlacionado com a progressão da doença (12, 30, 31).

#### 4.4 Estudo molecular

Para a deteção das alterações moleculares causadas pelo cromossoma Ph nas células dos doentes, recorre-se à biologia molecular. O estudo molecular permite a deteção dos rearranjos do gene *BCR*, por técnicas como o *Southern blot*, e de transcritos de mRNA do gene de fusão, através da técnica qRT-PCR (Reação em cadeia de polimerase quantitativa em tempo real), com amplificação do mRNA quimérico, e a deteção de *BCR-ABL1* (1, 3).

A técnica de qRT-PCR é altamente sensível, dado que é capaz de detetar 1 célula positiva em aproximadamente 500000 a mil milhares de células (1). Com esta técnica é possível avaliar o número de células Ph positivas, tanto no sangue periférico como na medula óssea, a partir dos níveis de transcritos de *BCR-ABL1*. Esta avaliação é feita preferencialmente no sangue periférico, por induzir menos desconforto ao doente. Os níveis dos transcritos do gene *BCR-ABL1* são comparados com os valores dos genes controlo (como os genes *BCR* e *ABL1*), analisando ambos na mesma avaliação. Os resultados são depois expressos, em percentagem, como a razão entre os valores dos transcritos do gene *BCR-ABL1* e os transcritos dos genes controlo (3).

Uma outra forma de detetar a fusão dos genes *BCR* e *ABL1* nos doentes com LMC é através da técnica de Hibridação fluorescente *in situ* (FISH) (Figura 14). Esta técnica é simples, precisa e sensível e permite detetar várias fusões, pelo que é útil no diagnóstico (1).

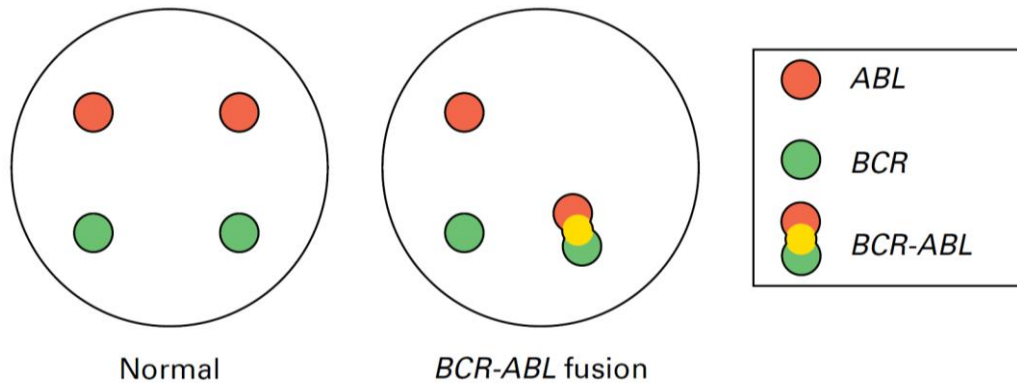


Figura 14 - Representação da hibridação fluorescente *in situ* (FISH). A hibridação de um oligonucleótido complementar aos genes BCR e ABL1 com fluorocromo (neste caso verde e vermelho, respetivamente) permite verificar a sua presença na célula. Numa célula normal, é possível verificar dois sinais verdes e dois sinais vermelhos. Nas células com a t(9;22), é possível verificar a justaposição de 2 sinais, o que resulta num sinal amarelo. Os restantes sinais correspondem aos cromossomas normais, que não sofreram a alteração.

Figura adaptada de Bain, B. J. (Bain 2017).

A avaliação por qRT-PCR é o método de eleição para a monitorização dos doentes, uma vez que há casos em que a avaliação pela técnica de FISH é negativa para o cromossoma Ph, apesar de continuar a haver transcritos (1).

## 5. Diagnóstico diferencial

Há patologias benignas, como a reação leucemoide, normalmente associada a doenças inflamatórias ou a infeção, que apresentam achados clínicos e laboratoriais semelhantes à LMC (Tabela 2).

A reação leucemoide é caracterizada por i) leucocitose, principalmente, devida ao aumento de neutrófilos maduros, apresentando habitualmente desvio à esquerda, com a presença de precursores granulocíticos, escalonados segundo o grau de maturação; ii) apresentar valores de fosfatase alcalina dos neutrófilos (NAP) elevados, uma vez que esta enzima se localiza nos grânulos dos neutrófilos; iii) apresentar granulocitopoiese aumentada, com maturação normal e iv) não apresentar alterações citogenéticas (32).

Tabela 2 - Critérios importantes para o diagnóstico diferencial de leucemia mieloide crónica e reação leucemoide.

| Critério            | LMC                                   | Reação leucemoide                    |
|---------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| Neutrófilos         | Sem escalonamento segundo a maturação | Desvio à esquerda, com escalonamento |
| Eosinófilos         | Aumentados                            | Valores normais                      |
| Basófilos           | Aumentados                            | Valores normais                      |
| Plaquetas           | Aumentados, com formas anormais       | Valores normais                      |
| Anemia              | Frequentemente presente               | Não é comum                          |
| Valor de NAP        | Diminuído                             | Aumentado                            |
| Cromossoma Ph       | Presente                              | Ausente                              |
| Granulações tóxicas | Ausentes                              | Aumentadas                           |
| Corpos de Döhle     | Ausentes                              | Presentes                            |

NAP, fosfatase alcalina dos neutrófilos; LMC, leucemia mieloide crónica.

Tabela adaptada de Finnegan, K. (4).

Nos doentes com reação leucemoide, a contagem neutrofílica pode variar entre 30 a  $100 \times 10^9/l$ . Se o agente indutor não for encontrado, é possível distinguir a reação leucemoide da LMC pela ausência de basofilia ou esplenomegalia, bem como pela ausência do gene *BCR-ABL1*.

Outro aspeto importante é o valor da NAP, avaliado através da realização de uma coloração citoquímica para a fosfatase alcalina, sendo o seu score mais alto na reação leucemoide (Figura 15) (1, 4).

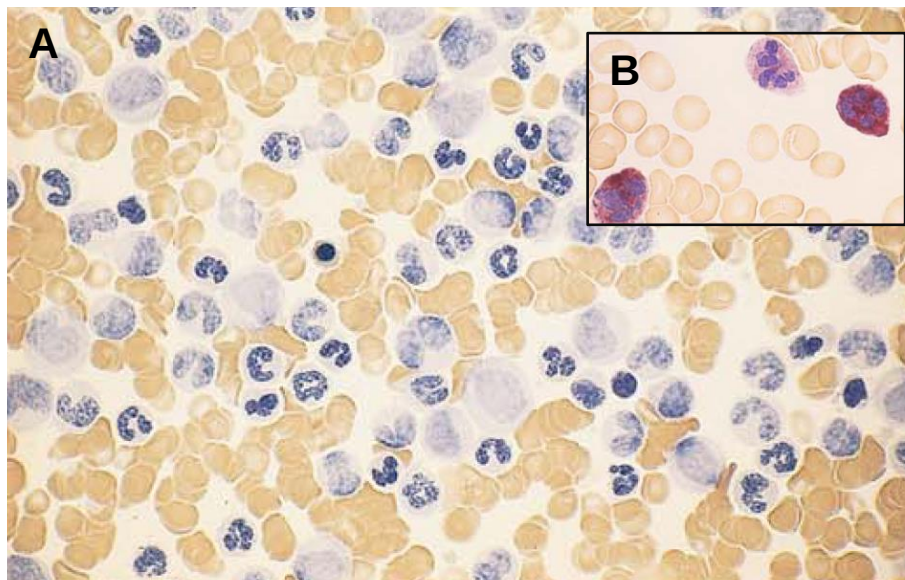


Figura 15 - Esfregaço sanguíneo corado pela fosfatase alcalina neutrofílica (NAP) de um doente com leucemia mieloide crónica não tratada. (A) No caso do doente com leucemia mieloide crónica, é possível observar que as células têm um score negativo para NAP. (B) Score positivo para a NAP.

Ampliação: 1000x.

Figura adaptada de Löffler, H. et al. (33, 34).

Durante vários anos a LMC foi classificada como um síndrome mieloproliferativo. Estes síndromes são definidos, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como alterações das *stem cells* hematopoiéticas, com proliferação anormal de uma ou mais linhas celulares (35). Estes síndromes incluem a policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE) e mielofibrose (MF), que apresentam alguns achados clínicos e laboratoriais semelhantes à LMC (Tabela 3), sendo, por isso, importante fazer o diagnóstico diferencial (4).

*Tabela 3 - Características da leucemia mieloide crônica, policitemia vera, mielofibrose e trombocitemia essencial, importantes para o diagnóstico diferencial.*

| Patologia  | Achados hematológicos                                                                                                                                                                                                                                        | Fibrose medular | Cromossoma Ph | Órgãos afetados      |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|----------------------|
| <b>LMC</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Leucocitose no SP (<math>12-1000 \times 10^9/l</math>)</li> <li>▪ Linha granulocítica alterada, com precursores mieloides não escalonados segundo a maturação</li> <li>▪ Trombocitose ou trombocitopenia</li> </ul> | Variável        | Presente      | Hepatoesplenomegalia |
| <b>PV</b>  | Hb > 18,5 g/dl (homem); > 16,5 g/dl (mulher)                                                                                                                                                                                                                 | -               | Ausente       | Hepatoesplenomegalia |
| <b>MF</b>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Anemia</li> <li>▪ Leucoeritroblastose</li> </ul>                                                                                                                                                                    | Aumentada       | Ausente       | Hepatoesplenomegalia |
| <b>TE</b>  | Trombocitose ( $\geq 450 \times 10^9/l$ )                                                                                                                                                                                                                    | -               | Ausente       | Hepatoesplenomegalia |

*Hb, hemoglobina; LMC, leucemia mieloide crônica; MF, mielofibrose; Ph, cromossoma Filadélfia; PV, policitemia vera; SP, sangue periférico; TE, trombocitemia essencial.*

*Tabela adaptada de Finnegan, K. (4) e de Azzato, E. M. et al. (35).*

Na LMC, mais de 90% dos doentes apresentam um valor de leucócitos superior a  $30 \times 10^9/l$ , com tendência para aumentar; também em mais dos 90% de doentes com PV/TE, o valor de leucócitos é superior a  $30 \times 10^9/l$ , sem variações significativas ao longo do tempo (1, 4).

Nos síndromes mieloproliferativos (TE e PV), tal como na LMC, é comum a esplenomegalia, hepatomegalia, leucocitose e trombocitose. Estas diferentes patologias podem interconverter-se (Figura 16), evoluindo, muitas vezes, para leucemia mieloide aguda (LMA) (1, 4).

## Leucemia mieloide crónica

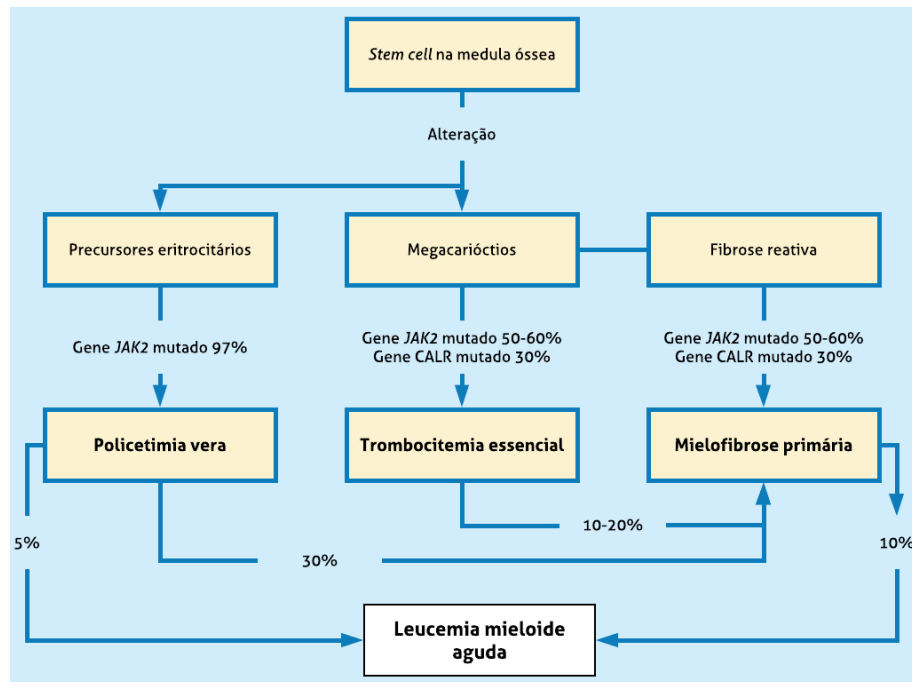


Figura 16 - Representação da evolução e interconversão dos síndromes mieloproliferativas.

Figura adaptada de Hoffbrand, A. V. et al. (6).

Na PV observa-se eritrocitose com aumento da concentração da hemoglobina, podendo os doentes apresentar sintomas de pletora, o que não se observa nos doentes com LMC.

Os doentes com TE têm valores de plaquetas superior a  $450 \times 10^9/l$  e podem apresentar ligeira neutrofilia, o que a diferencia da LMC, em que os doentes apresentam intensa neutrofilia, mesmo com contagens de plaquetas semelhantes. Ainda, doentes com PV ou MF num estadio inicial, não apresentam o cromossoma Ph, exceto em casos extremamente raros (1, 4).

A principal característica, que permite distinguir estas patologias da LMC é a presença de mutação no gene *JAK2* (*Janus-associated kinase 2*), no gene *CALR* (*Calreticulina*) e no gene *MPL* (Recetor da trombopoietina) (Figura 16 e Figura 17).

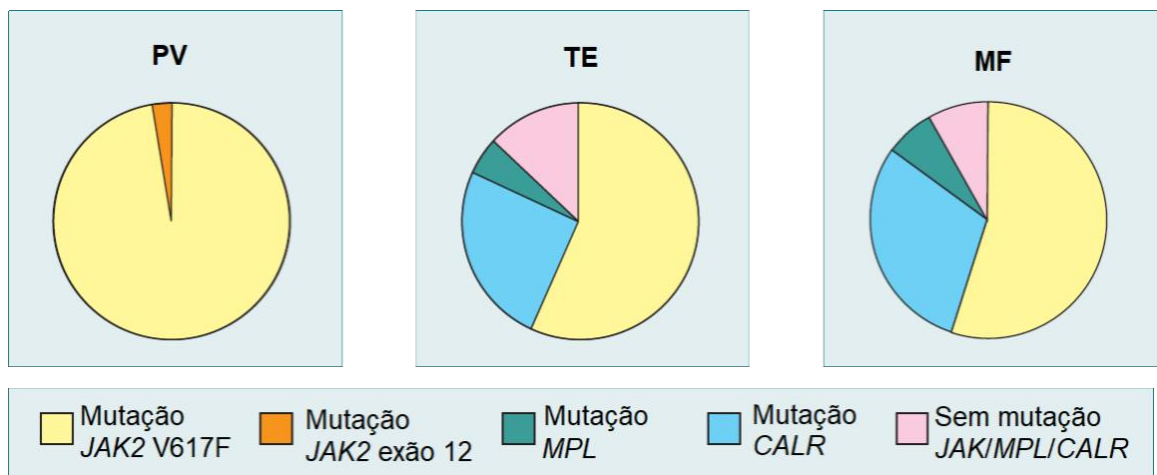


Figura 17 - Mutações genéticas mais frequentes nos Síndromes mieloproliferativas e respectivas percentagens. Cerca de 95% dos casos de doentes com Policitemia vera apresentam a mutação no gene JAK2, podendo também estar presente em cerca de 50-60% dos doentes com Trombocitemia essencial (TE) e Mielofibrose primária (MF). Ainda, cerca de 30% dos doentes com TE/MF apresentam uma mutação no gene CALR e cerca de 5-10% apresentam mutação no gene MPL.

Figura adaptada de Hoffbrand, A. V. et al. (6).

Existem casos de doentes com sintomatologia de TE que apresentam o cromossoma Ph. Trata-se de doentes com LMC com uma fase inicial atípica, que mimetiza as características clássicas de TE (trombocitose, hiperplasia megacariocítica, leucocitose ligeira ou normal, com ou sem ligeira imaturidade granulocítica e anemia ligeira) (1).

Existem ainda variantes da LMC, como a leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), a leucemia neutrofílica crónica (LNC), leucemia basofílica e leucemias mieloides atípicas (mais frequente em idosos). Estas não devem ser diagnosticadas como LMC com ausência do cromossoma Ph, a não ser que os doentes apresentem características clássicas da LMC ou um cromossoma Ph mascarado (1).

## 6. Tratamento

### 6.1 Terapia com Inibidores de tirosina cinase

O objetivo do tratamento da LMC é diminuir o número das células malignas que apresentam a translocação t(9;22), com restauração da hematopoiese normal.

A terapêutica de 1ª linha inclui os inibidores de tirosina cinase (*tyrosine kinase inhibitor*, TKI). O mesilato de imatinib (imatinib) (Figura 18) foi o primeiro TKI a ser desenvolvido e foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento inicial da LMC,

em 2002. A sua introdução permitiu que uma doença que antes era fatal, se tornasse, para muitos, uma doença crônica com um tempo de esperança de vida longo.

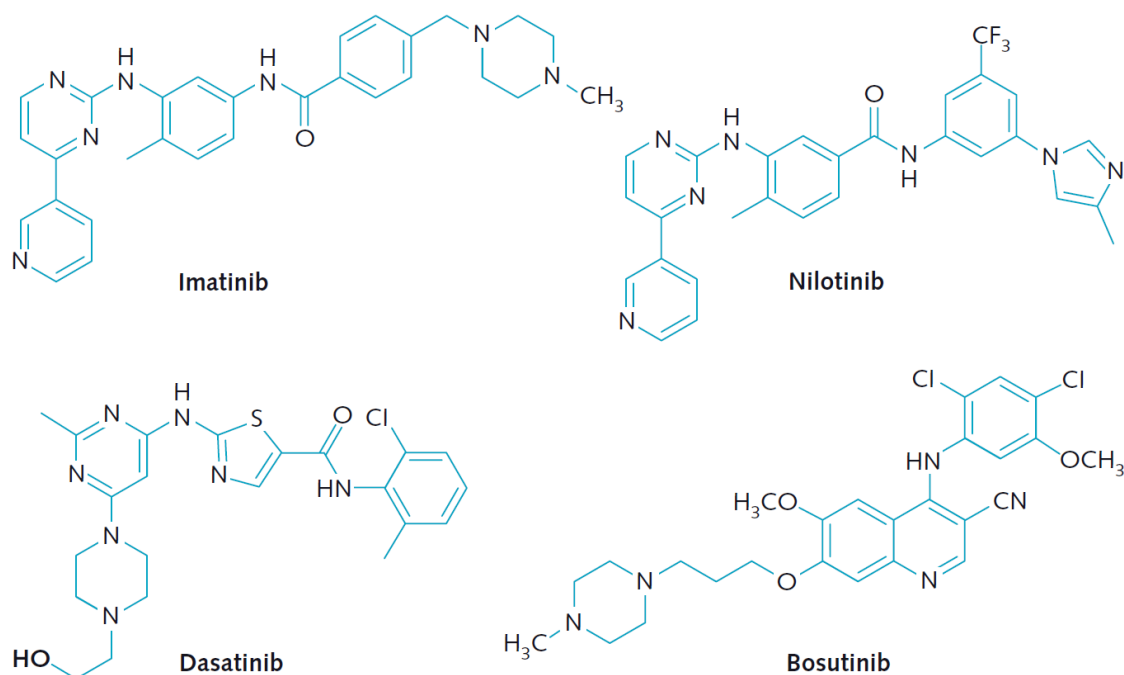


Figura 18 - Estruturas químicas de diferentes inibidores de tirosina cinase utilizados no tratamento da leucemia mieloide crônica.

Figura adaptada de Quintás-Cardama, A., et al. (5).

Os TKIs têm como mecanismo de ação a ligação à proteína BCR-ABL1, no local de ligação ao ATP, prevenindo as alterações conformacionais necessárias para a ativação da proteína cinase (Figura 19) (1, 3, 5).

## Leucemia mieloide crônica

Tabela 4 - Inibidores de tirosina cinase utilizados no tratamento da leucemia mieloide crônica.

|                             | <b>Imatinib</b>                                                                                                                                                          | <b>Nilotinib</b>                                                                                                                               | <b>Dasatinib</b>                                                                                                                                                                                                       | <b>Bosutinib</b>                                                                                                       | <b>Ponatinib</b>                                                                                                                                                                                       |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Ação</b>                 | Primeiro TKI a ser desenvolvido especificamente para inibir a proteína BCR-ABL1, competindo com o ATP para o local de ligação.                                           | TKI de segunda geração, com uma afinidade aumentada para a BCR-ABL1. Obtém-se resposta molecular mais rapidamente que com imatinib.            | Inibe a família de cinases BCR-ABL1 e SCR, que participam no desenvolvimento da LMC.                                                                                                                                   | TKI de terceira geração.                                                                                               | TKI <i>multi-targeted</i> .                                                                                                                                                                            |
| <b>Efeitos secundários</b>  | <i>Rash</i> , náusea, mielossupressão, retenção de líquidos, caibras musculares, perturbações gastrointestinais, hipofosfatemia, perturbações hepáticas, edema.          | Mielossupressão, dores de cabeça, náusea, perturbações gastrointestinais, hiperglicemia, perturbações hepáticas.                               | Dores de cabeça, tosse, efusão pleural, perturbações gastrointestinais.                                                                                                                                                | Diarreia, náusea, trombocitopenia, <i>rash</i> , perturbações gastrointestinais, fadiga, perturbações hepáticas.       | Trombocitopenia, <i>rash</i> , pele seca, trombose arterial, aumento da pressão sanguínea, fadiga.                                                                                                     |
| <b>Indicações</b>           | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Primeira linha de terapia (CP, AP e BP).</li> <li>▪ Ocasionalmente em casos de resistência/intolerância a outro TKI.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Primeira linha de terapia (CP).</li> <li>▪ Resistência/intolerância a outro TKI (CP e AP).</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Primeira linha de terapia (CP).</li> <li>▪ Resistência/intolerância a outro TKI (CP, AP e BP).</li> <li>▪ LLA Ph +, com resistência/intolerância a terapia prévia.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Resistência/intolerância a um TKI de primeira linha (CP, AP e BP).</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Resistência/intolerância a um TKI de primeira linha.</li> <li>▪ Mutação T315I.</li> <li>▪ LLA Ph +, com resistência/intolerância a terapia prévia.</li> </ul> |
| <b>Dose diária</b>          | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ CP 400 mg.</li> <li>▪ AP/BP 600-800 mg.</li> </ul>                                                                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ CP 300 mg (duas vezes ao dia).</li> <li>▪ AP/BP 400 mg (duas vezes ao dia).</li> </ul>                | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ CP 100 mg.</li> <li>▪ AP/BP 140 mg.</li> </ul>                                                                                                                                | 500 mg.                                                                                                                | 45 mg.                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Outras considerações</b> | Aprovado para uso pediátrico.                                                                                                                                            |                                                                                                                                                | Consegue ultrapassar a barreira hematoencefálica.                                                                                                                                                                      |                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                        |

AP, fase acelerada; BP, fase blástica; CP, fase crônica; LLA, leucemia linfóide aguda; LMC, leucemia mieloide crônica; Ph, cromossoma Filadélfia; TKI, inibidores de tirosina cinase.

Tabela adaptada de Hoffbrand, A. V. et al. (6) e de Liesveld, J. L. et al. (1).

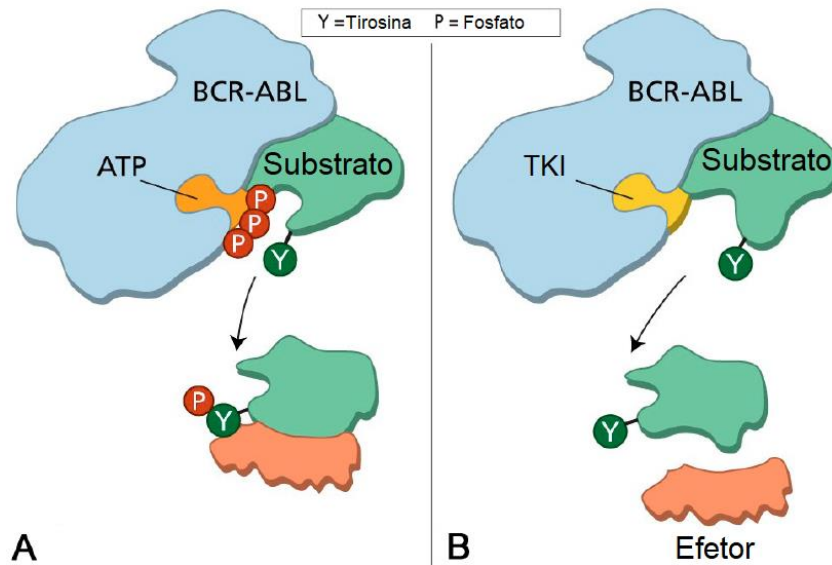


Figura 19 - Mecanismo de ação dos inibidores de tirosina cinase (TKI). A tirosina cinase BCR-ABL1 necessita de se ligar a uma molécula de ATP para o seu funcionamento. O TKI ao ligar-se à BCR-ABL1 impede a ligação do ATP.

Figura adaptada de Mughal, T. et al. (36).

Posteriormente, surgiram dois TKIs de segunda geração, o nilotinib e o dasatinib (Figura 18), tendo sido aprovado o seu uso na fase inicial do tratamento de LMC, em 2010. Atualmente encontram-se em estudo TKIs de terceira geração, como o bosutinib e o ponatinib (Figura 18) (1, 3).

### 6.1.1 Prognóstico e monitorização

Para a escolha do tratamento e avaliação do prognóstico dos doentes com LMC é preciso ter em conta que as diferentes fases da leucemia prevêm tempos médios de vida diferentes e que, dentro da mesma fase, os doentes podem apresentar prognósticos diferentes (5).

Foram propostos, ao longo do tempo, vários modelos para avaliar o prognóstico do doente quando é diagnosticado com LMC. O *Sokal Score*, criado em 1984, tinha em conta a idade do doente, o volume do baço, o número de plaquetas e a percentagem de blastos (37). Os doentes com um score inferior a 0,8 apresentavam baixo risco de progressão da doença e um período médio de vida de 4,5 anos; os doentes com um valor entre 0,8 e 1,2 tinham um risco intermédio e um período médio de vida de 3,5 anos; aqueles com um score superior a 1,2 tinham um risco elevado de progressão da doença e um período médio de vida de 2,5 anos (38, 39).

Em 1988, foi desenvolvida uma outra metodologia que visava avaliar o prognóstico de doentes com LMC tratados com IFN- $\alpha$ , o *Hasford score* (ou *Euro score*). Este entra em

linha de conta com a idade dos doentes, o número de plaquetas, a percentagem de blastos no sangue periférico, o volume do baço, a contagem dos basófilos e eosinófilos (40). Os doentes com um *score*  $\leq 780$  apresentam baixo risco de progressão da doença; entre 780 e  $\leq 1480$  têm um risco intermédio; e aqueles com valor superior a 1480 têm um risco elevado de progressão (38).

O *European Bone Marrow Transplantation Consortium Risk Score* é avaliado em doentes submetidos a transplante de *stem cells*. Tem em conta a *performance status*, a idade, o volume do baço, as contagens periféricas de blastos no sangue, de basófilos, de eosinófilos e de plaquetas (41, 42).

A terapêutica com TKIs melhorou bastante o prognóstico dos doentes com LMC, que têm agora um tempo médio de vida, na fase crónica, de 25 a 30 anos (1).

O *European Treatment and Outcome Study* (EUTOS) *score*, proposto em 2011, tem em conta o número de basófilos e o tamanho do baço e avalia o prognóstico de doentes tratados com imatinib (43). Os doentes com um *score*  $\leq 87$  apresentam baixo risco de progressão da doença, enquanto aqueles que têm um valor superior a 87 têm um risco elevado (38).

Com a introdução dos TKIs estes modelos perderam algum impacto no diagnóstico, contudo, ainda continuam a ser utilizados e podem ser calculados eletronicamente, no seguinte website: <http://bloodref.com/myeloid/cml/sokal-hasford>, sendo apenas necessário colocar as variáveis de cada doente (1).

O tratamento deve ser sempre monitorizado, o que permitirá fazer alterações na terapêutica sempre que necessário (44). Para tal, ao longo do tratamento é efetuada a contagem periférica das células sanguíneas. Também é feito o estudo da medula óssea, a cada 6 meses, até se conseguir uma resposta citogenética completa (45). Posteriormente à obtenção desta resposta, o estudo da medula óssea é feito apenas uma vez por ano, para deteção de alterações genéticas, que possam levar à progressão da doença.

Segundo as *guidelines* existentes, a monitorização da resposta ao tratamento é feita, habitualmente, aos 3, 6, 12 e 18 meses de tratamento (46).

A eficácia do tratamento é avaliada através de metas de referência: resposta hematológica, resposta citogenética e resposta molecular (Figura 20). O doente deverá atingir uma resposta hematológica completa (CHR) ao fim de 3 meses de tratamento, com normalização do número de leucócitos ( $<10 \times 10^9/l$ ) e de plaquetas ( $<450 \times 10^9/l$ ) e sem células imaturas no sangue periférico; normalização da medula óssea e normalização do volume do baço. A resposta citogenética completa (CCR) deverá atingir-se ao fim de 12 meses de tratamento, caracterizando-se pela ausência de metáfases Ph-positivas, na medula óssea, avaliado por FISH. A resposta molecular completa (MMR) caracteriza-se pela não deteção de transcritos de *BCR-ABL1*, avaliado por RT-PCR (11, 35).

| Resposta hematológica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Resposta citogenética                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Resposta molecular                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Completa (CHR):</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• plaquetas <math>&lt;450 \times 10^9/l</math></li> <li>• leucócitos <math>&lt;10 \times 10^9/l</math></li> <li>• ausência de precursores mieloides no sangue periférico</li> <li>• basófilos <math>&lt;5\%</math></li> <li>• ausência de esplenomegalia</li> </ul> </li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Completa (CCR)</b> - 0% de metáfases Ph positivas</li> <li>• <b>Parcial (PCR)</b> - 1-35% de metáfases Ph positivas</li> <li>• <b>Minor (mCR)</b> - 36-65% de metáfases Ph positivas</li> <li>• <b>Mínima</b> - 66-95% de metáfases Ph positivas</li> <li>• <b>Ausência</b> - <math>&gt;95\%</math> de metáfases Ph positivas</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Completa (CMR)</b> - níveis de transcritos de BCR-ABL1 indetectáveis</li> <li>• <b>Major (MMR)</b> - <math>\leq 0,1\%</math> de transcritos de BCR-ABL1</li> </ul> |

Figura 20 - Diferentes tipos de resposta ao tratamento da leucemia mieloide crônica. A resposta citogenética é avaliada pela técnica de hibridação fluorescente in situ (FISH) e a resposta molecular pela técnica de RT-PCR.

Figura adaptada de Hochhaus, A. et al.(10).

As respostas do doente ao tratamento podem ser ótimas (Figura 21), sub-ótimas ou não satisfatórias/falência (Tabela 5). As respostas sub-ótimas são classificadas como uma resposta “warning” (1, 5).

Tabela 5 - Classificação da resposta ao tratamento de leucemia mieloide crônica.

| Meses                  | Resposta ao tratamento                                                                                                                                 |                                                                                                                                            |                                                                                                                                                       |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                        | Ótima                                                                                                                                                  | Sub-ótima / Warning                                                                                                                        | Não satisfatória / falência                                                                                                                           |
| <b>Diagnóstico</b>     |                                                                                                                                                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Score: Elevado risco.</li> <li>▪ Alterações citogenéticas adicionais ao cromossoma Ph.</li> </ul> |                                                                                                                                                       |
| <b>3</b>               | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Níveis de BCR-ABL1 <math>\leq 10\%</math></li> <li>▪ <math>&lt;35\%</math> de células Ph positivas</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Níveis de BCR-ABL1 <math>&gt;10\%</math></li> <li>▪ 36-95% de células Ph positivas</li> </ul>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sem resposta hematológica completa</li> <li>▪ <math>&gt;95\%</math> de células Ph positivas</li> </ul>       |
| <b>6</b>               | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Níveis de BCR-ABL1 <math>&lt;1\%</math></li> <li>▪ 0% de células Ph positivas</li> </ul>                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Níveis de BCR-ABL1 1-10%</li> <li>▪ 1-65% de células Ph positivas</li> </ul>                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Níveis de BCR-ABL1 <math>&gt;10\%</math></li> <li>▪ <math>&gt;35\%</math> de células Ph positivas</li> </ul> |
| <b>12</b>              | Níveis de BCR-ABL1 $<0,1\%$                                                                                                                            | Níveis de BCR-ABL1 0,1-1%                                                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Níveis de BCR-ABL1 <math>&gt;1\%</math></li> <li>▪ <math>\geq 1\%</math> de células Ph positivas</li> </ul>  |
| <b>18</b>              | Níveis de BCR-ABL1 $<0,01\%$                                                                                                                           |                                                                                                                                            |                                                                                                                                                       |
| <b>Qualquer altura</b> |                                                                                                                                                        |                                                                                                                                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Recaída</li> <li>▪ Perda de resposta molecular</li> </ul>                                                    |

Tabela adaptada de Hochhaus, A. et al.(10).

## Leucemia mieloide crónica

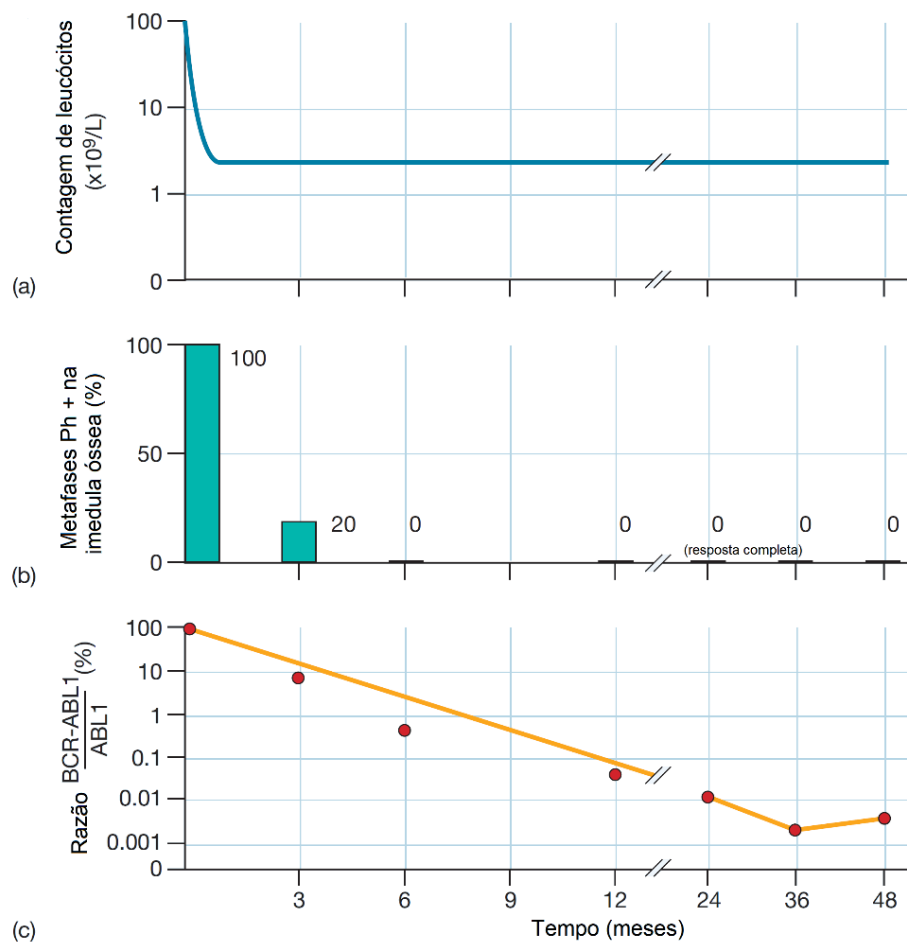


Figura 21 - Respostas hematológicas e citogenéticas ótimas, observadas num doente em remissão da leucemia mieloide crónica, após tratamento com imatinib. (a) Normalização do número de leucócitos, em dias. (b) A análise do cariótipo das células da medula óssea mostra uma redução gradual no número de células com cromossoma Filadélfia, durante 6 meses de tratamento. (c) A análise, por RT-PCR, do número de transcritos BCR-ABL1, na medula óssea durante 6 meses, em comparação com o número de transcritos ABL1.

Figura adaptada de Hoffbrand, A. V. et al. (6)

Como os doentes podem apresentar diferentes tempos de resposta ao tratamento, pode ser necessário fazer ajustes. Por exemplo, se o doente não atingir os resultados pretendidos no período definido, mas mostrar uma diminuição contínua no número de células com cromossoma Ph, ou se numa CCR mostrar uma diminuição contínua do valor dos transcritos, o tratamento deverá ser continuado.

Se o doente falhar a resposta nos tempos de 3, 6 ou 12 meses (perda de CHR ou CCR), desenvolver novas alterações citogenéticas, adquirir uma mutação no gene *BCR-ABL1* ou se aumentar os níveis dos transcritos de *BCR-ABL1* (que pode ser indicativo de uma nova mutação ou recidiva citogenética), deverá alterar-se o tratamento, devido ao risco de progressão da leucemia (1).

A determinação da resposta molecular só é feita quando o doente atingir uma CCR. Neste caso, é avaliada a diminuição dos transcritos de mRNA de *BCR-ABL1* através de qRT-PCR, o que permitirá definir a profundidade da resposta citogenética (1).

### 6.1.2 Imatinib

O mesilato de imatinib (Figura 22) é uma 2-fenilaminopirimidina biodisponível por via oral, administrado numa dose de 400 mg/dia.

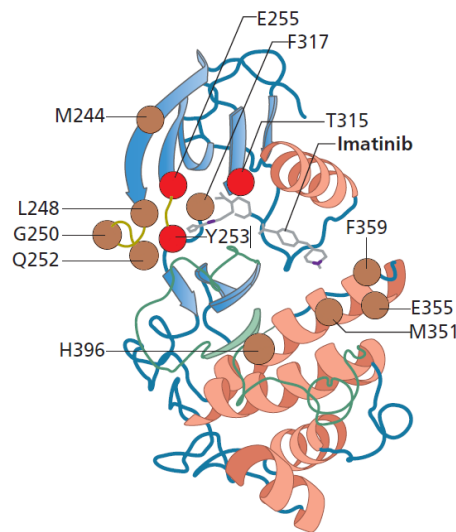


Figura 22 - Esquema da estrutura cristalina do domínio ABL1 e dos resíduos de aminoácidos críticos para a aquisição de resistência ao imatinib. As esferas castanhas indicam que a troca desse resíduo específico confere resistência moderada. As esferas vermelhas indicam resistência alta. É possível observar a posição espacial do fármaco no ATP “binding pocket”. O resíduo de treonina na posição 315 é crucial para a ligação dos inibidores da tirosina cinase.

Figura adaptada de Yeung, D. T. O., et al. (3).

Este fármaco é relativamente seletivo e moderadamente potente contra a tirosina cinase BCR-ABL1, podendo ser usado para o tratamento de doentes na fase crônica da LMC, recém-diagnosticados. Também tem ação sobre outras tirosinas cinases, incluindo a c-KIT, ABL1, ABL2, c-FMS e PDGFRB (1, 3, 5).

Durante a fase I e fase II dos ensaios clínicos, mostrou atividade em doentes com LMC, principalmente nos doentes em fase crônica, e um perfil de toxicidade seguro, quando administrado diariamente, numa dose de 400mg. Durante a fase II, foi comparado com a terapêutica combinada de IFN- $\alpha$  com citarabina, em doentes diagnosticados com LMC na fase crônica - estudo IRIS (*International Randomized Study of IFN- $\alpha$  plus Ara-C versus ST1571*). Neste estudo foi estabelecido o imatinib como terapêutica de 1ª linha para LMC (5).

O tempo necessário para atingir o efeito máximo varia entre doentes, mas desde que apresente uma redução contínua do clone de células neoplásicas, a administração do fármaco deverá manter-se, com a dose de 400 mg/dia (1).

Embora se tenha provado que o tratamento com imatinib é eficaz para grande parte dos doentes, cerca de 40-50% descontinuem o tratamento, por intolerância ou por desenvolverem resistência. A não aderência ao tratamento contribui para a falha da terapêutica e pode ser ou não intencional (por exemplo, por razões financeiras) (3).

Se o doente deixar de responder ao tratamento, antes de atingir uma resposta citogenética ou molecular completa, a dose poderá ser aumentada para 600 ou até mesmo para 800 mg/dia (400 mg de 12 em 12 hora), caso seja tolerada. Em alternativa, poderá ser usado outro TKI (1).

Doses de imatinib inferiores a 400 mg/dia resultam numa menor taxa de respostas citogenéticas completas e menor duração das mesmas. A necessidade de uma dosagem inferior pode surgir em doentes mais idosos ou que têm uma massa corporal reduzida e que, por isso, apenas toleram doses mais baixas. Nestes casos, é administrada uma dose menor, por exemplo de 300 mg/dia (47).

O imatinib é bem tolerado e a maioria dos efeitos secundários podem ser tratados, raramente requerendo a interrupção da terapêutica. Mas, sendo necessário, recomenda-se a interrupção completa do tratamento com o imatinib, ao invés da redução da dose administrada (48).

Os efeitos secundários mais comuns são fadiga, edema, náusea, diarreia, caibras musculares e *rash*. A hepatotoxicidade não é frequente, acontecendo em apenas 3% dos doentes. Ocasionalmente pode observar-se edema periorbital, ganho de peso, hipofosfatemia (provocando perturbações ósseas), reações cutâneas, despigmentação do cabelo e hipopigmentação cutânea (1).

A mielossupressão é frequente, especialmente no início do tratamento. Nestes casos, a administração do fármaco deve ser interrompida até que os valores regressem ao normal. A neutropenia pode ser tratada e prevenida recorrendo aos fatores de crescimento G-CSF (fator estimulador de colónias de granulócitos) e GM-CSF (fator estimulador de colónias de granulócitos e monócitos). Em casos de trombocitopenia severa, poderá ser necessário fazer transfusão de plaquetas (1).

O imatinib pode também ser utilizado para o tratamento da LMC em crianças, sendo a dose ajustada de acordo com a área de superfície corporal. A eficácia do tratamento e os efeitos secundários são semelhantes ao que se observam nos adultos. Contudo, poderá observar-se perturbação no crescimento, especialmente em crianças na fase de pré-puberdade, dado que alguns dos efeitos secundários do imatinib são hipocalcemia,

hipofosfatemia e diminuição da remodelação óssea, que compromete o crescimento normal (3).

Nos doentes mais idosos (idade superior a 60 anos), as respostas obtidas são similares às observadas em doentes mais novos, ou seja, a idade não interfere na resposta ao tratamento (49, 50).

### 6.1.3 Dasatinib

O dasatinib (Figura 23) é um TKI oral de segunda geração, que é capaz de se ligar à conformação ativa e inativa do domínio ABL1 (51). Segundo estudos de *follow-up* de longa duração, o dasatinib é capaz de desencadear respostas mais rápidas e mais profundas que o imatinib (52).

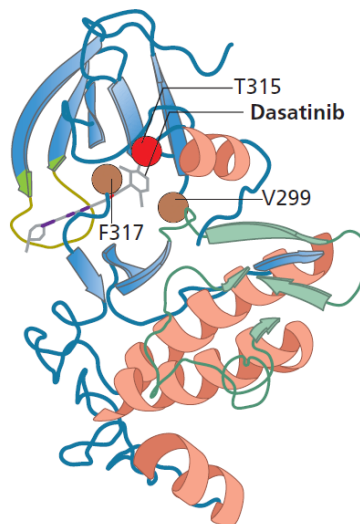


Figura 23 - Esquema da estrutura cristalina do domínio ABL1 e dos resíduos de aminoácidos críticos para a aquisição de resistência ao dasatinib. As esferas castanhas indicam que a troca desse resíduo específico confere resistência moderada. As esferas vermelhas indicam resistência alta. É possível observar a posição espacial do fármaco no ATP “binding pocket”. O resíduo de treonina na posição 315 é crucial para a ligação dos inibidores da tirosina cinase.

Figura adaptada de Yeung, D. T. O., et al. (3).

Foi aprovado para o tratamento de primeira linha de doentes com LMC na fase crónica, em 2010, e para casos de resistência/intolerância a pelo menos um TKI. É ativo para a maioria das mutações associadas a resistência ao imatinib, exceto contra as mutações T315I/A, V299L e F317V/C (53). Este ponto será esclarecido posteriormente.

O dasatinib tem um tempo de semivida sérico curto; é administrado numa dose diária de 100 mg para o tratamento da LMC na fase crónica e de 140 mg na fase acelerada. O aumento da dose não se justifica, por aumento da razão toxicidade/eficácia (3).

Os efeitos secundários são menos frequentes que com o imatinib e incluem náusea, vômitos, mialgia, *rash* e retenção de líquidos, incluindo edema superficial. O dasatinib também aumenta o risco de hipertensão arterial pulmonar, podendo ser necessário interromper o tratamento. Ainda, alguns doentes podem ter eventos hemorrágicos, devido à inibição da agregação das plaquetas. Em 7% dos casos, verifica-se hipofosfatemia.

A resistência ao dasatinib resulta frequentemente de mutações pontuais no domínio ABL1, no resíduo 315 ou 317 (1).

### 6.1.4 Nilotinib

O nilotinib (Figura 24) é um inibidor seletivo da BCR-ABL1, que compete com o ATP. É biodisponível por via oral e é 20 a 50 vezes mais potente que o imatinib em ensaios *in vitro* (54). Foi aprovado para tratamento inicial de LMC em 2010, com uma dosagem de 300 mg, duas vezes ao dia (1).

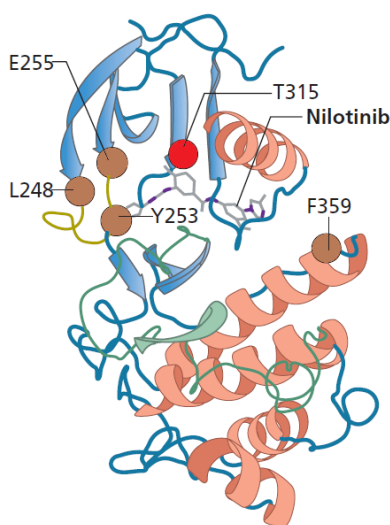


Figura 24 - Esquema da estrutura cristalina do domínio ABL1 e dos resíduos de aminoácidos críticos para a aquisição de resistência ao nilotinib. As esferas castanhas indicam que a troca desse resíduo específico confere resistência moderada. As esferas vermelhas indicam resistência alta. É possível observar a posição espacial do fármaco no ATP "binding pocket". O resíduo de treonina na posição 315 é crucial para a ligação dos inibidores da tirosina cinase.

Figura adaptada de Yeung, D. T. O., et al. (3).

É eficaz em doentes resistentes ou intolerantes ao imatinib, uma vez que é ativo contra a maioria das mutações que conferem resistência ao imatinib (exceto para as mutações T315I, F359V/C, E255K/V e Y253H/F). Para além de inibir a BCR-ABL1, inibe também PDGFR e c-kit (1, 3).

Esta terapêutica é bem tolerada, no entanto podem ocorrer alterações bioquímicas, como aumento da concentração sérica de enzimas hepáticas, da amilase e da lipase, hiperbilirrubinemia (pode ser secundária à diminuição da excreção da bile e geralmente é reversível) e, no início do tratamento, o doente pode apresentar citopenias (3).

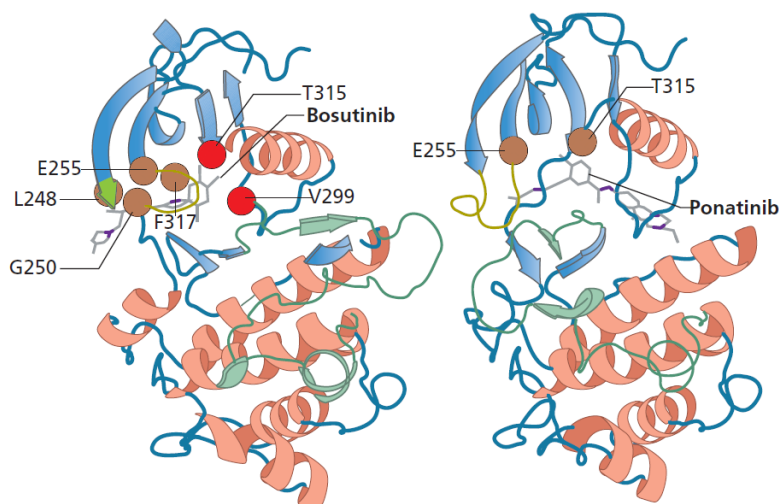
Comparativamente ao imatinib, a incidência de mutações no gene *BCR-ABL1*, associadas à resistência ao fármaco, é menor, o que se traduz numa menor taxa de progressão da leucemia para as fases acelerada e blástica (1).

Os doentes tratados com nilotinib apresentam uma maior tendência para desenvolver hiperglicemia, dislipidemia e problemas cardiovasculares, sendo esta mais pronunciada quando o doente é tratado com doses mais elevadas do fármaco - 400 mg, duas vezes ao dia (3). Em casos de ocorrência de trombose, deve-se interromper de imediato o tratamento (1).

### 6.1.5 Bosutinib e Ponatinib

Estes TKIs de terceira geração ainda não se encontram aprovados para o tratamento inicial de LMC. Porém, são escolhas eficazes no tratamento de 2ª linha, em casos de resistência ao imatinib, e o seu uso nestes casos foi aprovado pela FDA em 2012 (1).

O bosutinib (Figura 25) é um TKI indicado para o tratamento de doentes com LMC que apresentam resistência/intolerância a pelo menos um TKI. É administrado numa dose diária única, de 500 mg.



*Figura 25 - Esquema da estrutura cristalina do domínio ABL1 e dos resíduos de aminoácidos críticos para a aquisição de resistência ao bosutinib e ponatinib. As esferas castanhas indicam que a troca desse resíduo específico confere resistência moderada. As esferas vermelhas indicam resistência alta. É possível observar a posição espacial do fármaco no ATP "binding pocket". O resíduo de treonina na posição 315 é crucial para a ligação de todos os TKIs, exceto para o ponatinib.*

*Figura adaptada de Yeung, D. T. O., et al. (3).*

Os efeitos secundários mais comuns são alterações gastrointestinais (diarreia, náusea, dor abdominal e vómitos), *rash*, enxaqueca e aumento dos níveis circulantes das enzimas hepáticas (3).

O ponatinib (Figura 25) é um TKI de terceira geração e é o único fármaco com atividade contra a mutação T315I. Em caso de mutações compostas (mais de uma mutação no mesmo transcrito *BCR-ABL1*), especialmente em casos com a mutação E255K/V, os doentes poderão ser resistentes a este fármaco.

Tem como efeitos secundários *rash*, aumento dos níveis da lípase, pancreatite e enxaquecas. Em doentes com fatores de risco cardiovascular é necessário ter bastante cuidado, administrando a menor dose eficaz, dado que existem casos descritos na literatura de doentes com episódios trombóticos. Caso o doente tenha história de episódios vasculares, este fármaco não deve ser administrado (3).

### 6.1.6 Escolha do TKI

A *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) desenvolveu *guidelines* para o tratamento da LMC, segundo as quais o imatinib, o nilotinib e o dasatinib são opções de primeira linha para o tratamento inicial da LMC (Figura 26 e Tabela 4) (55).

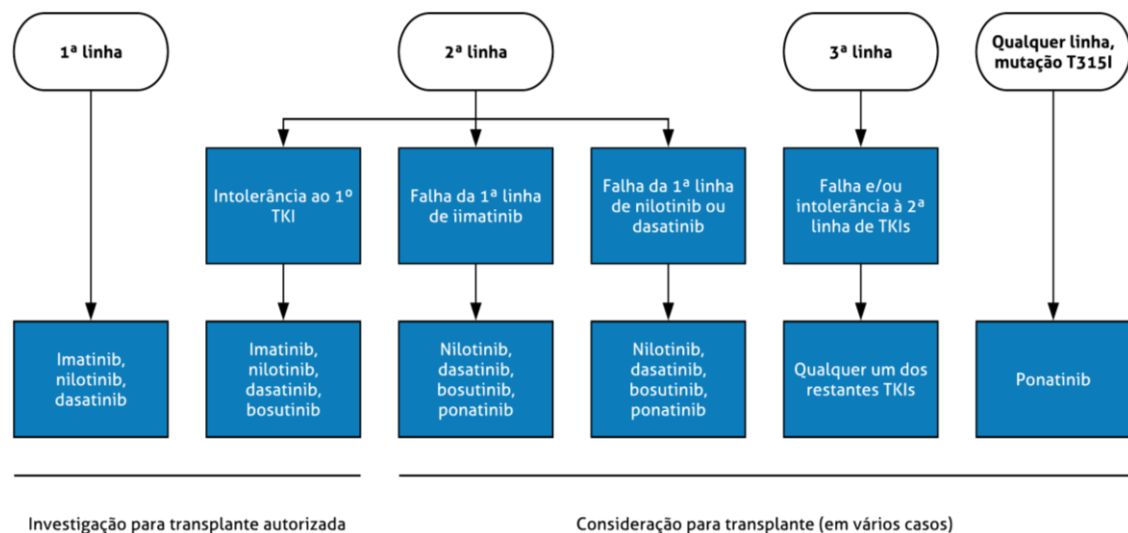


Figura 26 - Opções de tratamento para doentes com leucemia mieloide crónica, diagnosticados na fase crónica.

TKI, inibidores de tirosina cinase.

Figura adaptada de Hochhaus, A. et al. (10).

O objetivo inicial do tratamento com TKI é conseguir uma resposta citogenética completa em 12 meses ou, no máximo, até 18 meses e prevenir a progressão da leucemia para a fase acelerada ou blástica (1).

Muitos clínicos defendem que para o tratamento de 1ª linha se devia optar pelos TKIs de segunda geração, dado que estão associados com respostas mais rápidas, mais intensas e a taxas de progressão da doença mais baixas. Outros continuam a preferir o imatinib, pela falta de resultados que confirmem a eficácia no prolongamento de sobrevida com o nilotinib ou dasatinib (1).

Em doentes que apresentem um risco elevado ou intermédio de progressão de doença, medido pelos modelos *Sokal* e *Hasford*, os TKIs de segunda geração podem ser preferidos, pois é pretendida uma resposta rápida. Esta abordagem terapêutica é denominada de abordagem “*hit hard, hit early*” (56).

Em suma, qualquer um dos três TKIs (imatinib, nilotinib e dasatinib) pode ser selecionado para o tratamento de primeira linha da LMC. A escolha deverá ter em conta a forma de administração, escolhendo aquele que causar menor desconforto ao doente, o que tiver o menor custo e menos efeitos secundários, tendo também em conta o prognóstico do doente, avaliado pelos modelos *Sokal* e/ou *Hasford* (1).

No caso de resistência/intolerância ao imatinib, podem ser usados o dasatinib ou nilotinib (Figura 26 e Tabela 4). O dasatinib é capaz de se ligar à proteína BCR-ABL1 com várias conformações e, ao contrário do imatinib, consegue ultrapassar a barreira hematoencefálica. O sucesso do tratamento é frequentemente melhor com o dasatinib do que com o imatinib (1, 57).

Os TKIs de terceira geração, como o bosutinib e ponatinib, são ativos contra muitas mutações no domínio ABL1, que conferem resistência ao imatinib, e ambos são boas alternativas para casos de resistência ao imatinib (1).

O ponatinib é o único eficaz contra a mutação T315I. Por esta razão, é utilizado em casos de ocorrência desta mutação ou no insucesso de vários TKIs no tratamento da LMC (58).

### 6.1.7 Desenvolvimento de resistências

O desenvolvimento de resistências ao imatinib é bastante comum e deve-se ao próprio mecanismo de ação do fármaco, pois, dada a sua especificidade de ligação ao local de ligação do ATP na proteína BCR-ABL1, qualquer alteração nesse local poderá impedir a sua ação (59).

Como já foi referido no ponto “*Cromossoma Filadélfia*”, algumas *stem cells* neoplásicas podem persistir, por serem resistentes ao imatinib e também apresentam instabilidade

genética (60). Estas células têm grandes níveis de transcritos de *BCR-ABL1* e acredita-se que também sejam capazes de expressar proteínas de transporte, resultando num fluxo anormal do imatinib (61). Esta *pool* constante de *stem cells* potencia o ganho de resistências ao fármaco, com amplificação do gene *BCR-ABL1*, efluxo do imatinib mediado por proteínas de transporte, alteração no metabolismo do imatinib e mutações no domínio *ABL1* que impedem a ligação do imatinib à proteína (1).

Em aproximadamente 40% dos doentes que não conseguem atingir uma resposta hematológica completa ou uma resposta citogenética completa com o imatinib, estão presentes mutações na porção *ABL1*. As mutações mais frequentemente associadas a resistência ao imatinib são T315I, G250E, E255K e T253H. Os TKIs de segunda geração são capazes de atuar nas células mutantes resistentes ao imatinib, à exceção das que apresentam a mutação T315I. As células com as mutações F317L e V299L são resistentes ao dasatinib e as mutações Y253H, E255K e F359I conferem resistência ao nilotinib (1).

O ponatinib é capaz de atuar contra a mutação T315I e também contra as outras mutações que conferem resistência ao dasatinib e nilotinib (62). É eficaz contra mutações individuais no domínio *ABL1*, não sendo capaz de atuar em casos mais complexos, com duas ou mais mutações na mesma proteína (63).

Para além do ponatinib, agentes como o IFN- $\alpha$  atuam no caso de mutação T315I, pelo que foram propostos para a terapêutica da LMC nesses casos (64).

A presença de alterações cromossômicas adicionais pode estar relacionada com a resistência ao imatinib (65). Todavia, a adição de alterações cromossômicas, com exceção da trissomia 8, da duplicação do cromossoma Ph e da formação do isocromossoma 17, aquando do diagnóstico de LMC, não está associada a piores resultados terapêuticos com o imatinib (1).

#### **6.1.8 Descontinuação da terapêutica com TKI**

A presença de uma resposta molecular completa persistente só é observada numa minoria de doentes tratados com os TKI. A maioria dos doentes em tratamento com TKIs apresenta uma doença residual mínima, mesmo nos doentes em que os transcritos de *BCR-ABL1* não são detetáveis. A paragem do tratamento destes doentes pode levar a uma recidiva e, por esta razão, é recomendado manter a terapêutica com TKIs durante toda a vida do doente.

Nos doentes intolerantes ao imatinib, a dose poderá ser reduzida sem perda da resposta molecular completa.

Os efeitos da descontinuação dos TKIs de segunda geração (nilotinib e dasatinib) ainda não são bem conhecidos, sendo necessários mais estudos para saber se é possível parar o tratamento, sem risco para o doente.

Há vários estudos a decorrer, na tentativa de encontrar opções terapêuticas para a LMC, que não obriguem ao tratamento durante toda a vida (1).

## 6.2 Outras terapias

Para além dos TKIs, existem outras alternativas para o tratamento da LMC. O tratamento com IFN- $\alpha$  foi aprovado em 1980 e consiste na administração de IFN- $\alpha$  recombinante nos doentes com LMC. Este agente é mais eficaz quando administrado na fase crónica da LMC, sendo a sua ação devida a efeitos imunomoduladores. Cerca de 50% dos doentes que conseguem uma resposta completa ao tratamento com IFN- $\alpha$ , apresentam uma sobrevivência de longa duração. Os efeitos secundários mais comuns são fadiga, febre, perda de peso, alterações na função hepática, alterações hematológicas e sintomas do foro neuropsiquiátrico. O IFN- $\alpha$  raramente é usado no tratamento da LMC, podendo, porém, ser utilizado em conjunto com o imatinib, funcionando como um estimulante imunológico (1, 5, 6).

O busulfan também é utilizado raramente, exceto na preparação dos doentes para transplante de medula ou em doentes idosos intolerantes aos TKIs (1).

A omacetaxina (homoharringtonina) é um alcaloide com atividade contra a mutação T315I, que foi aprovado pela FDA, em 2012, para o tratamento de doentes com LMC, na fase crónica ou na fase acelerada, que sejam intolerantes a outras terapêuticas ou que não respondam a dois ou mais TKIs. Os efeitos secundários mais comuns são as citopenias (1).

A combinação do imatinib com alguns agentes, como o IFN- $\alpha$ , citarabina, omacetaxina, entre outros, poderá melhorar a resposta ao tratamento da LMC. Esta metodologia raramente é usada na fase crónica, mas pode ser importante na fase acelerada ou blástica (1).

A radioterapia é utilizada em doentes que estejam numa fase mais avançada da fase crónica ou mesmo na fase acelerada e que apresentem esplenomegalia extrema, com dor, e outros sintomas associados ao aumento do volume do baço. A irradiação esplénica pode aliviar os sintomas, embora apenas temporariamente (66).

Até à aprovação do imatinib para o tratamento da LMC, em 2001, o transplante de medula óssea era uma opção terapêutica a considerar nos doentes com menos de 65 anos e que tinham um dador compatível. O aumento do número de doentes que conseguiam uma resposta citogenética completa com o tratamento com o imatinib tornou o transplante

menos importante como opção terapêutica. O número de transplantados diminuiu de forma significativa em todo o mundo. Porém, o alotransplante continua a ser importante no tratamento de doentes resistentes/intolerantes a vários TKIs e nos doentes que progridem, durante o tratamento, para a fase acelerada ou blástica. Este tratamento pode também ser usado em doentes que apresentem a mutação T315I e que não respondam ao ponatinib. Doentes na fase acelerada ou blástica eleitos para transplante de medula óssea, podem ser tratados com um TKI que não tenham usado em tratamento prévio, antes do transplante.

A mortalidade durante o primeiro ano pós-transplante, em doentes com menos de 40 anos, é de 10-20%, e deve-se, principalmente, a doença do enxerto-versus-hospedeiro (DEVH) e infeções.

Após o transplante, podem ser administrados TKIs como uma medida profilática, principalmente naqueles doentes que tenham um risco elevado de recaída (1, 5, 6).

### 6.3 Terapias de suporte

A leucoferese é uma opção para o controlo da LMC, mas apenas temporariamente. Devido à elevada leucocitose e à elevada taxa de proliferação mieloide, a redução do número de leucócitos por esta técnica é pouco eficiente e, por isso, raramente é usada em doentes durante a fase crónica da LMC. Contudo, poderá ser útil em doentes com leucocitose extrema, para os quais uma citorredução rápida é importante para reverter os sintomas da leucostase (letargia, hipoxia, *tinnitus*, papiledema, priapismo), e em grávidas com LMC, em que é preciso um controlo da leucocitose, sem recorrer a terapêuticas que podem afetar o desenvolvimento fetal (1).

Em casos de hiperuricemia e hiperuricosúria (achados comuns em doentes com LMC no diagnóstico e em situações de recidivas) poderá ser necessário o seu tratamento. A concentração sérica de ácido úrico, a contagem periférica de leucócitos, o tamanho do baço e o tipo de terapêutica citolítica a instituir no tratamento da LMC são os fatores a considerar no tratamento de hiperuricemia. Se estas variáveis sugerirem um alto risco de lise celular, poderá ser administrado aos doentes alopurinol, que deverá ser descontinuado após normalização da contagem de leucócitos e do tamanho do baço e não exista lise celular elevada. Em situações de hiperuricemia extrema, poderá ser administrado rasburicase. Este fármaco reduz rapidamente os valores de ácido úrico, não provoca acumulação de xantina ou de hipoxantina e não requer alcalinização da urina para facilitar a excreção de fosfatos (1).

A hidroxiureia pode ser utilizada para se obter uma citorredução inicial, pois determina a supressão, reversível, da hematopoiese. Pode ser administrada 1 a 6 g/dia (dependendo

da leucocitose), por via oral. A dose deve diminuir progressivamente, em função da diminuição do número de leucócitos. Caso a contagem de leucócitos atinja valores inferiores a  $5 \times 10^9/l$ , deve ser interrompido o tratamento (1, 6).

A esplenectomia poderá ser útil em doentes que apresentem trombocitopenia não relacionada com a terapêutica, desconforto abdominal, metabolismo aumentado e hipertensão portal. Contudo, a morbilidade pós-operatória, resultado de infeções, trombozes ou hemorragia, é elevada, com uma mortalidade superior a 10% (67).

## 6.4 Casos especiais

Em determinados casos, poderá ser necessário realizar alguns ajustes no tratamento da LMC, como por exemplo em casos de doentes grávidas.

Como o imatinib pode ter efeitos teratogénicos, o tratamento é descontinuado em caso de gravidez, perdendo, na maioria dos casos, as respostas hematológica e citogenética. Para evitar esta situação, devem recomendar-se métodos contraceptivos durante o tratamento com qualquer TKI; se a mulher estiver grávida quando é diagnosticada a leucemia, recomenda-se o tratamento com IFN- $\alpha$  até ao parto, dado que este pode ser utilizado durante a gravidez sem risco de malformações fetais. Após o parto, deverá ser iniciado um TKI para atingir melhores resultados.

A hidroxiureia pode ser utilizada no segundo e no terceiro trimestre de gravidez para tratamento da LMC, mas não deve ser utilizada no primeiro trimestre. Também pode fazer-se uma leucoferese, no primeiro trimestre da gravidez (ou depois), para evitar a exposição do feto a fármacos (1).

## 7. Fase acelerada e transformação blástica da LMC

Para definir as diferentes fases da LMC existem diferentes classificações, sendo as mais utilizadas a Classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) e da *European Leukaemia Net* (ELN) / Centro de Oncologia MD Anderson (Tabela 6).

## Leucemia mieloide crônica

Tabela 6 - Critérios para a definição de fase acelerada e fase blástica, segundo a Organização Mundial de Saúde e a European Leukaemia Net. Os critérios utilizados para definir a fase acelerada são complexos, refletindo a dificuldade do seu diagnóstico. Os critérios utilizados para definir a fase blástica apenas diferem na percentagem de blastos. Apenas um dos critérios é suficiente para o diagnóstico.

|                       | OMS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | ELN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Fase acelerada</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Esplenomegalia persistente ou aumentada</li> <li>▪ Leucocitose persistente ou aumentada</li> <li>▪ % de blastos (SP ou MO) entre 10-19%</li> <li>▪ % de basófilos (SP ou MO) &gt; 20%</li> <li>▪ Número de plaquetas &gt;1000×10<sup>9</sup>/l, insensível à terapia, ou &lt;100×10<sup>9</sup>/l, não relacionada com a terapia</li> <li>▪ Alterações cromossômicas adicionais (por exemplo, trissomia 8, isocromossoma 17q, duplicação do cromossoma Ph)</li> <li>▪ Resistência hematológica ao primeiro TKI (ou falha em conseguir uma resposta hematológica completa ao primeiro TKI)</li> <li>▪ Qualquer indicação hematológica, citogenética ou molecular, de resistência ao segundo TKI</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ % de blastos (SP ou MO) entre 15-19%</li> <li>▪ % de basófilos (SP ou MO) &gt; 20%</li> <li>▪ Número de plaquetas &lt; 100×10<sup>9</sup>/l, não relacionada com a terapia</li> <li>▪ Alterações cromossômicas adicionais (por exemplo, trissomia 8, isocromossoma 17q, duplicação do cromossoma Ph)</li> </ul> |
| <b>Fase blástica</b>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ % de blastos (SP ou MO) &gt; 20%</li> <li>▪ Envolvimento extramedular</li> <li>▪ Falha na resposta ao tratamento</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ % de blastos (SP ou MO) &gt; 30%</li> <li>▪ Envolvimento extramedular</li> <li>▪ Falha na resposta ao tratamento</li> </ul>                                                                                                                                                                                     |

ELN, European Leukaemia Net; MO, medula óssea; OMS, Organização Mundial de Saúde; Ph, cromossoma Filadélfia; SP, sangue periférico.

Tabela adaptada de Hochhaus, A. et al. (10).

## 7.1 Fase acelerada

Os doentes que se encontram na fase crónica da LMC podem progredir para uma fase mais avançada da leucemia, mesmo estando em tratamento. Esta fase caracteriza-se por ser muito mais agressiva que a fase crónica, sintomática e de mais difícil tratamento, pois pode não haver resposta terapêutica ou não ser tão significativa como acontece na fase crónica. A passagem da fase crónica para a fase acelerada está muitas vezes associada à acumulação de mais alterações citogenéticas, para além do cromossoma Ph (1, 2).

Há sinais e sintomas que são frequentes na evolução da LMC para fases mais graves. Na fase acelerada, os doentes apresentam esplenomegalia mais acentuada. Em cerca de 10% dos doentes com LMC esta é a primeira manifestação da fase acelerada, sendo as principais áreas envolvidas os nódulos linfáticos, membranas serosas, pele e tecidos moles, peito, trato gastrointestinal e urogenital, ossos e sistema nervoso central. O envolvimento do sistema nervoso central está associado a enxaquecas, vômitos, letargia e papiledema, que se devem ao aumento do número de células, proteínas e à presença de blastos no líquido cefalorraquidiano (1).

O desenvolvimento de trombocitopenia, não relacionada com a terapêutica, pode ser indicativo de falência medular.

Sem tratamento adequado, os doentes com LMC na fase acelerada progridem habitualmente para uma crise blástica em 1 a 2 anos (3, 5, 6, 68).

### 7.1.1 Achados hematológicos

O exame de sangue periférico (Figura 28) destes doentes pode revelar i) anemia, com poiquilocitose, anisocitose e anisocromia; ii) aumento da leucocitose; iii) aumento da percentagem de mieloblastos (entre 10-19%); iv) basofilia (>20%); vii) trombocitopenia não relacionada com a terapia ou trombocitose insensível ao tratamento (2).

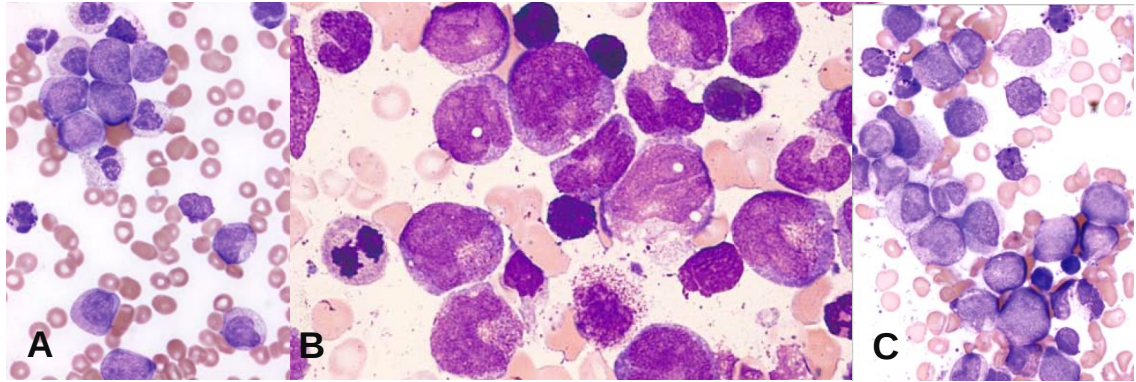


Figura 27 - Achados hematológicos de doentes com leucemia mieloide crônica; (A-B) Esfregaço sanguíneo de doente em fase acelerada, com basofilia, mieloblastos, entre outros precursores mieloides, e trombocitopenia; (C) Aspirado de medula óssea com basofilia, mieloblastos e promielócitos.

Ampliação: 1000x.

Figura adaptada de Hoffbrand, A. V. et al. (26) e de Löffler, H. et al. (33).

## 7.2 Fase blástica

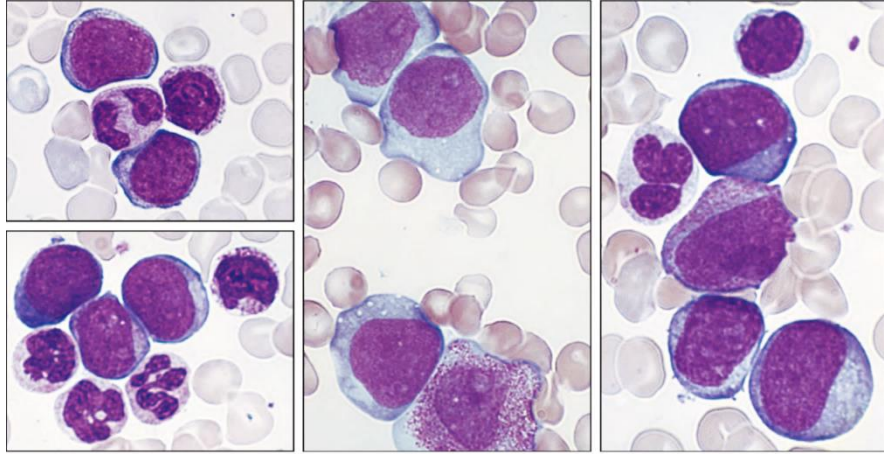
A fase blástica ou crise blástica é caracterizada pelo aumento rápido de blastos e falência medular que resulta de uma proliferação descontrolada de precursores, habitualmente mieloides, não acompanhada de diferenciação e maturação. O seu início pode ocorrer em alguns dias a décadas após o diagnóstico da LMC (1, 3).

Morfologicamente, não é possível distinguir esta fase blástica da LMC de leucemia aguda. Os blastos são, habitualmente, da linhagem mieloide, podendo expressar antígenos associados com a linha granulocítica, monocítica, megacariocítica, eritroide, mas também podem ser, embora raramente, linfoides. Também se podem observar crises promielocíticas (neste caso os doentes apresentam uma translocação adicional ao cromossoma Ph, a t(15;17), e apresentam alterações no processo de coagulação) e eosinofílicas (1, 2).

### 7.2.1 Achados hematológicos

Estes doentes podem revelar: i) anemia, com poiquilocitose, anisocitose e anisocromia; ii) presença de eritroblastos; iii) aumento da percentagem de blastos (superior a 20%), que podem ser da linha mieloide ou da linha linfóide; iv) diminuição do número de mielócitos; v) hipossegmentação dos neutrófilos (células *Pelger-Huët*) e outras alterações morfológicas; vi) basofilia; vii) trombocitopenia ou trombocitose (2).

## Leucemia mieloide crónica

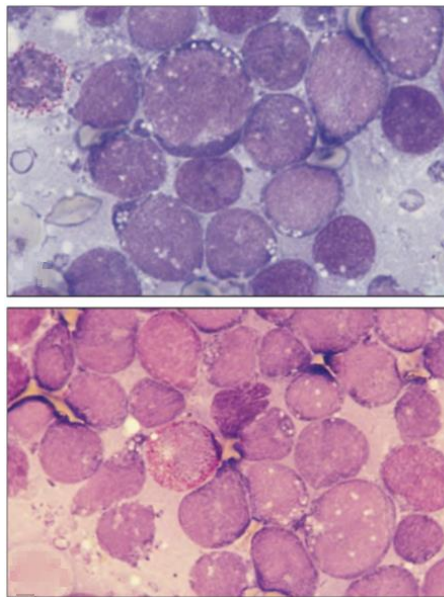


*Figura 28 - Esfregaços de sangue periférico de doentes com leucemia mieloide crónica em fase blástica, da linha mieloide, com numerosos mieloblastos, neutrófilos atípicos e promielócitos.*

*Ampliação: 1000x.*

*Figura adaptada de Hoffbrand, A. V. et al. (26).*

Os doentes com LMC na fase blástica apresentam uma medula óssea com aspeto característico de uma leucemia aguda (Figura 29) e podem apresentar alterações dismórficas em uma, duas ou três linhagens de células, com uma percentagem de blastos superior a 20% (1, 2).



*Figura 29 - Esfregaço de medula óssea de doentes com leucemia mieloide crónica na fase blástica, em que é possível observar um elevado número de linfoblastos com vacúolos.*

*Ampliação: 1000x.*

*Figura adaptada de Hoffbrand, A. V. et al. (26).*

### 7.3 Sintomatologia

Os sintomas que podem indicar a progressão da LMC são febre inexplicável, dor óssea, fraqueza, suores noturnos, perda de peso, artralgia e dor localizada na zona do quadrante superior esquerdo, frequentemente associados ao aumento do tamanho do baço. Estes sintomas podem ocorrer durante o tratamento e antes de se poderem observar as alterações hematológicas sugestivas da evolução da patologia.

Também podem apresentar sintomatologia relacionada com o aumento de histamina, resultante do número excessivo de basófilos (1, 2).

### 7.4 Alterações genéticas

A progressão da leucemia pode ser resultado de diferentes processos moleculares, como paragem da maturação das células, falha na reparação do DNA, desenvolvimento de um fenótipo mutante, encurtamento dos telómeros, perda das funções supressoras de tumores nas células ou de fatores desconhecidos (1).

Na progressão da fase crónica para a fase acelerada é frequente observar-se um aumento da expressão do gene *BCR-ABL1*. Em alguns doentes, verificam-se alterações cromossómicas adicionais (para além do cromossoma Ph). As alterações genéticas que se associam com mais frequência à progressão para a fase acelerada são a trissomia 8 (34% dos casos), duplicação do cromossoma Ph (31% dos casos), isocromossoma 17q (21%), trissomia 19 (13%), perda do cromossoma Y (9%), trissomia 21 (7%), duplicação do cromossoma 17 (6%) e monossomia 7 (5% dos casos) (2). Certas alterações, como a inversão do cromossoma 16, estão associadas a uma transformação precoce em LMA (1).

### 7.5 Prognóstico

Na fase acelerada da LMC, os doentes podem não responder bem ao tratamento e em certos casos a evolução da doença pode ser fatal em semanas a meses.

Os doentes que apresentem uma fase blástica com fenótipo mieloide têm um tempo médio de vida de cerca de 6 meses. Com fenótipo linfóide, o tempo médio de vida dos é de aproximadamente 12 meses.

O tratamento pode induzir citopenias, o que contribui para o aparecimento de infeções oportunistas, como por exemplo pelo vírus do herpes, do citomegalovírus e por fungos; hemorragias e disfunção de órgãos, especialmente do fígado e rins (1).

## 7.6 Tratamento

O tratamento ideal para estes doentes é muitas vezes o transplante, caso o doente apresente a idade adequada e desde que haja um dador compatível.

Atualmente, o tratamento recomendado para os doentes em crise blástica é com TKIs associados ou não a quimioterapia, até atingirem a fase crónica, após o que se deve, se possível, proceder ao transplante.

A esplenectomia pode ser utilizada para fins paliativos, em casos de dores esplénicas ou hemorragia. Contudo, como a incidência de complicações é alta, deve ser evitada (se for possível) (1).

### 7.6.1 Inibidores da tirosina cinase

Uma das escolhas frequentes para o tratamento da fase acelerada é o imatinib, 600 mg/dia. O dasatinib (140 mg/dia) e o nilotinib (400 mg duas vezes ao dia) conseguem induzir respostas moleculares mais favoráveis e por isso podem ser usados na fase acelerada, ou na preparação do doente, na fase acelerada ou na fase blástica, para o transplante.

Para além do dasatinib e do nilotinib, também o imatinib, bosutinib (500 mg/dia) e o ponatinib (45 mg/dia) podem ser utilizados pré-transplante na fase acelerada (1).

## **8. Considerações finais**

Com este trabalho pretendeu-se fazer uma revisão atual dos conhecimentos sobre a fisiopatologia da leucemia mieloide crónica, as suas principais manifestações clínicas e o seu diagnóstico diferencial, bem como o seu prognóstico e tratamento.

A LMC caracteriza-se, então, por uma leucocitose com desvio à esquerda, neutrofilia, hiato leucémico, basofilia, anemia normocrómica normocítica, alteração do número de plaquetas, algumas alterações bioquímicas e organomegalia, maioritariamente, esplenomegalia e hepatoesplenomegalia.

Os avanços dos conhecimentos científicos e tecnológicos permitiram que a LMC seja atualmente considerada uma patologia raramente fatal, com aumento considerável do tempo de vida dos doentes. Esta melhoria deve-se à introdução do tratamento com inibidores de tirosina cinase, que veio revolucionar a terapêutica da LMC e aumentar a esperança de vida deste doentes.

Contudo, apesar do enorme avanço no tratamento, existem ainda casos em que a leucemia é fatal. Nestes casos, a leucemia evolui progressivamente da fase crónica para uma fase blástica, em que o estado clínico do doente se agrava. Esta transformação deve-se à aquisição de resistência/intolerância aos inibidores de tirosina cinase, devido ao ganho de mutações no gene *BCR-ABL1*, ou a alterações citogenéticas adicionais. É, pois, bastante importante estudar novas abordagens terapêuticas que permitam atuar com sucesso nestes casos.

## **9. Casos clínicos**

De forma a compreender melhor os casos de LMC, tive a oportunidade de realizar um estágio de observação, com a duração de uma semana, no Serviço de Hematologia Laboratorial do Instituto Português de Oncologia do Porto (IPO), gentilmente concedido pelo diretor do Serviço, Dr. Carlos Mendes, durante o qual tive a oportunidade de observar esfregaços sanguíneos e de aspirados de medula óssea de doentes com LMC, acompanhada pela Dr.<sup>a</sup> Cristina Silva.

Tive ainda a oportunidade de poder observar como é realizado o diagnóstico de LMC no Centro Hospitalar do Porto, tanto na área da Biologia Molecular, acompanhada pelo Dr. João Rodrigues, onde pude observar os diferentes equipamentos e metodologias utilizadas, como na área da Hematologia Laboratorial, acompanhada pela Dr.<sup>a</sup> Inês Freitas, onde pude observar esfregaços sanguíneos e de aspirados de medula óssea de doentes com LMC.

### **9.1 Caso 1**

**Gentilmente cedido pelo Dr. Carlos Mendes, diretor do Serviço de Hematologia Laboratorial do Instituto Português de Oncologia do Porto (IPO)**

#### **1<sup>a</sup> consulta de Onco-hematologia**

Motivo da consulta: Leucocitose com neutrofilia e desvio à esquerda.

#### **História prévia:**

Sem antecedentes prévios de relevo.

Antecedentes cirúrgicos: negativo.

Hábitos alcoólicos: negativo.

Hábitos tabágicos: negativo.

Alergias medicamentosas: desconhece.

#### **História familiar:**

Mãe: Hipertensão arterial.

Pai e irmão saudáveis.

Avó e tio com cancro do pâncreas.

Sem história familiar conhecida de doença hematológica.

### História atual da doença:

Doente do gênero feminino, com 27 anos de idade; com um quadro de rinite, com cerca de 6 meses, sem grande melhoria após medicação, motivo pelo qual fez estudo analítico, que mostrou:

Concentração de hemoglobina: 10,7 g/dl, contagem de leucócitos:  $163,7 \times 10^9/l$ .

Sem aparentes sintomas B ou outras queixas de relevo.

### Exame objetivo:

Consciente, colaborante e orientada no espaço e tempo. Corada e hidratada. Sem cianose ou icterícia.

Peso: 57,8Kg. Altura 164cm.

Sem adenopatias periféricas palpáveis.

Abdômen mole e depressível, indolor, sem massas ou organomegalias palpáveis.

Sem edemas periféricos.

### Análises - Hematologia

Tabela 7 - Resultados do hemograma e do estudo da coagulação.

| ERITROGRAMA |                    |        | Valores de Referência |
|-------------|--------------------|--------|-----------------------|
| Eritrócitos | $\times 10^{12}/l$ | 3,49 ↓ | 3,80 - 5,80           |
| Hemoglobina | g/dl               | 10,9 ↓ | 11,5 - 16,5           |
| Hematócrito | l/l                | 0,33 ↓ | 0,37 - 0,47           |
| VGM         | fl                 | 93,7   | 76,0 - 96,0           |
| HGM         | pg                 | 31,2   | 27,0 - 32,0           |
| CHGM        | g/dl               | 33,3   | 30,0 - 36,0           |
| RDW         | %                  | 16,5 ↑ | 11 - 15               |

| PLAQUETOGRAMA |                 |     | Valores de Referência |
|---------------|-----------------|-----|-----------------------|
| Plaquetas     | $\times 10^9/l$ | 367 | 150 - 400             |

| RETICULÓCITOS                              |                 |      | Valores de Referência |
|--------------------------------------------|-----------------|------|-----------------------|
| Reticulócitos                              | $\times 10^9/l$ | 54,8 | 50 - 100              |
|                                            | %               | 1,6  | 0,5 - 2,5             |
| Equivalente de Hemoglobina do Reticulócito | pg              | 32,7 | 28 - 35               |

↑, valor aumentado; ↓, valor diminuído.

CHGM, concentração de hemoglobina globular média; HGM, hemoglobina globular média; VGM, volume globular médio; RDW, Amplitude de distribuição dos eritrócitos.

Tabela 7 - Resultados do hemograma e do estudo da coagulação. (continuação)

| LEUCOGRAMA        |                     | Valores de Referência |             |
|-------------------|---------------------|-----------------------|-------------|
| Leucócitos        | ×10 <sup>9</sup> /l | 193,61 ↑              | 4,0 - 11,0  |
| Neutrófilos       | ×10 <sup>9</sup> /l | 112,29 ↑              | 2,00 - 7,50 |
|                   | %                   | 58,0                  | 50 - 70     |
| Eosinófilos       | ×10 <sup>9</sup> /l | 1,94 ↑                | 0,00 - 0,60 |
|                   | %                   | 1,0                   | 0 - 4       |
| Basófilos         | ×10 <sup>9</sup> /l | 2,90 ↑                | 0,00 - 0,20 |
|                   | %                   | 1,5                   | 0 - 2       |
| Linfócitos        | ×10 <sup>9</sup> /l | 9,68 ↑                | 1,20 - 3,40 |
|                   | %                   | 5,0 ↓                 | 20 - 44     |
| Monócitos         | ×10 <sup>9</sup> /l | 1,94 ↑                | 0,00 - 0,90 |
|                   | %                   | 1,0 ↓                 | 2 - 9       |
| Metamielócitos    | ×10 <sup>9</sup> /l | 30,01 ↑               |             |
|                   | %                   | 15,5 ↑                |             |
| Mielócitos        | ×10 <sup>9</sup> /l | 29,04 ↑               |             |
|                   | %                   | 15,0 ↑                |             |
| Promielócitos     | ×10 <sup>9</sup> /l | 0,97 ↑                |             |
|                   | %                   | 0,5 ↑                 |             |
| Células blásticas | ×10 <sup>9</sup> /l | 4,84 ↑                |             |
|                   | %                   | 2,5 ↑                 |             |

| HEMÓSTASE |   | Valores de Referência |             |
|-----------|---|-----------------------|-------------|
| PT        | s | 16,0 ↑                | 12,4 - 15,2 |
| INR       |   | 1,12                  | 0,9 - 1,2   |
| aPTT      | s | 29,1                  | 24,6 - 31,8 |

↑, valor aumentado; ↓, valor diminuído.

aPTT, tempo de tromboplastina parcial ativada; INR, International Normalized Ratio; PT, tempo de protrombina.

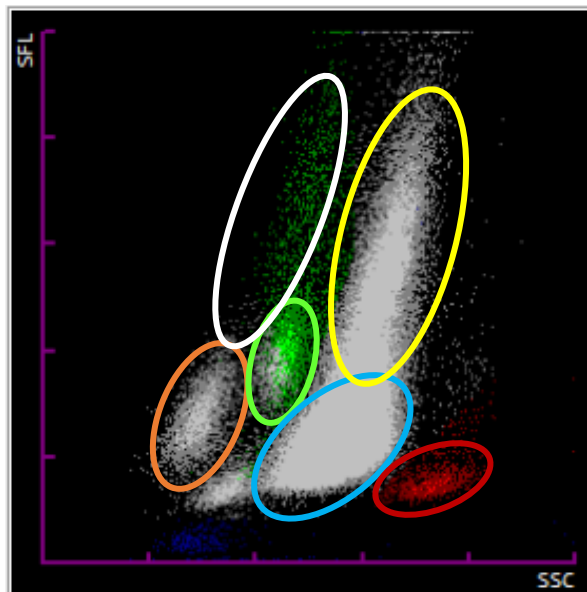


Figura 30 - Gráfico de dispersão leucocitária, obtido no canal DIFF.

Círculo laranja: linfócitos; verde: monócitos; azul: neutrófilos; vermelho: eosinófilos; amarelo: granulócitos imaturos; e branco: blastos.

SFL, fluorescência lateral; SSC, dispersão lateral.

## Análises - Bioquímica

Tabela 8 - Resultados da avaliação bioquímica.

| BIOQUÍMICA         |        | Valores de Referência |             |
|--------------------|--------|-----------------------|-------------|
| Glicose            | mg/dl  | 99                    | 76 - 115    |
| Ureia              | mg/dl  | 30,6                  | 9,6 - 49,8  |
| Creatinina         | mg/dl  | 0,60                  | 0,51 - 0,95 |
| Ácido Úrico        | mg/dl  | 3,7                   | 2,4 - 7,0   |
| Bilirrubina Total  | mg/dl  | 0,25                  | <1          |
| Bilirrubina Direta | mg/dl  | 0,05                  | <0,25       |
| Albumina           | g/dl   | 4,2                   | 3,8 - 5,3   |
| GOT/AST            | U/l    | 28                    | <39         |
| GPT/ALT            | U/l    | 16                    | <42         |
| ALP                | U/l    | 47                    | 42 - 128    |
| GGT                | U/l    | 28                    | 7 - 58      |
| LDH                | U/l    | 1113                  | 67 - 248    |
| Cálcio             | mmol/l | 2,36                  | 2,20 - 2,65 |
| Fósforo            | mg/dl  | 2,4                   | 2,6 - 5,9   |
| Magnésio           | mmol/l | 0,74                  | 0,77 - 1,03 |
| Ferro              | µg/dl  | 85                    | 49 - 167    |
| CTFF               | µg/dl  | 435                   | 274 - 494   |
| Ferritina          | µg/l   | 61                    | 10 - 120    |
| Sódio              | mmol/l | 139                   | 135 - 145   |
| Potássio           | mmol/l | 3,7                   | 3,8 - 5,0   |
| Cloretos           | mmol/l | 106                   | 101 - 109   |
| Proteína C Reativa | mg/l   | 2,50                  | <5,00       |

↑, valor aumentado; ↓, valor diminuído.

AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; ALP, fosfatase alcalina; GGT, gama-glutamyl transferase; LDH, lactato desidrogenase; CTFF, capacidade total de fixação do ferro.

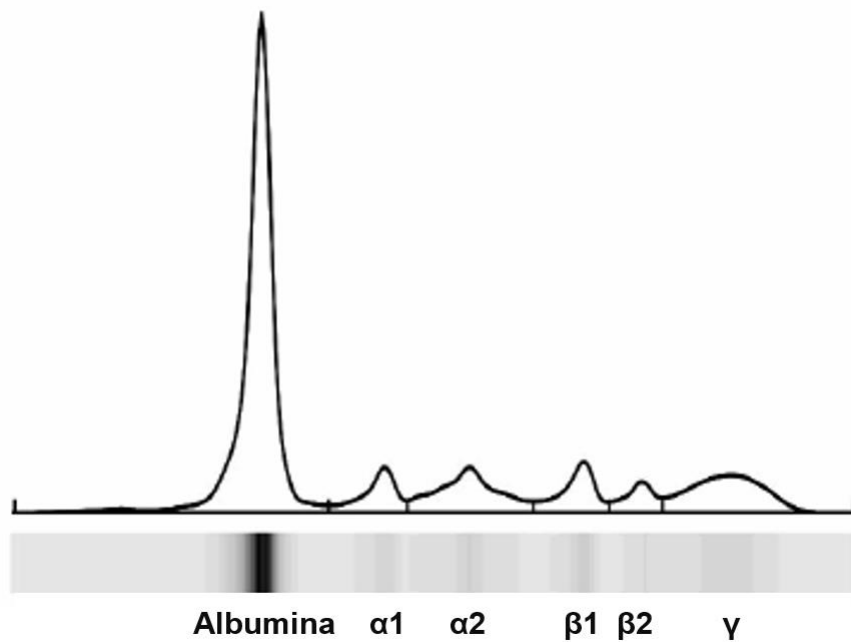


Figura 31 - Gráfico da eletroforese das proteínas séricas do doente.

Tabela 9 - Resultados da eletroforese de proteínas.

| ELETROFORESE |      | Valores de Referência |             |
|--------------|------|-----------------------|-------------|
| Proteínas    | g/dl | 7,2                   | 6,4 - 8,3   |
| Albumina     | %    | 57,5                  | 55,8 - 66,1 |
| Alfa 1       | %    | 6,3 ↑                 | 2,9 - 4,9   |
| Alfa 2       | %    | 11,6                  | 7,1 - 11,8  |
| Beta 1       | %    | 7,2                   | 4,7 - 7,2   |
| Beta 2       | %    | 4,1                   | 3,2 - 6,5   |
| Gama         | %    | 13,3                  | 11,1 - 18,8 |
| Relação A/G  |      | 1,4                   |             |

↑, valor aumentado.

A/G, relação albumina/globulina.

### Laboratório de Citogenética

Material enviado: Medula óssea.

Cariotipo de medula óssea

Técnica: Bandas cromossômicas após cultura de 24 horas com e sem sincronização por metotrexato.

Resultado: 46, XX, t(9;22)(q34;q11,2).

Conclusão: As 20 metafases analisadas apresentam a translocação t(9;22)(q34;q11,2) resultando no gene de fusão *BCR-ABL1*, característico da LMC.

### Virologia

#### HEPATITE C

Atc. HCV 0,1 DO (X) / CUT-OFF <0.9(NR)->1.1(R)

#### HEPATITE B

Atg. HBs 0,2 DO (X) / CUT-OFF <0.9(NR)->1.1(R)

Atc.HBc 0,1 DO (X) / CUT-OFF <0.9(NR)->1.1(R)

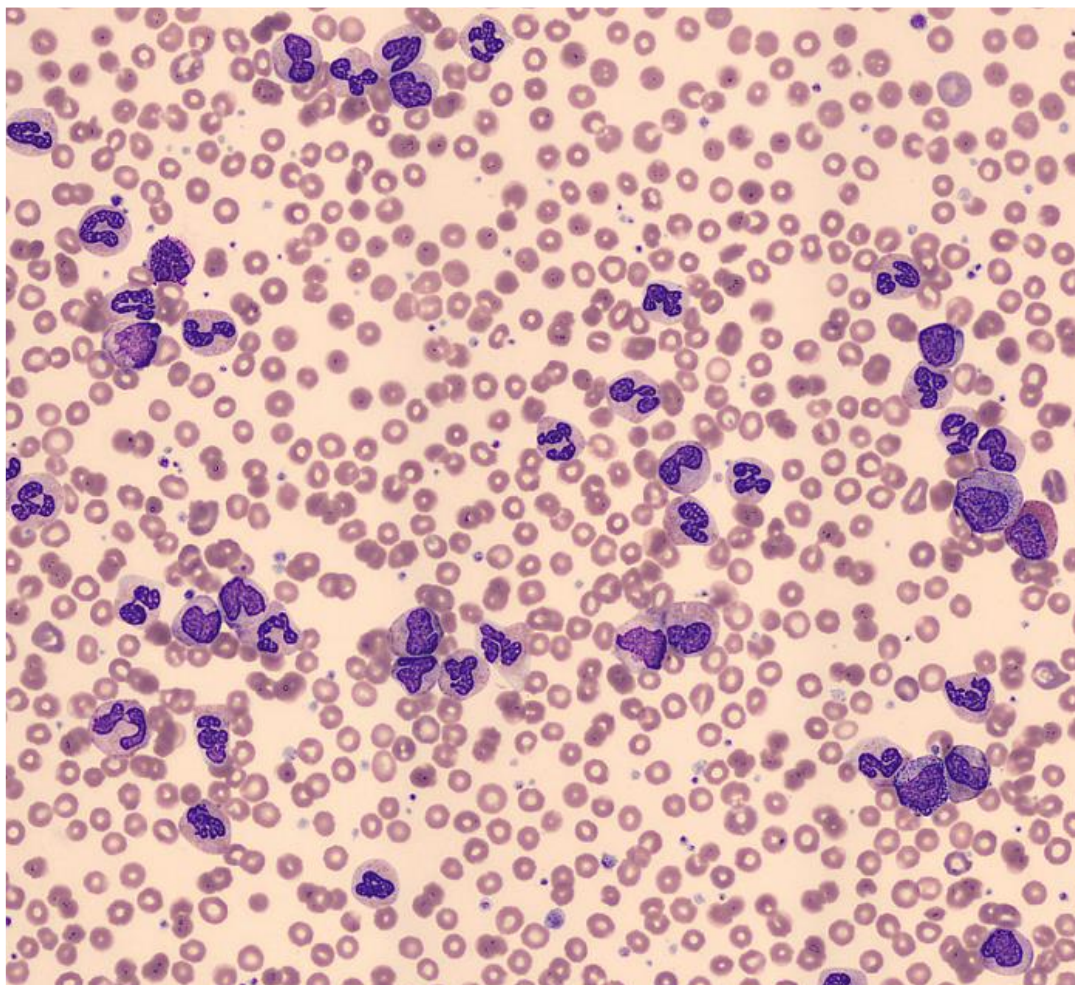
#### RETROVIRUS

HIV Ag/Ac 0,1 DO (X) / CUT-OFF <0.9(NR)->1.1(R)

### Mielograma

MO hiper celular com predomínio franco da linha mieloide em todas as fases de maturação, sem excesso de blastos, sugestivo de LMC.

Observação microscópica



*Figura 32 - Esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica.  
Ampliação: 1000x.*

## Leucemia mieloide crônica

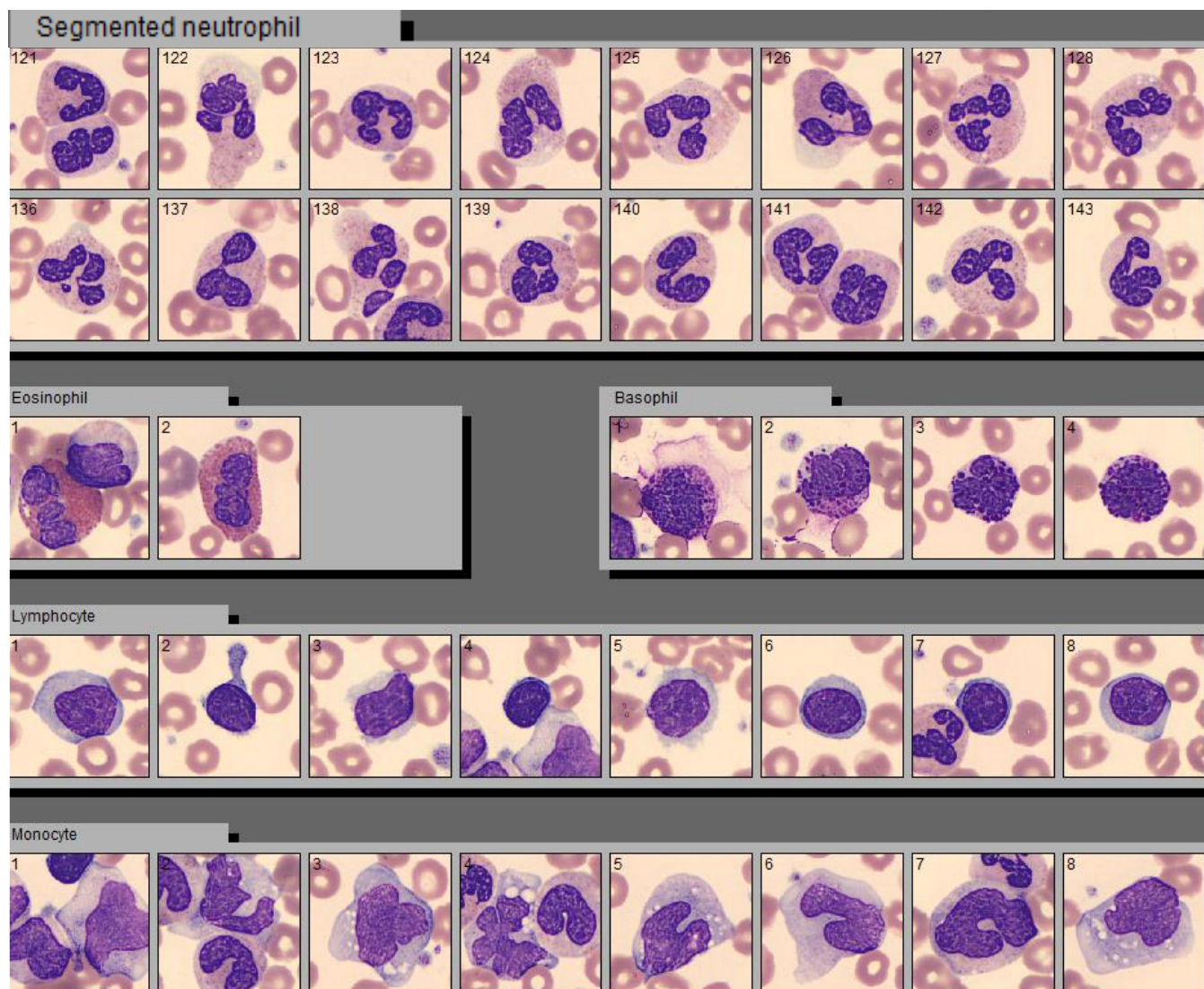


Figura 33 - Diferentes leucócitos maduros observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crônica.

Ampliação: 1000x.

## Leucemia mieloide crônica

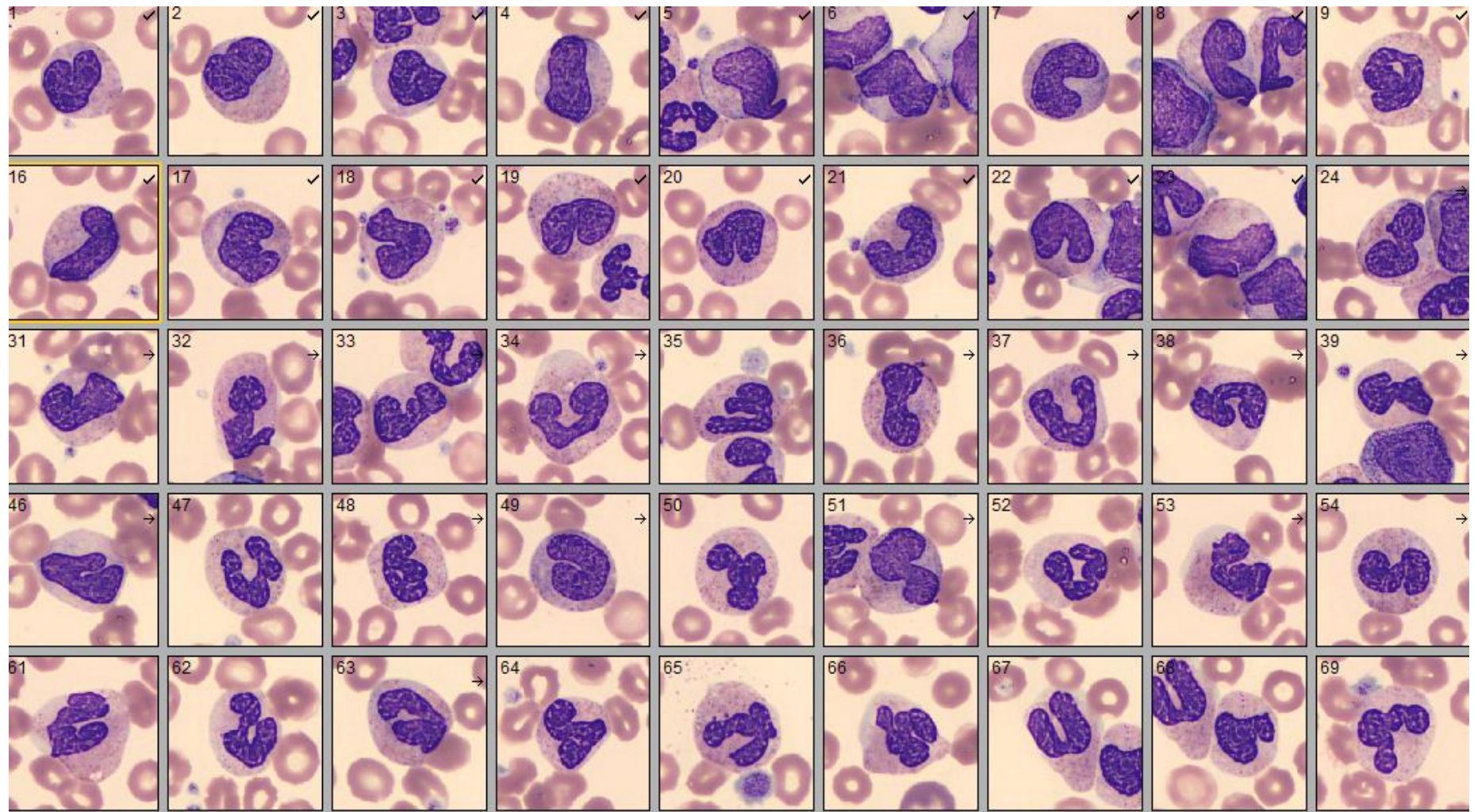


Figura 34 - Diferentes neutrófilos maduros, em banda e metamielócitos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crônica. Ampliação: 1000x.

## Discussão

Trata-se de um caso típico de LMC, na fase crónica. A doente foi encaminhada para estudo hemato-oncológico após um exame laboratorial, para estudo de uma rinite persistente e não responsiva à terapêutica, em que se observou leucocitose.

A doente não apresentava antecedentes que pudessem indicar a ocorrência de LMC, e no exame físico não foram detetadas organomegalias palpáveis.

O hemograma indicava anemia normocrómica normocítica, leucocitose com neutrofilia, eosinofilia, basofilia e precursores granulocíticos não escalonados. Os restantes parâmetros encontravam-se dentro dos valores de referência.

No esfregaço sanguíneo era possível observar precursores granulocíticos, neutrofilia, eosinofilia, basofilia e confirmar todos as outras alterações hematológicas observadas no hemograma.

O estudo bioquímico apresentava valores normais, à exceção da LDH, que se encontrava aumentada, em concordância com a elevada proliferação celular associada à LMC. Este é um achado característico da LMC.

A análise citogenética e molecular indicou a presença de células com o cromossoma Ph (t(9;22)(q34;q11,2)), com formação do gene de fusão *BCR-ABL1*.

Relativamente ao estudo de virologia, era negativo, sem a presença de nenhum antígeno vírico.

A análise à medula óssea indicou um aumento do número das células granulocíticas, sugestivo de uma granulocitopoiese aumentada.

Em conjunto, estes achados laboratoriais permitiram fazer o diagnóstico de LMC, na fase crónica.

## 9.2 Caso 2

**Gentilmente cedido pelo Dr. Carlos Mendes, diretor do Serviço de Hematologia Laboratorial do Instituto Português de Oncologia do Porto (IPO)**

### **1ª consulta de Onco-hematologia (novembro 2017)**

Doente do género masculino, com 42 anos, sem antecedentes relevantes, que refere quadro de astenia com 3 semanas de evolução. Refere suores noturnos desde a mesma altura, sugestivas de sintomas B. Recorreu a serviços médicos, tendo feito análises sanguíneas. Desses resultados destacam-se: concentração de hemoglobina de 8,5g/dl,

com  $145 \times 10^9$  Leucócitos/l, com desvio à esquerda (25% neutrófilos, 26% neutrófilos em banda, 19% metamielócitos, 12% mielócitos, 3,8% basófilos, 1,4% eosinófilos e 2% blastos). O doente ficou internado para estudo e tratamento, tendo feito fluidoterapia e antibioterapia (levofloxacina), que mantém.

**História prévia:**

Doenças próprias da infância: sem relevância.

Doenças típicas dos adultos: sem relevância.

Internamentos/cirurgias prévias: Negativo.

Traumatismos/acidentes: Negativo.

**História psicossocial:**

Casado, vive em casa com boas condições de habitabilidade; tem 2 filhos com 6 anos, saudáveis. Tem 2 irmãos, saudáveis. Mãe e pai sem doenças conhecidas, com 61 e 63 anos, respetivamente.

Viagens ao estrangeiro: negativo.

**Exame objetivo:**

Bom estado geral. Consciente, colaborante e orientado no espaço e tempo.

Pele e faneras sem alterações. Mucosas coradas e hidratadas. Eupneico.

Sem adenopatias cervicais, axilares e inguinais.

Orofaringe sem alterações.

Tensão arterial: 129/83 mmHg. Altura 181 cm. Peso 72,5 Kg. Temperatura auricular 36°C.

Abdómen: Mole e depressível, sem dor à palpação profunda ou superficial, esplenomegalia com 13cm (mas ponta de baço >20cm), hepatomegalia com 7cm, sem outras organomegalias. Timpanismo difuso.

Membros: sem edemas.

Após estudo hematológico, citogenético e molecular, em novembro de 2017, o doente foi diagnosticado com LMC na fase crónica, estando a ser tratado com imatinib, desde então.

### História da doença atual (2018)

Suspeita de LMC em crise blástica. O doente foi diagnosticado com LMC em fase crônica, em Novembro de 2017 e iniciou tratamento com imatinib.

Apresentam-se e comparam-se os estudos hematológicos, bioquímicos, citogenéticos e moleculares do doente na fase crônica ao diagnóstico e na fase blástica atual.

### Análises - Hematologia

Tabela 10 - Resultados do hemograma e do estudo da coagulação.

| ERITROGRAMA |                    | 2017   | 2018   | Valores de Referência |
|-------------|--------------------|--------|--------|-----------------------|
| Eritrócitos | $\times 10^{12}/l$ | 3,71 ↓ | 3,75 ↓ | 4,55 - 6,55           |
| Hemoglobina | g/dl               | 8,8 ↓  | 9,2 ↓  | 11,5 - 16,5           |
| Hematócrito | l/l                | 0,27 ↓ | 0,29 ↓ | 0,40 - 0,54           |
| VGM         | Fl                 | 84,5   | 76,8   | 76,0 - 96,0           |
| HGM         | Pg                 | 27,8   | 24,5   | 27,0 - 32,0           |
| CHGM        | g/dl               | 32,8   | 31,9   | 30,0 - 36,0           |
| RDW         | %                  | 17,3 ↑ | 17,7 ↑ | 11 - 15               |

| LEUCOGRAMA        |                 | 2017     | 2018    | Valores de Referência |
|-------------------|-----------------|----------|---------|-----------------------|
| Leucócitos        | $\times 10^9/l$ | 119,22 ↑ | 23,22 ↑ | 4,0 - 11,0            |
| Neutrófilos       | $\times 10^9/l$ | 51,86 ↑  | 1,51 ↓  | 2,00 - 7,50           |
|                   | %               | 43,5     | 6,5 ↓   | 50 - 70               |
| Eosinófilos       | $\times 10^9/l$ | 3,58 ↑   | 0,12    | 0,00 - 0,60           |
|                   | %               | 3,0      | 0,5     | 0 - 4                 |
| Basófilos         | $\times 10^9/l$ | 7,15 ↑   | 0,00    | 0,00 - 0,20           |
|                   | %               | 6,0 ↑    | 0,0     | 0 - 2                 |
| Linfócitos        | $\times 10^9/l$ | 4,77 ↑   | 2,67    | 1,20 - 3,40           |
|                   | %               | 4,0 ↓    | 11,5 ↓  | 20 - 44               |
| Monócitos         | $\times 10^9/l$ | 1,19 ↑   | 0,70    | 0,00 - 0,90           |
|                   | %               | 1,0 ↓    | 3,0     | 2 - 9                 |
| Metamielócitos    | $\times 10^9/l$ | 19,67 ↑  | 0,12 ↑  |                       |
|                   | %               | 16,5 ↑   | 0,5 ↑   |                       |
| Mielócitos        | $\times 10^9/l$ | 22,65 ↑  | 0,12 ↑  |                       |
|                   | %               | 19,0 ↑   | 0,5 ↑   |                       |
| Promielócitos     | $\times 10^9/l$ | 2,98 ↑   | 0,0     |                       |
|                   | %               | 2,5 ↑    | 0,0     |                       |
| Células blásticas | $\times 10^9/l$ | 5,36 ↑   | 17,88 ↑ |                       |
|                   | %               | 4,5 ↑    | 77,0 ↑  |                       |

| PLAQUETOGRAMA |                 | 2017 | 2018 | Valores de Referência |
|---------------|-----------------|------|------|-----------------------|
| Plaquetas     | $\times 10^9/l$ | 359  | 33 ↓ | 150 - 400             |

| HEMÓSTASE |   | 2017 | 2018   | Valores de Referência |
|-----------|---|------|--------|-----------------------|
| PT        | s | -    | 15,4 ↑ | 12,4 - 15,2           |
| INR       |   | -    | 1,08   | 0,9 - 1,2             |
| aPTT      | s | -    | 24,1 ↓ | 24,6 - 31,8           |

↑, valor aumentado; ↓, valor diminuído.

aPTT, tempo de tromboplastina parcial ativada; CHGM, concentração de hemoglobina globular média; HGM, hemoglobina globular média; INR, International Normalized Ratio; PT, tempo de protrombina; VGM, volume globular médio; RDW, Amplitude de distribuição dos eritrócitos.

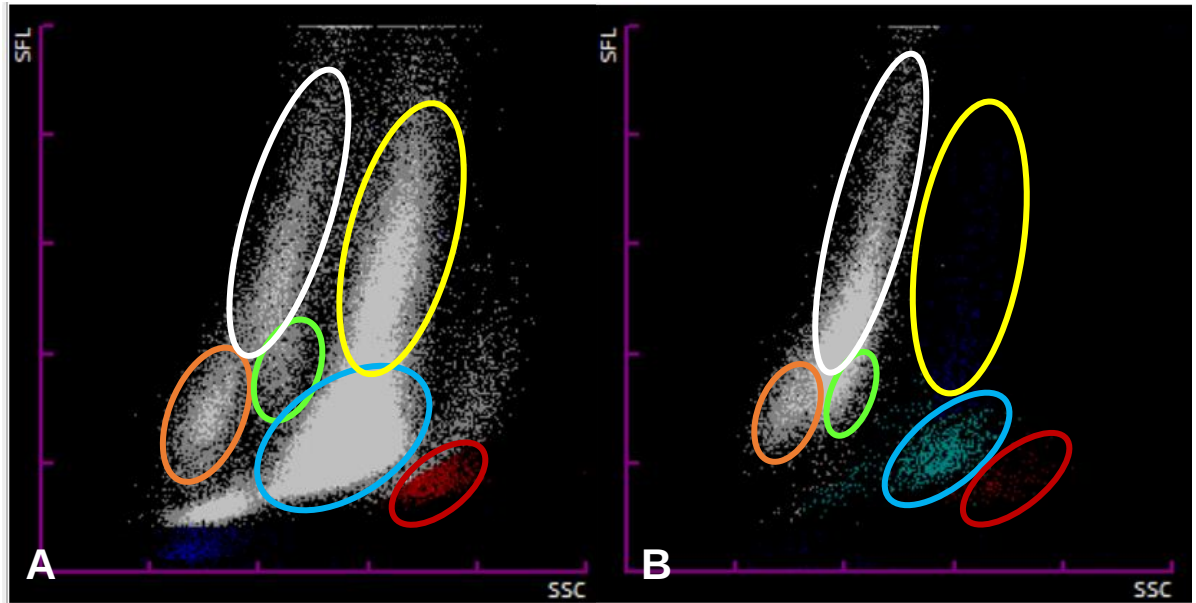


Figura 35 - Gráfico de dispersão obtido no canal DIFF. (A) Fase crônica. (B) Fase blástica.

Círculo laranja: linfócitos; verde: monócitos; azul: neutrófilos; vermelho: eosinófilos; amarelo: granulócitos imaturos; e branco: blastos.

SFL, fluorescência lateral; SSC, dispersão lateral.

## Análises - Bioquímica

Tabela 11 - Resultados da avaliação bioquímica atuais, na fase blástica.

| BIOQUÍMICA        |        |        | Valores de Referência |  |
|-------------------|--------|--------|-----------------------|--|
| Glicose           | mg/dl  | 65 ↓   | 76 - 115              |  |
| Ureia             | mg/dl  | 30,6   | 9,6 - 49,8            |  |
| Creatinina        | mg/dl  | 1,18 ↑ | 0,51 - 0,95           |  |
| Ácido Úrico       | mg/dl  | 8,8 ↑  | 2,4 - 7,0             |  |
| Bilirrubina Total | mg/dl  | 0,76   | <1                    |  |
| GPT/ALT           | U/l    | 18     | <42                   |  |
| LDH               | U/l    | 1941 ↑ | 67 - 248              |  |
| Sódio             | mmol/l | 141    | 135 - 145             |  |
| Potássio          | mmol/l | 3,8    | 3,8 - 5,0             |  |
| Clóretos          | mmol/l | 107    | 101 - 109             |  |

↑, valor aumentado; ↓, valor diminuído.

ALT, alanina aminotransferase; LDH, lactato desidrogenase.

## Estudo Citogenético

Material enviado: Sangue periférico

Cariotipo do sangue periférico

Técnica: Bandas cromossômicas após cultura direta e de 48 horas.

Resultado: 56, XY, +X, +4, +5, +6, +8, +8, t(9;22)(q34;q11,2), +der(12)t(1;12)(q25;p13), +14, +21, +der(22)t(9;22).

Conclusão: As 20 metáfases analisadas apresentam, para além da translocação t(9;22)(q34;q11,2) anteriormente detetada, múltiplas alterações cromossómicas adicionais. Este cariótipo é compatível com crise blástica de LMC.

### Estudo Molecular

Material enviado: Medula óssea.

Mutações pontuais no gene de fusão *BCR-ABL1*

Técnica: Sequenciação de Sanger do domínio da cinase do gene *ABL1* (exões 4 a 9).

Resultado: Não foram detetadas mutações no domínio de cinase do gene de fusão *BCR-ABL1*. Variantes sem relevância clínica.

Conclusão: Pela técnica utilizada não foram detetadas, na amostra enviada, mutações no gene de fusão *BCR-ABL1*.

### Mielograma

Tabela 12 - Resultados do mielograma atual, na fase blástica.

|                     |                       |  |
|---------------------|-----------------------|--|
| <b>Diagnóstico</b>  | LMC em crise blástica |  |
| <b>Local</b>        | Esterno               |  |
| <b>Colheita</b>     | Difícil               |  |
| <b>Celularidade</b> | Hiper celular         |  |

|                         |   |      |
|-------------------------|---|------|
| <b>Blastos</b>          | % | 95,5 |
| <b>Promielócitos</b>    | % | 0,5  |
| <b>Metamielócitos</b>   | % | 1,5  |
| <b>Neutrófilos</b>      | % | 0,5  |
| <b>Proeritroblastos</b> | % | 2,0  |

LMC, leucemia mieloide crônica.

Observação: Aspirado medular com fragmentos, presença de infiltrado homogéneo de células blásticas, com cromatina laxa e relação elevada núcleo/citoplasma, sem nucléolo, com escasso citoplasma crescente, por vezes com vacúolos.

Conclusão: leucemia aguda, a caracterizar melhor pelos estudos citogenéticos e moleculares.

Observação microscópica

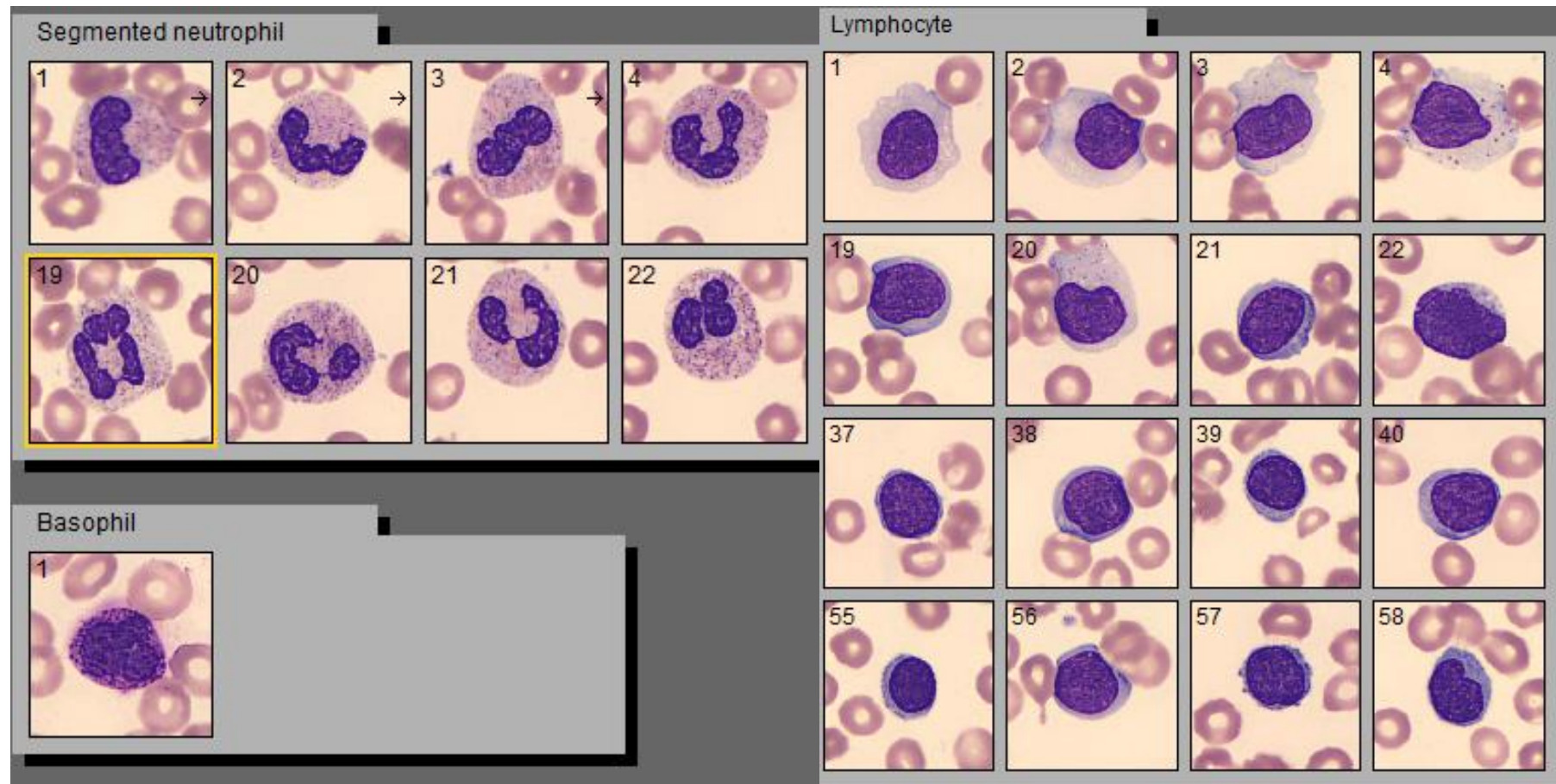


Figura 36 - Diferentes leucócitos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica em fase blástica.

Ampliação: 1000x.

## Leucemia mieloide crónica

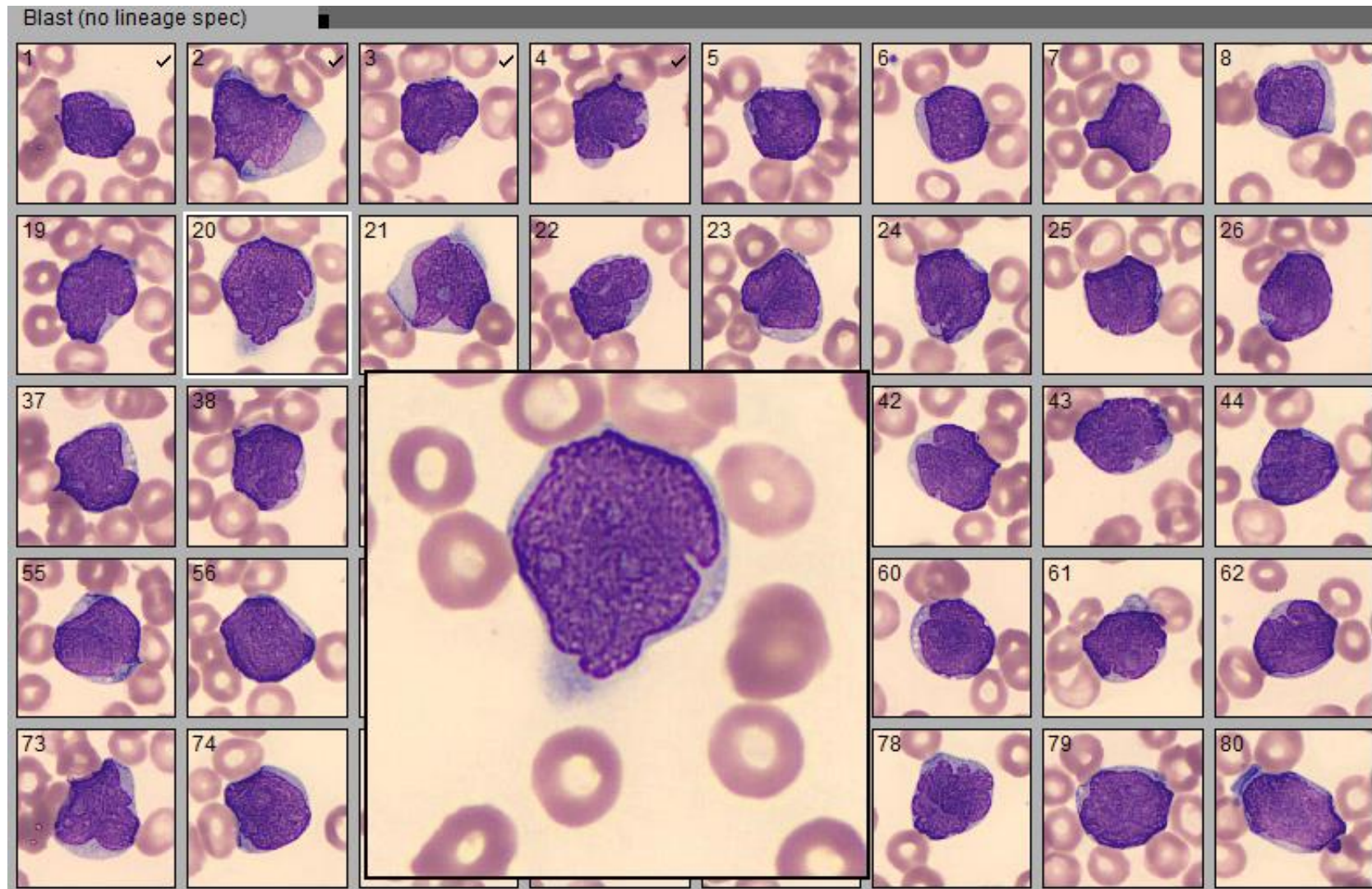


Figura 37 - Diferentes blastos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica em fase blástica.

Ampliação: 1000x.

## Discussão

Trata-se de um caso de LMC em que, após diagnóstico de LMC na fase crónica houve, aproximadamente um ano depois, progressão para fase blástica.

A LMC foi diagnosticada após um exame laboratorial, devido a queixas de astenia prolongada, onde se observou leucocitose, com desvio à esquerda e basofilia.

O doente não apresentava antecedentes que pudessem indicar a ocorrência de LMC, e no exame físico não foram detetadas adenopatias, contudo apresentava hepatoesplenomegalia.

O hemograma indicava anemia normocrómica normocítica, leucocitose com neutrofilia, basofilia e precursores granulocíticos. Os restantes parâmetros encontravam-se dentro dos valores de referência.

Os estudos citogenéticos e moleculares permitiram fazer o diagnóstico de LMC, na fase crónica. O doente iniciou tratamento com imatinib.

Decorrido cerca de um ano, as novas análises indicavam anemia normocrómica normocítica, trombocitopenia, leucocitose, embora menos marcada que na fase crónica, com neutropenia e com um elevado número de blastos (superior a 20%), indicativo de progressão para fase blástica, de leucemia aguda.

A observação do esfregaço sanguíneo permitiu confirmar o elevado número de blastos e todas as outras alterações do hemograma.

O estudo bioquímico evidenciou um aumento da LDH, indicador da elevada proliferação celular, característica da LMC.

A análise citogenética indicou a presença de múltiplas alterações cromossómicas adicionais, nas células com cromossoma Ph (t(9;22)(q34;q11,2)), o que mostra a instabilidade genética das células neoplásicas.

A análise de genética molecular não evidenciou outras de mutações no domínio *ABL1* da proteína de fusão *BCR-ABL1*.

O mielograma indicava a presença de um elevado número de células blásticas na medula óssea.

Todos estes achados laboratoriais permitiram o diagnóstico de LMC, na fase blástica. Todavia, será necessário realizar estudos de citotóxica e/ou imunofenotipagem das células blásticas, para determinar a linhagem dos blastos.

### 9.3 Caso 3

Gentilmente cedido pelo Dr. Orlando Silva, diretor técnico do laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião

Doente do gênero feminino, de 89 anos de idade, seguida em consulta de Hematologia após diagnóstico de LMC. Encontra-se a fazer terapêutica com hidroxiureia, após suspensão da terapêutica com imatinib, por intolerância.

#### Exames laboratoriais

Tabela 13 - Resultados do hemograma do doente com leucemia mieloide crônica.

| ERITROGRAMA                        |                    | Valores de Referência |             |
|------------------------------------|--------------------|-----------------------|-------------|
| Eritrócitos ( $\times 10^{12}/l$ ) | $\times 10^{12}/l$ | 4,80                  | 3,80 - 5,80 |
| Hemoglobina (g/dl)                 | g/dl               | 14,2                  | 11,5 - 16,5 |
| Hematócrito (l/l)                  | l/l                | 0,45                  | 0,37 - 0,47 |
| VGM (fl)                           | fl                 | 93,4                  | 76,0 - 96,0 |
| HGM (pg)                           | pg                 | 29,7                  | 27,0 - 32,0 |
| CHGM (g/dl)                        | g/dl               | 31,8                  | 30,0 - 36,0 |

| LEUCOGRAMA     |                 | Valores de Referência |             |
|----------------|-----------------|-----------------------|-------------|
| Leucócitos     | $\times 10^9/l$ | 24,7 ↑                | 4,0 - 11,0  |
| Neutrófilos    | $\times 10^9/l$ | 17,78 ↑               | 2,00 - 7,50 |
|                | %               | 72 ↑                  | 50 - 70     |
| Eosinófilos    | $\times 10^9/l$ | 0,49                  | 0,00 - 0,60 |
|                | %               | 2                     | 0 - 4       |
| Basófilos      | $\times 10^9/l$ | 1,73 ↑                | 0,00 - 0,20 |
|                | %               | 7 ↑                   | 0 - 2       |
| Linfócitos     | $\times 10^9/l$ | 2,72                  | 1,20 - 3,40 |
|                | %               | 11 ↓                  | 20 - 44     |
| Monócitos      | $\times 10^9/l$ | 0,99 ↑                | 0,00 - 0,90 |
|                | %               | 4                     | 2 - 9       |
| Metamielócitos | $\times 10^9/l$ | 0,25 ↑                |             |
|                | %               | 1 ↑                   |             |
| Mielócitos     | $\times 10^9/l$ | 0,74 ↑                |             |
|                | %               | 3 ↑                   |             |

| PLAQUETOGRAMA                 |                 | Valores de Referência |           |
|-------------------------------|-----------------|-----------------------|-----------|
| Plaquetas ( $\times 10^9/l$ ) | $\times 10^9/l$ | 620 ↑                 | 150 - 400 |

↑, valor aumentado; ↓, valor diminuído.

VGM, volume globular médio; HGM, hemoglobina globular média; CHGM, concentração de hemoglobina globular média.

Na análise do esfregaço sanguíneo, observou-se leucocitose, neutrofilia, presença de precursores com diferentes estádios de maturação, basofilia, trombocitose, com aparecimento de plaquetas gigantes. Também se observou hipersegmentação dos neutrófilos (secundário ao tratamento).

Observação microscópica

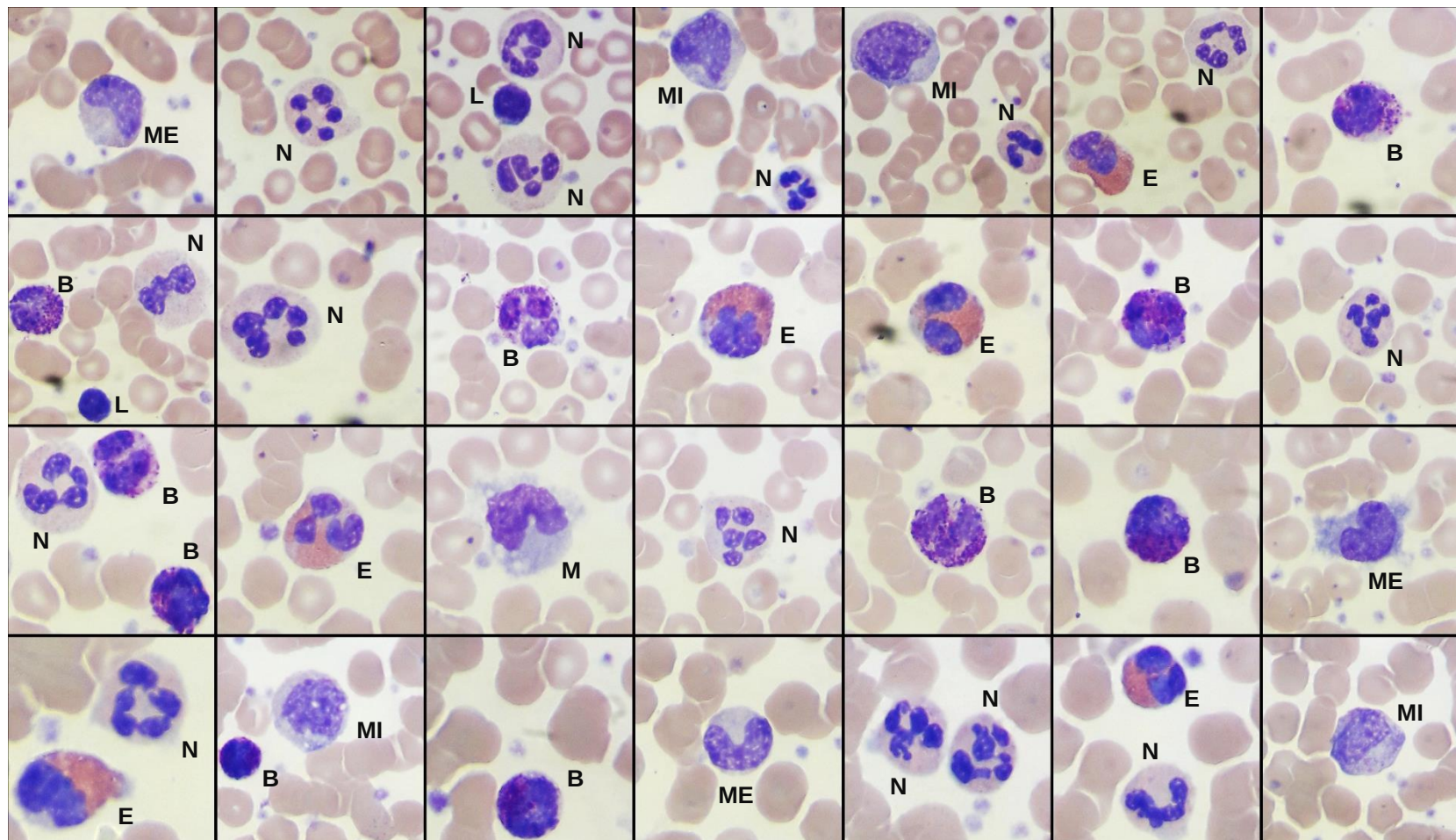


Figura 38 - Diferentes leucócitos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica.

MI, mielócitos; ME, metamielócitos; N, neutrófilos; B, basófilos; E, eosinófilos; L, linfócitos; M, monócitos.

Ampliação: 1000x.

## **Discussão**

Trata-se de um caso de LMC em fase acelerada.

A doente, após ter sido diagnosticada com LMC, iniciou o tratamento com imatinib, tendo-se mostrado intolerante. Iniciou-se, então, o tratamento com hidroxiureia.

A análise do hemograma evidenciou trombocitose e leucocitose com neutrofilia, basofilia e presença de precursores mieloides.

A análise do esfregaço sanguíneo confirmou leucocitose, neutrofilia (com neutrófilos hipersegmentados), precursores granulocíticos, basofilia e trombocitose.

Por não serem conhecidos mais dados da história da doente, não é possível concluir se a progressão da LMC para fase acelerada se deve à interrupção do tratamento com imatinib ou à ausência de resposta ao tratamento com hidroxiureia.

## **Referências**

1. Liesveld JL, Lichtman MA. Chronic Myelogenous Leukemia and Related Disorders. In: Kaushansky K, Prchal JT, Press OW, Lichtman MA, Levi M, Burns LJ, et al., editors. Williams Hematology. 9th ed: McGraw-Hill Education; 2016. p. 1437-90.
2. Bain BJ. Chronic Myeloid Leukaemias. Leukaemia Diagnosis. 5th ed: John Wiley & Sons; 2017. p. 371-416.
3. Yeung DTO, Hughes TP. Chronic myeloid leukaemia. In: Hoffbrand V, Higgs DR, Keeling DM, Mehta AB, editors. Postgraduate Haematology. 7th ed: John Wiley & Sons; 2016. p. 419-37.
4. Finnegan K. Chronic Myeloproliferative Disorders. In: Ciesla B, editor. Hematology in Practice. 2nd ed: F. A. Davis Company; 2012. p. 189-206.
5. Quintás-Cardama A, Cortes J, Kantarjian H, O'Brien S. Chronic myelogenous leukemia. In: Provan D, Gribben JG, editors. Molecular Hematology. 3rd ed: John Wiley & Sons; 2010. p. 76-88.
6. Hoffbrand AV, Moss PAH. Chronic myeloid leukaemia. Hoffbrand's Essential Haematology. 7th ed: John Wiley & Sons; 2016. p. 156-64.
7. Apperley JF. Chronic myeloid leukaemia. The Lancet. 2015;385(9976):1447-59.
8. Fuente J, Baruchel A, Biondi A, Bont E, Dresse MF, Suttorp M, et al. Managing children with chronic myeloid leukaemia (CML). Br J Haematol. 2014;167(1):33-47.
9. Ren R. Mechanisms of BCR-ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia. Nat Rev Cancer. 2005;5(3):172-83.
10. Hochhaus A, Saussele S, Rosti G, Mahon FX, Janssen JJWM, Hjorth-Hansen H, et al. Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2017;28(Suppl 4):iv41-iv51.
11. Savona M, Talpaz M. Getting to the stem of chronic myeloid leukaemia. Nat Rev Cancer. 2008;8(5):341-50.
12. Jeroen JJWM, Gerrit JS, Monique T, Gerrit JO. Towards Cure of CML: Why We Need to Know More About CML Stem Cells? Curr Stem Cell Res Ther. 2009;4(3):224-36.
13. Mohamed Anwar N, Koppitch F, Varterasian M, Karanes C, Yao KL, Sarkar FH. BCR/ABL fusion located on chromosome 9 in chronic myeloid leukemia with a masked Ph chromosome. Genes Chromosomes Cancer. 2006;13(2):133-7.
14. Radich JP, Dai H, Mao M, Oehler V, Schelter J, Druker B, et al. Gene expression changes associated with progression and response in chronic myeloid leukemia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(8):2794-9.
15. Chronic myelogenous leukemia: Mayo Foundation for Medical Education and Research; 2016 [Available from: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/chronic-myelogenous-leukemia/symptoms-causes/syc-20352417>]
16. Goldman JM, Melo JV. BCR-ABL in Chronic Myelogenous Leukemia – How Does It Work? Acta Haematol. 2008;119(4):212-7.
17. Vardiman JW. Chronic Myelogenous Leukemia, BCR-ABL1+. Am J Clin Pathol. 2009;132(2):250-60.
18. Kantarjian HM, Talpaz M, Giles F, O'Brien S, Cortes J. New insights into the pathophysiology of chronic myeloid leukemia and imatinib resistance. Ann Intern Med. 2006;145(12):913-23.
19. Walz C, Sattler M. Novel targeted therapies to overcome imatinib mesylate resistance in chronic myeloid leukemia (CML). Crit Rev Oncol Hematol. 2006;57(2):145-64.
20. Hunter T. Treatment for chronic myelogenous leukemia: the long road to imatinib. J Clin Invest. 2007;117(8):2036-43.
21. Steelman LS, Pohnert SC, Shelton JG, Franklin RA, Bertrand FE, McCubrey JA. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. Leukemia. 2004;18(2):189-218.
22. Datta SR, Brunet A, Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Akts. Genes Dev. 1999;13(22):2905-27.

23. Hazlehurst LA, Bewry NN, Nair RR, Pinilla-Ibarz J. Signaling Networks Associated with BCR–ABL–Dependent Transformation. *Cancer Control*. 2009;16(2):100-7.
24. Goff DJ, Recart AC, Sadarangani A, Chun H-J, Barrett CL, Krajewska M, et al. A pan-BCL2 inhibitor renders bone marrow resident human leukemia stem cells sensitive to tyrosine kinase inhibition. *Cell stem cell*. 2013;12(3):316-28.
25. Naka K, Hoshii T, Tadokoro Y, Hirao A. Molecular pathology of tumor-initiating cells: Lessons from Philadelphia chromosome-positive leukemia. *Pathol Int*. 2011;61(9):501-8.
26. Hoffbrand AV, Pettit JE, Vyas P. Chronic Myeloid Leukemias and Myelomonocytic/Myeloproliferative Disorders. *Color atlas of clinical hematology*. 4th ed: Elsevier Ltd.; 2002. p. 233-42.
27. Inokuchi K, Yamaguchi H, Tarusawa M, Futaki M, Hanawa H, Tanosaki S, et al. Abnormality of c-kit oncoprotein in certain patients with chronic myelogenous leukemia – potential clinical significance. *Leukemia*. 2002;16:170-7.
28. Sakurai M, Sandberg AA. The chromosomes and causation of human cancer and leukemia. XVIII. The missing  $\gamma$  in acute myeloblastic leukemia (aml) and Ph1-positive chronic myelocytic leukemia (CML). *Cancer*. 2006;38(2):762-9.
29. Melo JV, Deininger MWN. Biology of chronic myelogenous leukemia—signaling pathways of initiation and transformation. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2004;18(3):545-68.
30. Boultonwood J, Peniket A, Watkins F, Shepherd P, McGale P, Richards S, et al. Telomere length shortening in chronic myelogenous leukemia is associated with reduced time to accelerated phase. *Blood*. 2000;96(1):358-61.
31. Drummond MW, Lennard A, Brûmmendorf TH, Holyoake TL. Telomere Shortening Correlates with Prognostic Score at Diagnosis and Proceeds Rapidly during Progression of Chronic Myeloid Leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2004;45(9):1775-81.
32. Lichtman MA. Classification and Clinical Manifestations of Neutrophil Disorders. In: Kaushansky K, Prchal JT, Press OW, Lichtman MA, Levi M, Burns LJ, et al., editors. *Williams Hematology*. 9th ed: McGraw-Hill Education; 2016. p. 983-9.
33. Löffler H, Rastetter J, Haferlach T. Chronic Myeloid (Granulocytic) Leukemia. *Atlas of Clinical Hematology*. 6th ed: Springer; 2005. p. 144-56.
34. Löffler H, Rastetter J, Haferlach T. Chronic Myeloproliferative Disorders (CMPD). *Atlas of Clinical Hematology*. 6th ed: Springer; 2005. p. 134-40.
35. Azzato EM, Bagg A. Molecular genetic evaluation of myeloproliferative neoplasms. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(Suppl 1):61-71.
36. Mughal T, Goldman J. Molecularly targeted treatment of chronic myeloid leukemia: Beyond the imatinib era 2006. 209-20 p.
37. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, Tura S, Gomez GA, Robertson JE, et al. Prognostic discrimination in “good-risk” chronic granulocytic leukemia. *Blood*. 1984;63(4):789-99.
38. Pfirrmann M, Lauseker M, Hoffmann VS, Hasford J. Prognostic scores for patients with chronic myeloid leukemia under particular consideration of competing causes of death. *Ann Hematol*. 2015;94(2):209-18.
39. Provan D, Singer CRJ, Baglin T, Dokal I. *Oxford Handbook of Clinical Haematology*. 3rd ed: Oxford University Press; 2009.
40. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, Allan NC, Baccarani M, Kluin-Nelemans JC, et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90(11):850-8.
41. Passweg JR, Walker I, Sobocinski KA, Klein JP, Horowitz MM, Giralto SA. Validation and extension of the EBMT Risk Score for patients with chronic myeloid leukaemia (CML) receiving allogeneic haematopoietic stem cell transplants. *Br J Haematol*. 2004;125(5):613-20.
42. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, Baccarani M, Guilhot F, Mahon FX, et al. Prognosis and prognostic factors for patients with chronic myeloid leukemia: Nontransplant therapy. *Semin Hematol*. 2003;40(1):4-12.

43. Hasford J, Baccarani M, Hoffmann V, Guilhot J, Saussele S, Rosti G, et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood*. 2011;118(3):686-92.
44. Deininger M. Resistance and relapse with imatinib in CML: Causes and consequences. *J Natl Compr Canc Netw*. 2008;6(Suppl 2):S11-S21.
45. Druker BJ. Imatinib as a Paradigm of Targeted Therapies. *Adv Cancer Res*. 91: Academic Press; 2004. p. 1-30.
46. Castagnetti F, Testoni N, Luatti S, Marzocchi G, Mancini M, Kerim S, et al. Deletions of the Derivative Chromosome 9 Do Not Influence the Response and the Outcome of Chronic Myeloid Leukemia in Early Chronic Phase Treated With Imatinib Mesylate: GIMEMA CML Working Party Analysis. *J Clin Oncol*. 2010;28(16):2748-54.
47. Kanda Y, Okamoto S, Tauchi T, Kizaki M, Inokuchi K, Yabe M, et al. Multicenter prospective trial evaluating the tolerability of imatinib for Japanese patients with chronic myelogenous leukemia in the chronic phase: Does body weight matter? *Am J Hematol*. 2008;83(11):835-9.
48. Guilhot F. Indications for Imatinib Mesylate Therapy and Clinical Management. *Oncologist*. 2004;9(3):271-81.
49. Latagliata R, Breccia M, Carmosino I, Sarlo C, Montefusco E, Mancini M, et al. Elderly patients with Ph+ chronic myelogenous leukemia (CML): results of imatinib mesylate treatment. *Leuk Res*. 2005;29(3):287-91.
50. Cortes J, Talpaz M, O'Brien S, Giles F, Beth Rios M, Shan J, et al. Effects of age on prognosis with imatinib mesylate therapy for patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia. *Cancer*. 2003;98(6):1105-13.
51. Shah NP, Tran C, Lee FY, Chen P, Norris D, Sawyers CL. Overriding Imatinib Resistance with a Novel ABL Kinase Inhibitor. *Science*. 2004;305(5682):399-401.
52. Quintás-Cardama A, Choi S, Kantarjian H, Jabbour E, Huang X, Cortes J. Predicting outcomes in patients with chronic myeloid leukemia at any time during tyrosine kinase inhibitor therapy. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014;14(4):327-34.
53. Sweet K, Zhang L, Pinilla-Ibarz J. Biomarkers for determining the prognosis in chronic myelogenous leukemia. *Journal of Hematology & Oncology*. 2013;6:54-.
54. Weisberg E, Manley P, Mestan J, Cowan-Jacob S, Ray A, Griffin JD. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL. *Br J Cancer*. 2006;94(12):1765-9.
55. Cortes JE, Kim D-W, Kantarjian HM, Brümmendorf TH, Dyagil I, Griskevicius L, et al. Bosutinib Versus Imatinib in Newly Diagnosed Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia: Results From the BELA Trial. *J Clin Oncol*. 2012;30(28):3486-92.
56. Akard LP, Albitar M, Hill CE, Pinilla-Ibarz J. The "hit hard and hit early" approach to the treatment of chronic myeloid leukemia: Implications of the updated national comprehensive cancer network clinical practice guidelines for routine practice. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2013;11(7):421-32.
57. Kantarjian H, Pasquini R, Hamerschlak N, Rousselot P, Holowiecki J, Jootar S, et al. Dasatinib or high-dose imatinib for chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of first-line imatinib: a randomized phase 2 trial. *Blood*. 2007;109(12):5143-50.
58. Ibrahim AR, Paliompeis C, Bua M, Milojkovic D, Szydlo R, Khorashad JS, et al. Efficacy of tyrosine kinase inhibitors (TKIs) as third-line therapy in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase who have failed 2 prior lines of TKI therapy. *Blood*. 2010;116(25):5497-500.
59. Melo JV. Resistance to imatinib mesylate in CML: all BCR-ABL mutations "are created equal but some are more equal than others". *Blood*. 2003;101(11):4231.
60. Jiang X, Zhao Y, Forrest D, Smith C, Eaves A, Eaves C. Stem Cell Biomarkers in Chronic Myeloid Leukemia. *Dis Markers*. 2008;24(4-5):201-16.
61. Barnes DJ, Melo JV. Primitive, Quiescent and Difficult to Kill: The Role of Non-Proliferating Stem Cells in Chronic Myeloid Leukemia. *Cell Cycle*. 2006;5(24):2862-6.
62. Cortes JE, Kim DW, Pinilla-Ibarz J, le Coutre P, Paquette R, Chuah C, et al. A Phase 2 Trial of Ponatinib in Philadelphia Chromosome-Positive Leukemias. *N Engl J Med*. 2013;369(19):1783-96.

63. Khorashad JS, Kelley TW, Szankasi P, Mason CC, Soverini S, Adrian LT, et al. BCR-ABL1 compound mutations in tyrosine kinase inhibitor-resistant CML: frequency and clonal relationships. *Blood*. 2013;121(3):489-98.
64. de Lavallade H, Khorashad JS, Davis HP, Milojkovic D, Kaeda JS, Goldman JM, et al. Interferon- $\alpha$  or homoharringtonine as salvage treatment for chronic myeloid leukemia patients who acquire the T315I BCR-ABL mutation. *Blood*. 2007;110(7):2779-80.
65. Deininger MWN. Cytogenetic studies in patients on imatinib. *Semin Hematol*. 2003;40(Suppl 2):50-5.
66. McFarland JT, Kuzma C, Millard FE, Johnstone PA. Palliative irradiation of the spleen. *Am J Clin Oncol*. 2003;26(2):178-83.
67. Mesa RA, Elliott MA, Tefferi A. Splenectomy in chronic myeloid leukemia and myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood Rev*. 2000;14(3):121-9.
68. Giles FJ, Cortes JE, Kantarjian HM, O'Brien SM. Accelerated and blastic phases of chronic myelogenous leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2004;18(3):753-74.

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

# **RELATÓRIO DE ESTÁGIO**

## **Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, Lda.**

Relatório de estágio realizado no âmbito do curso de Mestrado em  
Análises Clínicas, da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Estágio realizado sob orientação do Dr. José Orlando da Silva, Diretor  
Técnico Farmacêutico Especialista em Análises Clínicas

Ana Beatriz Gonçalves da Cunha  
Porto, 2018

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

## **Agradecimentos**

Queria começar por agradecer ao Dr. Orlando Silva por me ter aceite no laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, e por toda a ajuda e dedicação. Queria também agradecer a toda a equipa de trabalho do laboratório, em especial à Sandra Fernandes, por toda a compreensão, atenção e carinho. Tornaram o meu estágio numa oportunidade única de aprendizagem e levarei estes conhecimentos sempre comigo.

Queria agradecer à Dr.<sup>a</sup> Alexandra Correia e ao Professor Manuel Vilanova por toda a ajuda e carinho que me têm demonstrado ao longo do tempo. Vocês estão sempre do meu lado e não existem palavras que expliquem o quão agradecida eu estou por tudo o que fizeram por mim.

Queria também agradecer à minha família e amigos, especialmente aos meus pais e namorado, por toda o carinho e compreensão durante este estágio. Eu sei que nem sempre fui fácil, mas vocês nunca me deixaram desistir e mostraram-me sempre como voltar a confiar em mim. Vocês foram a minha força.

A todos, um **muito** obrigada!

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

## **Resumo**

Pretende-se com este relatório de estágio descrever, de forma sucinta, todo o trabalho desenvolvido ao longo do meu estágio no laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, Lda., em Vila das Aves, no âmbito do estágio final para a obtenção do grau de mestre em Análises Clínicas pela Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

O relatório está dividido pelas diversas valências, onde refiro, em cada uma, as determinações que pude acompanhar/executar, os equipamentos utilizados, alguns exemplos e as minhas dificuldades em cada área.

São também abordados, neste relatório, os estágios completos que realizei no Instituto Português de Oncologia do Porto e no Centro Hospitalar do Porto, e apresentados casos clínicos e um estudo bacteriológico.

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

## Índice

|                                                               |             |
|---------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Agradecimentos .....</b>                                   | <b>i</b>    |
| <b>Resumo .....</b>                                           | <b>iii</b>  |
| <b>Índice.....</b>                                            | <b>v</b>    |
| <b>Índice de Figuras.....</b>                                 | <b>vii</b>  |
| <b>Índice de tabelas .....</b>                                | <b>xi</b>   |
| <b>Lista de abreviaturas e símbolos .....</b>                 | <b>xiii</b> |
| <b>1. Conceção geral .....</b>                                | <b>1</b>    |
| 1.1. Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião ..... | 2           |
| <b>2. Fase pré-analítica.....</b>                             | <b>5</b>    |
| <b>3. Bioquímica.....</b>                                     | <b>7</b>    |
| 3.1. Parâmetros bioquímicos e endocrinológicos .....          | 7           |
| 3.2. Eletroforese.....                                        | 12          |
| 3.3. Hemoglobina glicada.....                                 | 14          |
| 3.4. Pesquisa de sangue oculto .....                          | 17          |
| 3.5. Dificuldades .....                                       | 18          |
| <b>4. Hematologia .....</b>                                   | <b>20</b>   |
| 4.1. Hemograma .....                                          | 21          |
| 4.2. Esfregaço sanguíneo .....                                | 22          |
| 4.3. Grupo sanguíneo .....                                    | 29          |
| 4.4. Reação de Coombs .....                                   | 32          |
| 4.5. Velocidade de sedimentação .....                         | 33          |
| 4.6. Estudo da hemostase .....                                | 34          |
| 4.7. Dificuldades .....                                       | 36          |
| <b>5. Imunologia.....</b>                                     | <b>38</b>   |
| 5.1. Determinação quantitativa das imunoglobulinas .....      | 38          |
| 5.2. Alergologia e autoimunidade.....                         | 38          |
| <b>6. Microbiologia.....</b>                                  | <b>41</b>   |
| 6.1. Urina do tipo II.....                                    | 42          |

|                                                                        |                                                               |           |
|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------|
| 6.2.                                                                   | Sedimento urinário .....                                      | 43        |
| 6.3.                                                                   | Cultura das amostras .....                                    | 46        |
| 6.4.                                                                   | Identificação de bactérias e realização de antibiogramas..... | 56        |
| 6.5.                                                                   | Virologia.....                                                | 57        |
| 6.6.                                                                   | Parasitologia .....                                           | 58        |
| 6.7.                                                                   | Testes manuais para a deteção de Sífilis .....                | 59        |
| 6.8.                                                                   | Dificuldades .....                                            | 62        |
| <b>7.</b>                                                              | <b>Outros testes .....</b>                                    | <b>63</b> |
| 7.1.                                                                   | Pesquisa de drogas de abuso na urina .....                    | 63        |
| <b>8.</b>                                                              | <b>Fase pós-analítica .....</b>                               | <b>65</b> |
| <b>9.</b>                                                              | <b>Casos clínicos .....</b>                                   | <b>67</b> |
| 9.1.                                                                   | Caso 1 .....                                                  | 67        |
| 9.2.                                                                   | Caso 2 .....                                                  | 70        |
| 9.3.                                                                   | Caso 3 .....                                                  | 73        |
| <b>10.</b>                                                             | <b>Estudo bacteriológico.....</b>                             | <b>76</b> |
| <b>11.</b>                                                             | <b>Estágio complementar .....</b>                             | <b>82</b> |
| <b>12.</b>                                                             | <b>Conclusão.....</b>                                         | <b>83</b> |
| <b>Anexos .....</b>                                                    | <b>84</b>                                                     |           |
| Anexo 1 - Sumários .....                                               | 84                                                            |           |
| Anexo 2 - Estrutura do laboratório .....                               | 96                                                            |           |
| Anexo 3 - Fase pré-analítica .....                                     | 97                                                            |           |
| Anexo 4 - Exemplo de uma folha de colheita .....                       | 101                                                           |           |
| Anexo 5 - Exemplo das etiquetas.....                                   | 101                                                           |           |
| Anexo 6 - Total de análises em cada aparelho .....                     | 102                                                           |           |
| Anexo 7 - Declaração de autorização utilização de dados pessoais ..... | 103                                                           |           |
| <b>Referências.....</b>                                                | <b>104</b>                                                    |           |

## Índice de Figuras

|                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Representação esquemática da distribuição do tempo de estágio em cada área, num total de 68 dias. ....                    | 1  |
| Figura 2 - Localização do Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião. ....                                                   | 2  |
| Figura 3 - Representação gráfica do número total de amostras realizadas no laboratório durante o estágio, nas diferentes áreas. .... | 3  |
| Figura 4 - Determinações efetuadas na valência da Bioquímica e Endocrinologia. ....                                                  | 7  |
| Figura 5 - Cobas c501®. ....                                                                                                         | 8  |
| Figura 6 - Cobas e411®. ....                                                                                                         | 9  |
| Figura 7 - Diferentes parâmetros determinados nos diferentes autoanalisadores Cobas e411®. ....                                      | 10 |
| Figura 8 - Vidas®. ....                                                                                                              | 11 |
| Figura 9 - Minicap®. ....                                                                                                            | 12 |
| Figura 10 - Representação de um perfil normal de eletroforese capilar de proteínas séricas. ....                                     | 13 |
| Figura 11 - Representação de um perfil de eletroforese capilar de proteínas séricas com um pico na zona gama. ....                   | 14 |
| Figura 12 - ADAMS A1c HA-8160®. ....                                                                                                 | 15 |
| Figura 13 - Resultado da cromatografia para determinação de hemoglobina glicada normal. ....                                         | 16 |
| Figura 14 - Resultado da cromatografia para determinação de hemoglobina glicada. ....                                                | 16 |
| Figura 15 - Exemplo de um resultado negativo para a presença de hemoglobina nas fezes. ....                                          | 18 |
| Figura 16 - Exemplo de um resultado positivo para a presença de hemoglobina nas fezes. ....                                          | 18 |
| Figura 17 - Determinações efetuadas na área da Hematologia. ....                                                                     | 20 |
| Figura 18 - Sysmex XT-1800i®. ....                                                                                                   | 21 |
| Figura 19 - Parâmetros hematológicos determinados pelo Sysmex XT-1800i®. ....                                                        | 22 |
| Figura 20 - Parâmetros a ter em conta durante a observação microscópica de um esfregaço sanguíneo. ....                              | 23 |
| Figura 21 - Exemplo de uma lâmina de um esfregaço sanguíneo. ....                                                                    | 24 |
| Figura 22 - Variação plaquetária observada no meu esfregaço sanguíneo. ....                                                          | 24 |
| Figura 23 - Diferentes leucócitos observados no meu esfregaço sanguíneo. ....                                                        | 25 |
| Figura 24 - Esfregaço de sangue periférico de um doente com tricoleucemia. ....                                                      | 26 |

|                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 25 - Esfregaço de sangue periférico de um doente com leucemia linfocítica crónica. ....                    | 27 |
| Figura 26 - Diferentes leucócitos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica. .... | 28 |
| Figura 27 - Exemplo da determinação do grupo sanguíneo, em placa. ....                                            | 31 |
| Figura 28 - Exemplo da determinação do grupo sanguíneo, em card. ....                                             | 31 |
| Figura 29 - Exemplo de três provas de Coombs indireta. ....                                                       | 33 |
| Figura 30 - Vesmatic 30®.....                                                                                     | 34 |
| Figura 31 - Sta Compact®.....                                                                                     | 36 |
| Figura 32 - Determinações efetuadas na área da Imunologia.....                                                    | 38 |
| Figura 33 - Autoanalisador ImmunoCAP®.....                                                                        | 39 |
| Figura 34 - Determinações efetuadas na área da Microbiologia. ....                                                | 41 |
| Figura 35 - Urisys 2400®.....                                                                                     | 42 |
| Figura 36 - Boletim analítico de uma infeção urinária por <i>Escherichia coli</i> .....                           | 44 |
| Figura 37 - Células renais tubulares. ....                                                                        | 44 |
| Figura 38 - Cristais de oxalato de cálcio. ....                                                                   | 45 |
| Figura 39 - Cristais de ácido úrico. ....                                                                         | 45 |
| Figura 40 - Fluxograma para execução de exame bacteriológico de urina. ....                                       | 46 |
| Figura 41 - Placa de cultura de <i>Escherichia coli</i> . ....                                                    | 47 |
| Figura 42 - Placa de cultura de <i>Klensiella pneumoniae</i> . ....                                               | 48 |
| Figura 43 - Placa de cultura de <i>Proteus mirabilis</i> .....                                                    | 48 |
| Figura 44 - Placa de cultura de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                                               | 49 |
| Figura 45 - Fluxograma para execução de exame microbiológico de fezes.....                                        | 50 |
| Figura 46 - Coprocultura.....                                                                                     | 50 |
| Figura 47 - Fluxograma para execução de exame bacteriológico de expetoração....                                   | 51 |
| Figura 48 - Placas de cultura de uma expetoração.....                                                             | 52 |
| Figura 49 - Fluxograma para execução de exame microbiológico de exsudado vaginal.<br>.....                        | 54 |
| Figura 50 - Fluxograma para execução de exame microbiológico de exsudado do ouvido. ....                          | 55 |
| Figura 51 - Placas de cultura de um exsudado auricular. ....                                                      | 55 |
| Figura 52 - Vitek Compact®. ....                                                                                  | 56 |
| Figura 53 - Exame a fresco de fezes. ....                                                                         | 59 |
| Figura 54 - Exame a fresco de fezes. ....                                                                         | 59 |
| Figura 55 - Diferentes resultados obtidos no teste <i>Venereal Disease Research Laboratory</i> .....              | 60 |
| Figura 56 - Determinação do título do anticorpo, em caso de resultado positivo. ....                              | 61 |

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 57 - Exemplo de teste para a deteção de sífilis pela técnica <i>Treponema pallidum</i> haemagglutination.....       | 62 |
| Figura 58 - Testes para pesquisa de drogas de abuso na urina. ....                                                         | 64 |
| Figura 59 - Lista de doenças de declaração obrigatória. ....                                                               | 66 |
| Figura 60 - Boletim analítico da utente (junho/2016).....                                                                  | 67 |
| Figura 61 - Boletim analítico da utente (março/2018). ....                                                                 | 68 |
| Figura 62 - Boletim analítico da utente (junho/2018).....                                                                  | 69 |
| Figura 63 - Boletim analítico do utente (maio/2016).....                                                                   | 71 |
| Figura 64 - Boletim analítico do utente (março/2018). ....                                                                 | 72 |
| Figura 65 - Boletim analítico do utente (março/2018). ....                                                                 | 74 |
| Figura 66 - Boletim analítico do utente (junho/2018).....                                                                  | 74 |
| Figura 67 - Visão geral do tipo e número das bactérias identificadas nas uroculturas analisadas.....                       | 76 |
| Figura 68 - Representação gráfica da variedade da resposta das diferentes <i>E. coli</i> face aos antibióticos. ....       | 78 |
| Figura 69 - Representação gráfica da variedade da resposta das diferentes <i>K. pneumoniae</i> face aos antibióticos. .... | 79 |
| Figura 70 - Representação gráfica da variedade da resposta das diferentes <i>P. mirabilis</i> face aos antibióticos.....   | 80 |

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*



## **Índice de tabelas**

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Tempo de centrifugação aplicável aos diferentes produtos biológicos.....        | 6  |
| Tabela 2 - Tabela para validação de contagem de colônias semeadas com ansa de 1<br>μl..... | 47 |
| Tabela 3 - Valores críticos dos parâmetros mencionados.....                                | 65 |

*Esta página foi intencionalmente deixada em branco*

## **Lista de abreviaturas e símbolos**

- Ac anti-HBc** - Anticorpos anti-antigénio do core do vírus da hepatite B
- Ac anti-HBe** - Anticorpos anti-antigénio de replicação viral do vírus da hepatite B
- Ac anti-HBs** - Anticorpos anti-antigénio de superfície do vírus da hepatite B
- AgHBc** - Antigénio do core do vírus da hepatite B
- AgHBe** - Antigénio de replicação viral do vírus da hepatite B
- AgHBs** - Antigénio de superfície do vírus da hepatite B
- ANA** - Anticorpos antinucleares
- aPTT** - Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada
- Ac A-TG** - Anticorpo anti-tiroglobulina
- Ac A-TPO** - Anticorpo anti-peroxidase
- BASO** - Basófilos
- CEA** - Antigénio Carcino-Embrionário
- CHGM** - Concentração de hemoglobina globular média
- CQI** - Controlo de Qualidade Interno
- DNA** - Ácido desoxirribonucleico
- EDTA** - Ácido etilenodiamino tetra-acético
- ELFA** - *Enzyme linked fluorescent assay*
- EPEC** - *Escherichia coli* enteropatogénica
- ESBL** - Estirpe produtora de betalactamases de espectro alargado
- FSH** - Hormona folículo-estimulante
- FTA-ABS** - *Fluorescent Treponemal Antibody Absorption*
- Hb** - Concentração de hemoglobina
- HbA1c** - Hemoglobina glicada
- HGB** - Hemoglobina
- HBV** - Vírus da hepatite B
- HCV** - Vírus da hepatite C
- HGM** - Hemoglobina globular média
- HIV** - Vírus da imunodeficiência humana
- HPLC** - *High Performance Liquid Chromatography*
- Ht** - Hematócrito
- Ig** - Imunoglobulinas
- INR** - *International Normalized Ratio*
- INSA** - Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
- IPO** - Instituto Português de Oncologia do Porto

**ISI** - *International Sensitivity Index*

**LES** - Lúpus eritematoso sistémico

**LH** - Hormona luteinizante

**LLA** - Leucemia linfoide aguda

**LLC** - Leucemia linfoide crónica

**LMC** - Leucemia mieloide crónica

**MPV** - Volume plaquetário médio

**PDW** - Amplitude de distribuição das plaquetas

**PLT** - Número de plaquetas

**PNAEQ** - Programa Nacional de Avaliação Externa de Qualidade

**PSA** - Antígeno específico da próstata

**PSO** - Pesquisa de sangue oculto nas fezes

**PT** - Tempo de Protrombina

**PTGO** - Prova de tolerância à glicose oral

**PTH** - Paratormona

**RBC** - Número de eritrócitos

**RDW** - Amplitude de distribuição dos eritrócitos

**RIQAS** - *International Quality Assessment Scheme*

**RNA** - Ácido ribonucleico

**Rpm** - Rotações por minuto

**T3** - Triiodotironina

**T4** - Tiroxina

**TPHA** - *Treponema pallidum haemagglutination*

**TSH** - Hormona estimulante da tiroide

**UFC** - Unidades formadoras de colónias

**VGM** - Volume globular médio

**VLDL** - *Very low density lipoprotein*

**VS** - Velocidade de sedimentação

**WBC** - Número de leucócitos

**β-hCG** - Gonadotrofina coriónica humana

## 1. Conceção geral

O meu estágio curricular, realizado no âmbito da unidade curricular “Estágio profissional”, integrada no mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, decorreu no Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, Lda., localizado em Vila das Aves, Santo Tirso.

O estágio teve a duração de 4 meses, de 5 de fevereiro a 1 de junho, com um total de 452 horas e, durante o mesmo, pude trabalhar nas diferentes áreas existentes no laboratório, com a distribuição temporal representada no Figura 1 e no Anexo 1.

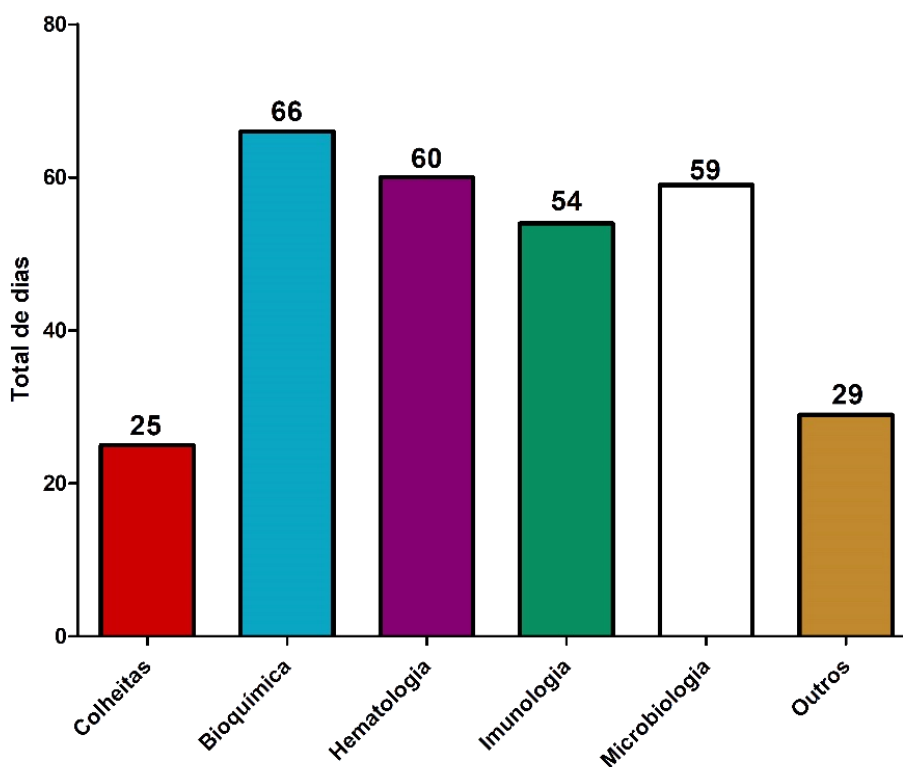


Figura 1 - Representação esquemática da distribuição do tempo de estágio em cada área, num total de 68 dias. A categoria “Outros” é referente aos testes respiratórios, à pesquisa de drogas de abuso na urina e à ajuda na receção.

Em suma, durante o estágio tive a oportunidade de trabalhar não só nas valências de Bioquímica, Hematologia, Imunologia e Microbiologia, como também tive a oportunidade de realizar colheitas de sangue.

## 1.1. Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião

O Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião foi fundado no dia 14 de julho de 1981 pelas farmacêuticas, especialistas em Análises Clínicas, Dra. Ana Damião e Dra. Manuela Mesquita, juntamente com os respetivos maridos, Dr. Rui Damião e Sr. Joaquim Mesquita.

O laboratório central localiza-se na Praça do Bom Nome n.º153, Vila das Aves (Figura 2), encontrando-se aberto de segunda a sexta-feira, das 8:00h às 18:30h, e ao sábado, das 8:30h às 12:00h.

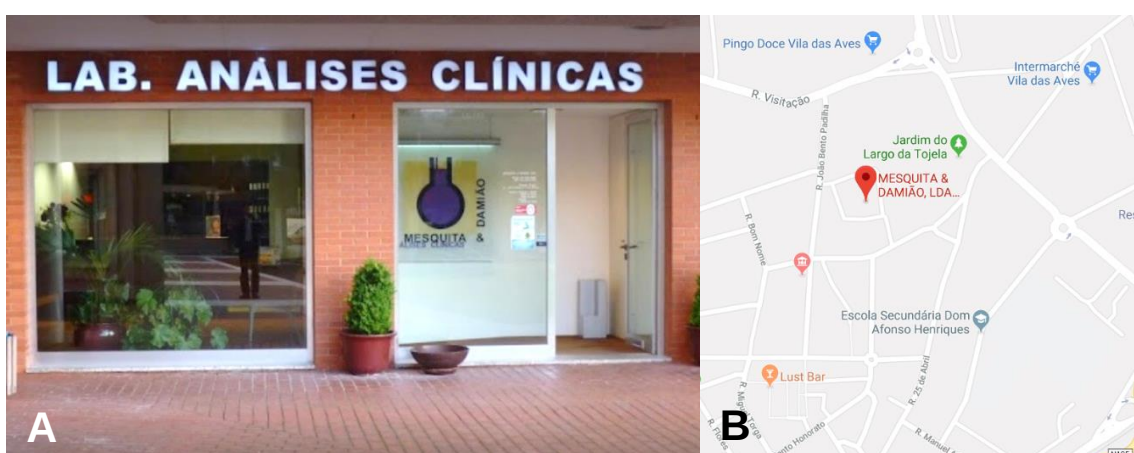


Figura 2 - Localização do Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião. Imagens retiradas da página <https://www.google.com/maps/contrib/101268166352754294026/photos/@41.363722,-8.405894,16.93z/data=!3m1!4b1!4m3!8m2!3m1!1e1>, acedida a 13 de junho de 2018.

O laboratório central é constituído, essencialmente, por 7 zonas: receção (Anexo 2A); sala de colheitas (Anexo 2B); sala principal (Anexo 2C), onde estão localizados a maioria dos equipamentos; zona do microscópio (Anexo 2D); sala de triagem (Anexo 2E); sala de lavagens (Anexo 2F) e sala de Microbiologia (Anexo 2G).

Uma grande parte das amostras são provenientes do laboratório central, no entanto, tem ainda vários postos de colheita, localizados em S. Tomé de Negrelos, Sta. Maria de Oliveira, Delães, Vilarinho, Landim, Moreira de Cónegos, Ronfe, Ponte, Gondar, Roriz, Vale de S. Martinho, Riba de Ave e Felgueiras.

Este laboratório é da responsabilidade técnica do Dr. José Orlando Ferreira Ribeiro da Silva, especialista em análises clínicas pela Ordem dos Farmacêuticos. Ainda, a equipa do laboratório é constituída por 15 elementos - 3 farmacêuticos, 8 técnicos de análises clínicas e 4 rececionistas.

Atualmente, o laboratório tem uma média de 100 colheitas diárias.

No laboratório são realizadas análises de todo o tipo - desde hematologia, bioquímica, microbiologia, endocrinologia, marcadores tumorais, monitorização de fármacos,

imunologia humoral, imunidade celular, imunoalergologia, rastreio pré-natal de gravidez, entre outros.

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 74586 análises (1097 análises por dia) (Figura 3).

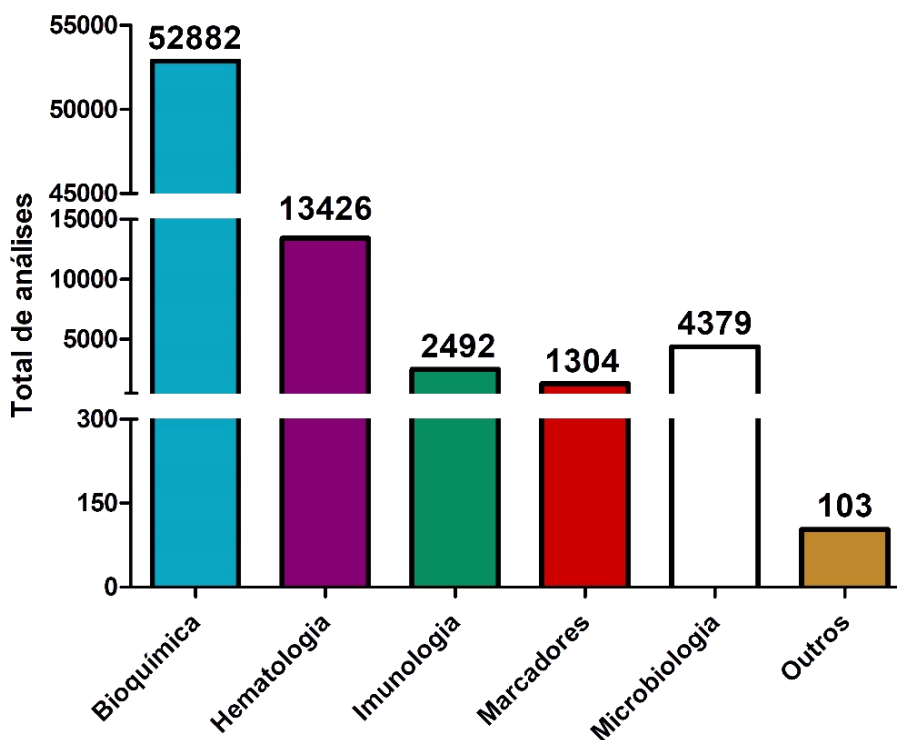


Figura 3 - Representação gráfica do número total de amostras realizadas no laboratório durante o estágio, nas diferentes áreas. A categoria “Outros” é referente aos testes respiratórios, à pesquisa de drogas de abuso na urina, aos doseamentos de fármacos, ao estudo de esperma e aos exames citológicos.

O laboratório encontra-se integrado na Associação Complementar de Empresas Labomi (ACELABOMI®) do qual fazem parte 33 laboratórios, espalhados por todo o país (ver em <http://www.acelabomi.co.pt/php/primeira.php?lingua=1&pagina=1001>).

Um dos objetivos prioritários do laboratório é oferecer a máxima qualidade nos seus serviços e, para tal, conta com uma Direção Técnica e uma Gestão de Topo empenhadas em gerir a preparação de Auditorias e impulsionar a Política da Qualidade. Em 2004, o laboratório obteve a Certificação ISO 9001:2008 e Certificação pelas Normas para Laboratório Clínico da Ordem dos Farmacêuticos (edição 2 de maio de 2003), ambas concedidas pela Bureau Veritas®.

Atualmente, o laboratório encontra-se apetrechado com equipamentos automatizados e dispõe de uma rede informática com o programa *ClinidataXXI*®, que corresponde a um sistema de gestão global, que permite registar a entrada dos utentes, as faltas de produtos

biológicos, a gestão diária do trabalho, a ligação entre os equipamentos e os computadores, a validação dos resultados e o envio dos mesmos para os utentes.

Caso alguma análise não seja/não possa ser efetuada no Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, as amostras são encaminhadas para laboratórios externos certificados, de forma a suprir as requisições dos utentes. O Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião encaminha, cumprindo todas as normas de segurança e conservação de amostras, para o Laboratório de Análises Clínicas Professor Doutor Joaquim Jorge Nunes de Oliveira, na Póvoa de Varzim (um dos membros fundadores do ACELABOMI®) ou para o Laboratório Ambar, em Barcelona.

Relativamente ao controlo de qualidade dos resultados, este é assegurado através da realização de controlos de qualidade internos (CQI) e pela participação em programas de Avaliação Externa da Qualidade organizados pelo PNAEQ (Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade), promovido pelo INSA (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge), e pelo RIQAS (*International Quality Assessment Scheme*), da Randox®.

## **2. Fase pré-analítica**

A fase pré-analítica compreende as operações que antecedem a análise laboratorial. Esta fase inclui o contato direto com o utente; a colheita e transporte da amostra biológica; receção dos vários produtos, com a sua identificação e registo; verificação do pedido de análises e processamento da amostra. Para identificação das amostras são utilizados códigos alfanuméricos, que se encontram associados a um código de barras.

Esta fase começa com a chegada do utente ao laboratório (Anexo 3). Após a sua identificação, juntamente com a requisição apresentada, na qual são solicitadas as análises clínicas a realizar, efetua-se o seu registo no sistema informático. É então emitido um talão de levantamento, que servirá mais tarde para o levantamento dos resultados; uma fatura, em caso de pagamento das taxas moderadoras; uma folha de colheita (Anexo 4), onde se encontram as análises a realizar, e as etiquetas autocolantes com os códigos de barras (Anexo 5) para identificação de todas as amostras recolhidas.

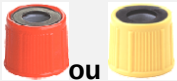
A folha de colheita e as etiquetas são enviadas para a sala de colheita (Anexo 2B) e, após confirmação da identidade do utente, faz-se a recolha do produto biológico a analisar. Qualquer informação adicional, proveniente do diálogo com o utente, é registada na folha de colheita.

De forma sucinta, a colheita de sangue é feita por punção venosa utilizando o sistema *Vacurette*<sup>®</sup>; a colheita de urina é realizada pelo utente, para um recipiente estéril, fornecido pelo laboratório, após higienização do trato urinário; a colheita de fezes também é realizada pelo utente, para recipientes de uso único, fornecidos pelo laboratório; e a colheita de outros fluídos corporais (exsudados, expectoração, esperma...) são realizados pelo utente no laboratório à exceção dos exsudados vaginais que são, ocasionalmente, efetuados pelos médicos.

Após a identificação do utente, é necessário escolher o material adequado, dependendo das análises a realizar. A ordem de uso dos tubos é importante e, por isso, no laboratório, a ordem está estipulada. No caso de todos os tubos serem necessários, a ordem estipulada é a seguinte: tubo de tampa vermelha (bioquímica) > tubo de tampa amarela (imunologia) > tubo de tampa azul (coagulação, com uma razão de 9:1) > tubo de tampa roxa (hematologia) > tubo de tampa preta (para determinação da velocidade de sedimentação).

A preparação e separação das amostras para os diferentes setores é efetuada na sala de triagem (Anexo 2E). No caso dos postos de colheita, as diferentes amostras são acondicionadas devidamente e enviadas para o laboratório central. Uma vez no laboratório central, as amostras são centrifugadas (Tabela 1), quando necessário, e colocadas nos respetivos suportes para depois serem analisadas (Anexo 3).

*Tabela 1 - Tempo de centrifugação aplicável aos diferentes produtos biológicos.*

| <b>Tipo de colheita</b>                                                                                       | <b>Velocidade (rpm)</b> | <b>Tempo de centrifugação</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| <b>Soro</b><br><br>ou        | 3700                    | 10 min                        |
| <b>Plasma em Citrato</b><br> | 3500                    | 10 min                        |
| <b>Plasma em EDTA</b><br>    | 3000                    | 10 min                        |
| <b>Urinas</b>                                                                                                 | 1500                    | 5 min                         |

Abreviaturas: RPM, rotações por minuto.

### Atividades Realizadas

A colheita de sangue é uma das atividades mais importantes num laboratório de Análises Clínicas e, como tal, durante o estágio, tive a oportunidade de realizar várias colheitas de sangue.

Ainda, todos os dias, participei no processamento pré-analítico das amostras e auxiliei, sempre que necessário, na receção.

### 3. Bioquímica

A bioquímica tem como principal objetivo de estudo as vias metabólicas e as alterações que possam dar origem a patologias. No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião as determinações bioquímicas são efetuadas em vários equipamentos, que se encontram sumariados na Figura 4.

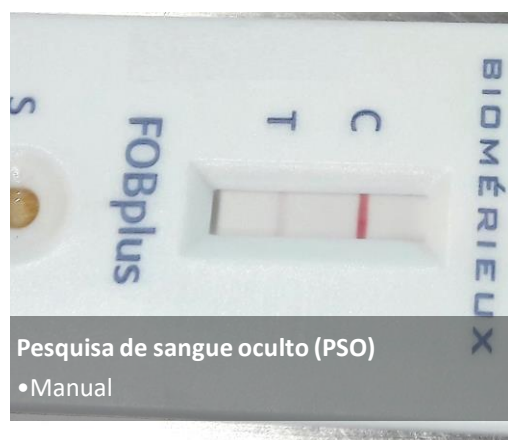


Figura 4 - Determinações efetuadas na valência da Bioquímica e Endocrinologia.

#### 3.1. Parâmetros bioquímicos e endocrinológicos

As determinações dos parâmetros bioquímicos e dos parâmetros endocrinológicos são efetuados nos autoanalisadores Cobas c501<sup>®</sup> (Figura 5), no Cobas e411<sup>®</sup> (Figura 6) e no aparelho Vidas<sup>®</sup> (Figura 8).

### 3.1.1. Cobas c501®

O Cobas c501® apresenta uma solução integrada de métodos turbidimétricos, colorimétricos, enzimáticos e um módulo ISE, que permite o doseamento do cloro, do potássio e do sódio.



Figura 5 - Cobas c501®.

Relativamente à metodologia utilizada no aparelho, o método imunoturbidimétrico utiliza anticorpos específicos para a quantificação das proteínas séricas, através da dispersão da luz dos agregados antígeno-anticorpo.

O método colorimétrico utiliza a comparação da cor de uma amostra com a de um padrão e, desta forma, é possível saber a concentração de uma dada substância na amostra. Estes testes baseiam-se na medição das variações de absorção na zona do visível (400 a 700 nm).

O módulo ISE corresponde a um método eletrónico, por potenciometria, e é utilizado para determinações iónicas. Neste caso, estão presentes elétrodos seletivos de iões para medir o sódio, o potássio e o cloro.

O método enzimático colorimétrico utiliza enzimas que podem ser usadas como reagentes na determinação do analito ou como o próprio analito.

#### i. Atividades realizadas

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 38527 análises no Cobas c501® (cerca de 566 análises por dia) (Anexo 6). Num total de 63 dias (Anexo 1), fui responsável pela realização da sua manutenção diária, da calibração, do controlo de

qualidade e do processamento das amostras. Esta tarefa ficou exclusivamente da minha responsabilidade.

Todos os testes devem estar devidamente calibrados e controlados, pois só desta forma se garante que os resultados obtidos são fidedignos.

Relativamente ao processamento das amostras, os produtos biológicos utilizados eram soro ou urina. Para tal, era necessário colocar as diferentes amostras nas *racks* do equipamento, verificar os reagentes necessários para cada teste e realizar as devidas calibrações e controlos.

Após terminar a corrida das amostras, os resultados eram validados e o aparelho era colocado a “Dormir” no final do dia.

### 3.1.2. Cobas e411®

No Cobas e411® (Figura 6) utiliza-se a metodologia de electroquimioluminiscência, que consiste na utilização de um estímulo elétrico para iniciar a reação, estando disponíveis testes com i) princípio competitivo, usado para analitos de baixo peso molecular, onde a luz produzida é inversamente proporcional à quantidade de antígeno na amostra do utente e ii) princípio *sandwich*, utilizado para analitos de elevado peso molecular, onde a quantidade de luz produzida é diretamente proporcional à quantidade do antígeno.



Figura 6 - Cobas e411®.

### i. Atividades realizadas

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 5852 análises no Cobas e411<sup>®</sup> (cerca de 86 análises por dia) (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 28 dias (Anexo 1).

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, o Cobas e411<sup>®</sup> é utilizado, na valência da Bioquímica e Endocrinologia, para a determinação dos analitos presentes na Figura 7.

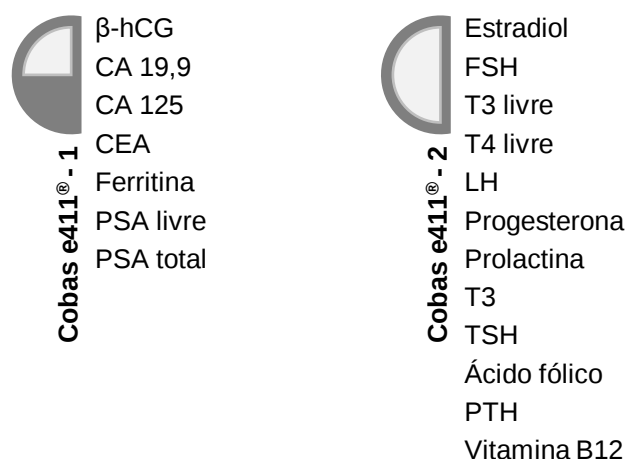


Figura 7 - Diferentes parâmetros determinados nos diferentes autoanalisadores Cobas e411<sup>®</sup>.

β-hCG, gonadotrofina coriônica humana; CEA, antígeno Carcino-Embrionário; FSH, hormona folículo-estimulante; LH, hormona luteinizante; PSA, antígeno específico da próstata; PTH, paratormona; T3, triiodotironina; T4, tiroxina; TSH, hormona estimulante da tiroide.

Para o processamento das amostras, era necessário colocar as diferentes amostras (soro) nos carrosséis dos equipamentos, verificar os reagentes necessários para cada teste e colocar cada carrossel no devido aparelho. Relativamente aos controlos de qualidade, estes eram realizados antes de iniciar o serviço.

Após terminar a corrida das amostras, os resultados eram validados e o aparelho era lavado e desligado.

### 3.1.3. Vidas<sup>®</sup>

O aparelho Vidas<sup>®</sup> (Figura 8) funciona com base no método de ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*), onde se deteta, após a reação, um sinal de fluorescência proporcional à concentração de analito na amostra, o que aumenta a sensibilidade do método.

A reação decorre na fase sólida, o cone, e os determinantes antigénicos/anticorpos da amostra são capturados pelas imunoglobulinas monoclonais ou antígenos fixados no cone

e, após lavagem dos componentes não fixados, o anticorpo marcado com fosfatase alcalina liga-se aos determinantes antigênicos, presentes no cone. Após a revelação, o produto final emite fluorescência, que é proporcional à concentração dos determinantes antigênicos.



Figura 8 - Vidas®.

O Vidas® é um sistema multiparamétrico, com 5 secções diferentes, com 6 posições de teste cada uma, o que permite que diversos parâmetros sejam analisados em simultâneo. Utiliza também testes unitários, prontos a usar - os cones são o suporte de pipetagem e a fase sólida da reação, estando sensibilizados com antígeno ou anticorpo; a barrete contém os reagentes necessários para a determinação.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, o Vidas® é utilizado, na valência da Bioquímica e Endocrinologia, para a determinação de vários analitos, como vitamina D, anticorpo anti-peroxidase (A-TPO), anticorpo anti-tiroglobulina (A-TG), T4 total, testosterona total, alfa-fetoproteína e CA 15.3.

#### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 1064 análises no Vidas® (cerca de 15 análises por dia) (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 48 dias (Anexo 1).

Para o seu processamento das amostras (soro), era necessário programar as diferentes análises, pipetar as amostras para as barretes correspondentes e colocá-las no aparelho, juntamente com os respetivos cones.

Após terminar a corrida das amostras, as barretes eram retiradas, os resultados validados e o aparelho era desligado.

A calibração e controlo de qualidade eram realizados quando necessário, a pedido do aparelho, e o controlo de qualidade era sempre realizado após cada calibração.

### 3.2. Eletroforese

O soro humano contém inúmeras proteínas identificáveis. A determinação dos níveis séricos destas proteínas tem um papel bastante importante, pois auxilia o diagnóstico de patologias. Desta forma, a eletroforese é uma técnica bastante importante, pois permite detetar alterações qualitativas e/ou quantitativas nas proteínas séricas.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião as eletroforeses são realizadas no Minicap® (Figura 9), que utiliza o princípio da eletroforese capilar. O aparelho possui dois capilares de sílcio que funcionam em paralelo, permitindo a leitura de 2 amostras em simultâneo.



*Figura 9 - Minicap®.*

De uma forma sucinta, neste tipo de eletroforese, as moléculas carregadas são separadas pela sua mobilidade eletroforética, num tampão com um pH específico (pH 9,9), em tubos com um diâmetro interno de 100  $\mu\text{m}$ .

A separação dá-se em função do pH e do fluxo eletro-osmótico, devido à aplicação de uma corrente elétrica de alta voltagem. Após a separação, as proteínas são detetadas espectralmente a 200 nm.

As proteínas são detetadas pela seguinte ordem: albumina,  $\alpha$ -1 globulina,  $\alpha$ -2 globulina,  $\beta$ -1 globulina,  $\beta$ -2 globulina e  $\gamma$  globulina. Estas frações são depois quantificadas, sendo o resultado apresentado sob a forma de gráfico.

### i. Atividades realizadas

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, 249 eletroforeses (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 12 dias (Anexo 1), tendo conseguido observar algumas alterações nos perfis obtidos.

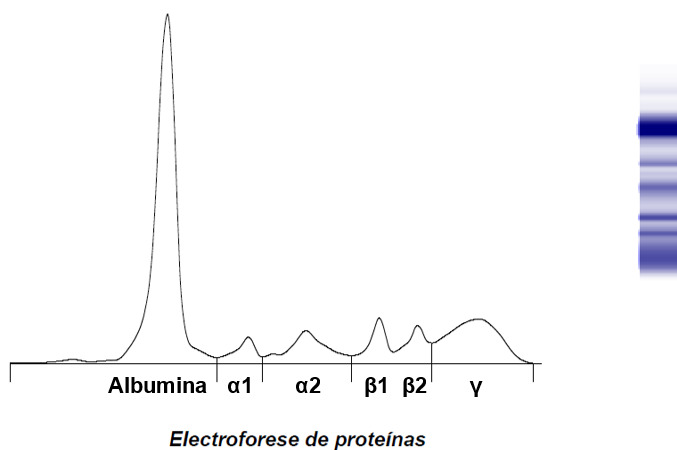
Para utilizar o Minicap® era necessário colocar os tubos das amostras de soro, devidamente identificados, no carrossel de amostras e colocá-lo no aparelho.

Após terminar a corrida das amostras, os resultados eram validados e o aparelho era lavado e desligado.

### ii. Exemplos

#### Perfil eletroforético normal

A Figura 10 representa o caso de um perfil normal de eletroforese capilar de proteínas séricas, onde os valores respetivos às diferentes bandas estão dentro dos valores de referência.



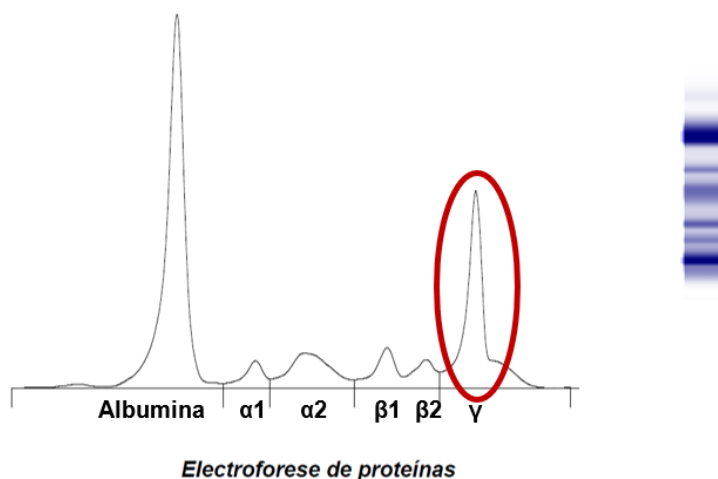
| Frações  | %    | Ref. %      | Ref. g/dl   |
|----------|------|-------------|-------------|
| Albumina | 57,2 | 55,8 - 66,1 | 4,02 - 4,76 |
| Alfa 1   | 4,1  | 2,9 - 4,9   | 0,21 - 0,35 |
| Alfa 2   | 9,3  | 7,1 - 11,8  | 0,51 - 0,85 |
| Beta     | 11,9 | 8,4 - 13,1  | 0,60 - 0,94 |
| Gamma    | 17,5 | 11,1 - 18,8 | 0,80 - 1,35 |

Ratio : 1,34

Figura 10 - Representação de um perfil normal de eletroforese capilar de proteínas séricas.

Perfil eletroforético anormal - pico banda monoclonal na região gama

Na Figura 11 é possível observar um aumento da banda gama, sinalizado pelo círculo. Uma possível razão para este aumento é a presença de um pico monoclonal, isto é, um aumento da produção de anticorpos monoclonais.



| Frações      | %    | Ref. %      | Ref. g/dl   |
|--------------|------|-------------|-------------|
| Albumina     | 49,6 | 55,8 - 66,1 | 4,02 - 4,76 |
| Alfa 1       | 3,8  | 2,9 - 4,9   | 0,21 - 0,35 |
| Alfa 2       | 10,4 | 7,1 - 11,8  | 0,51 - 0,85 |
| Beta         | 10,3 | 8,4 - 13,1  | 0,60 - 0,94 |
| Gamma        | 25,9 | 11,1 - 18,8 | 0,80 - 1,35 |
| Ratio : 0,98 |      |             |             |

Figura 11 - Representação de um perfil de eletroforese capilar de proteínas séricas com um pico na zona gama, marcado com o círculo.

### 3.3. Hemoglobina glicada

O doseamento da hemoglobina glicada (HbA1c) é uma análise bastante importante na monitorização dos níveis de glicemia nos doentes diabéticos.

Como os eritrócitos são permeáveis à glicose, a hemoglobina no seu interior incorpora a glicose em excesso, através de processos irreversíveis, em função da sua concentração no sangue. Uma vez que os eritrócitos têm um tempo de semivida de 120 dias, a HbA1c reflete a glicemia média das últimas 8 a 12 semanas, o que permite a obtenção de um índice de controlo de açúcar no sangue e dados pós tratamento úteis para prevenir a progressão da diabetes em doentes diabéticos.

O autoanalisador utilizado no laboratório para esta análise é o ADAMS A1c HA-8160® (Figura 12), que doseia a HbA1c através do método de HPLC (*High Performance Liquid*

*Chromatography*). A leitura das frações obtidas é realizada a 415 e 500 nm, sendo possível obter a fração HbA1c.



Figura 12 - ADAMS A1c HA-8160®.

No final, obtém-se um gráfico da cromatografia, onde a concentração da HbA1c é obtida através da medição da área abaixo da curva do respectivo pico.

É necessário ter em conta que o valor de HbA1c pode ser influenciado por fatores além da glicose, como por exemplo hemoglobinopatias e situações de elevado *turnover* eritrocitário.

### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, foram realizados, no laboratório, cerca de 2145 doseamentos da HbA1c (cerca de 31 doseamentos/dia) (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 9 dias (Anexo 1).

Para utilizar o aparelho era necessário colocar os tubos das amostras de sangue total, devidamente identificados, na *rack* de amostras e colocá-la no aparelho. Após terminar a corrida das amostras, seguia-se a validação dos resultados e a lavagem do aparelho.

### **ii. Exemplos**

#### Hemoglobina glicada normal

Na Figura 13 é possível observar um caso com uma percentagem de hemoglobina glicada normal, dado que a sua percentagem é de 5,3%, logo inferior 6,5%.

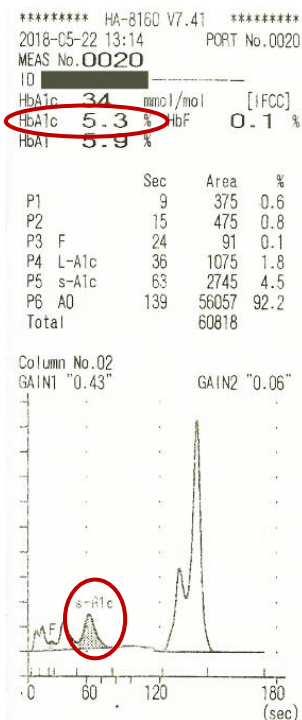


Figura 13 - Resultado da cromatografia para determinação de hemoglobina glicada (círculos) normal.

### Hemoglobina glicada aumentada

Na Figura 14 é possível observar um aumento da percentagem de hemoglobina glicada, com um valor de 9,5%, ou seja, superior a 6,5%. Este caso trata-se de um doente diabético, não controlado devidamente.

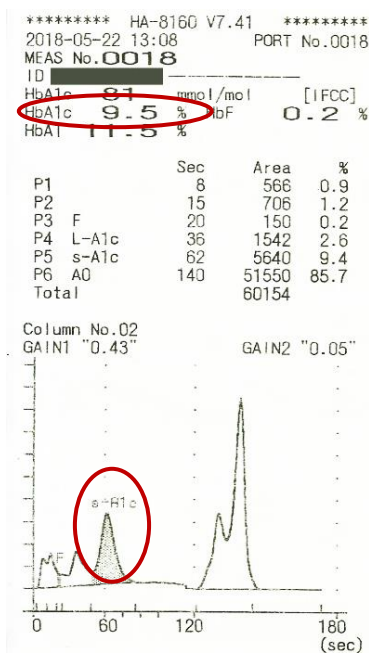


Figura 14 - Resultado da cromatografia para determinação de hemoglobina glicada (círculos). Este resultado de 9,5% está acima de 6,5%.

### 3.4. Pesquisa de sangue oculto

A detecção de sangue oculto nas fezes é o principal exame que se realiza neste produto, que consiste num teste rápido para detecção qualitativa de sangue nas fezes humanas.

É útil para identificar lesões no trato gastrointestinal, em que o sangramento não é clinicamente visível, como nas úlceras gástricas, pólipos, colites e algumas parasitoses. Muitas vezes esta pequena quantidade de sangue nas fezes é o primeiro e, por vezes, o único sinal precoce de cancro do cólon e, por isso, também serve de rastreio do cancro colorretal. Contudo, existem algumas alterações benignas que levam ao aparecimento de sangue nas fezes, como hemorroides e fístulas anais.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião este teste é efetuado com um *kit* comercial, que se baseia num método imunocromatográfico - ocorre a reação da mistura das fezes com o anticorpo anti-hemoglobina humana. A mistura migra numa membrana por ação capilar para reagir com o anticorpo na região de teste.

Na presença de um resultado positivo, os anticorpos monoclonais formam um complexo com a hemoglobina, observando-se uma linha colorida; assim sendo, a sua ausência, indica um resultado negativo.

De forma a assegurar o bom desempenho deste teste, existe uma linha controlo, em que, sempre que o teste for bem-sucedido, esta linha tornar-se-á rosa e os resultados podem ser aceites. Caso contrário, o teste é inválido.

Um resultado positivo neste teste indica a presença de hemorragia no trato gastrointestinal e pode determinar o reencaminhamento do utente para a execução de uma colonoscopia, para melhor averiguação da situação clínica.

#### i. Atividades realizadas

Durante o meu estágio, foram realizados, no laboratório, cerca de 1086 testes (cerca de 16 testes por dia) (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 13 dias, como se pode constatar no Anexo 1.

O procedimento desta análise era bastante simples, bastava retirar a vareta do tubo fornecido com o *kit*, inseri-la nas fezes, introduzir novamente no tubo e homogeneizar. Posteriormente, era necessário colocar 3 gotas desta solução no orifício na placa de teste e esperar 5 minutos para a leitura.

## ii. Exemplos

### Resultado negativo

Na Figura 15 está representado um resultado negativo para a pesquisa de sangue oculto nas fezes. A ausência da linha T (teste, círculo) indica a ausência de hemoglobina nas fezes e a linha C (controle, retângulo) indica que o teste é válido.

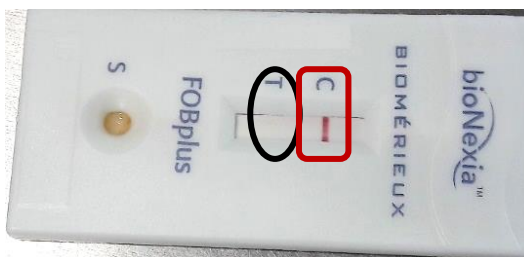


Figura 15 - Exemplo de um resultado negativo para a presença de hemoglobina nas fezes.

### Resultado positivo

Na Figura 16 está representado um resultado positivo para a pesquisa de sangue oculto nas fezes. Como a linha de teste (círculo) está presente, é possível concluir que há a presença de hemoglobina nas fezes. A presença da linha controle (retângulo) indica que o teste é válido.

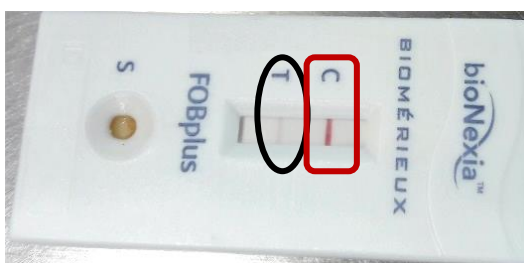


Figura 16 - Exemplo de um resultado positivo para a presença de hemoglobina nas fezes.

## 3.5. Dificuldades

O Cobas c501®, mesmo sendo um equipamento complexo, uma vez familiarizada com o aparelho, este era de fácil manuseamento e por isso, após alguma prática, as dificuldades que senti foram rapidamente ultrapassadas e fui capaz de realizar autonomamente todo o tipo de tarefas que me eram propostas.

O Cobas e411® é bastante semelhante ao Cobas c501®, pelo que não tive grandes dificuldades quando comecei a trabalhar com o aparelho pois já estava familiarizada com o Cobas c501®. Porém, uma das principais dificuldades que senti ao trabalhar com o Cobas

e411<sup>®</sup> era conseguir separar as amostras por aparelho, dado que nem todos os parâmetros são analisados no mesmo aparelho, o que, em algumas alturas, era um pouco confuso.

Relativamente ao equipamento Vidas<sup>®</sup>, uma vez familiarizada com o aparelho, não tive dificuldades em realizar as tarefas que me foram propostas.

A realização das eletroforeses também não era difícil. Contudo, foi na validação dos resultados onde eu senti mais dificuldade, principalmente quando se tratava de amostras de animais, por possuírem um perfil eletroforético diferente do dos humanos.

Relativamente ao doseamento da hemoglobina glicada, a parte mais complexa prendia-se com a necessidade de diluir a amostra, onde era feita uma diluição manual prévia e depois, na validação dos resultados, onde era necessário ter atenção ao fator de diluição.

Na pesquisa de sangue oculto, a observação das linhas coloridas, principalmente nos casos em que esta é mais ténue, exige prática e, por isso, tive algumas dificuldades na deteção dos casos positivos fracos.

## 4. Hematologia

A hematologia compreende o estudo do sangue e dos tecidos hematopoiéticos, avaliando o estado de normalidade das células sanguíneas, bem como o processo de coagulação. A hematologia de rotina é uma das áreas mais requisitadas pelos clínicos, pois inclui algumas das análises mais pedidas como hemograma, contagem de plaquetas e velocidade de sedimentação.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião estas determinações são efetuadas em vários equipamentos, que se encontram sumariados na Figura 17.

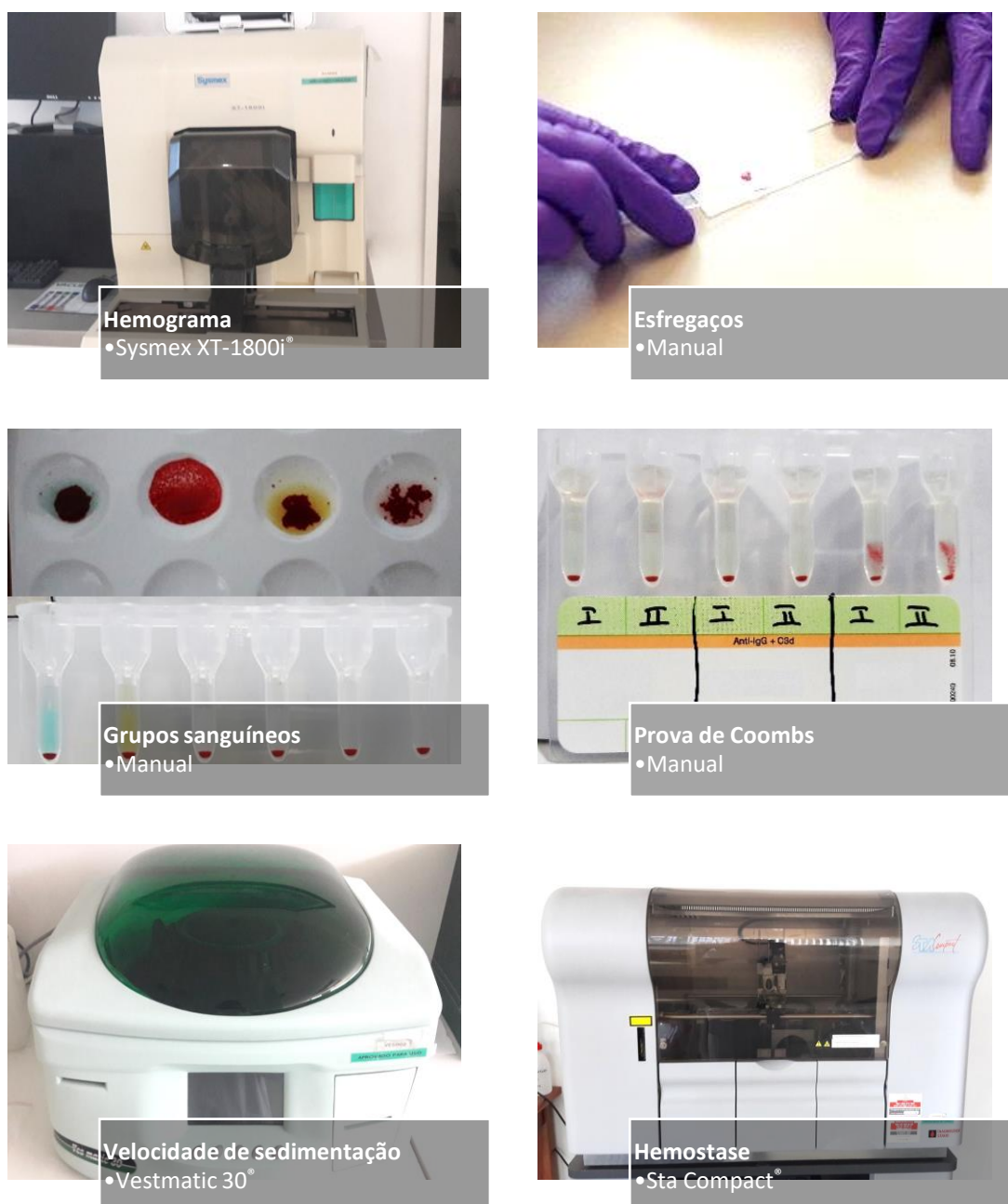


Figura 17 - Determinações efetuadas na área da Hematologia.

#### 4.1. Hemograma

O Sysmex XT-1800i® (Figura 18) é utilizado para a execução do hemograma e da contagem de plaquetas. Para a realização do hemograma utiliza-se amostras de sangue total colhido em tubos com EDTA (tubo de tampa roxa), dado que este anticoagulante preserva a morfologia dos leucócitos e eritrócitos e impede a agregação das plaquetas.



*Figura 18 - Sysmex XT-1800i®.*

Os hemogramas são efetuados no Sysmex XT-1800i® pela associação de citometria de fluxo, impedância com focagem hidrodinâmica e espectrofotometria.

Dentro do aparelho, a amostra é direcionada para 4 canais, onde são efetuadas diferentes diluições, a fim de realizar as diferentes determinações. O canal da hemoglobina (HGB) permite dosear a hemoglobina; o canal RBC/PLT permite obter a contagem de eritrócitos e de plaquetas; o canal DIFF permite obter a contagem do número total de leucócitos e a sua diferenciação em neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos; e o canal WBC/BASO permite a contagem de basófilos.

Após conclusão do procedimento, o autoanalisador apresenta os resultados para os diferentes parâmetros, como está descrito na Figura 19.

|                                                                                   |                                                                                                                             |                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                     |                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
|  | <b>Eritrócitos</b><br>RBC ( $\times 10^{12}/l$ )<br>Hb (g/dl)<br>Ht (l/l)<br>VGM (fl)<br>HGM (pg)<br>CHGM (g/dl)<br>RDW (%) |  | <b>Leucócitos</b><br>WBC ( $\times 10^9/l$ )<br>Neutrófilos (% e $\times 10^9/l$ )<br>Linfócitos (% e $\times 10^9/l$ )<br>Monócitos (% e $\times 10^9/l$ )<br>Eosinófilos (% e $\times 10^9/l$ )<br>Basófilos (% e $\times 10^9/l$ ) |  | <b>Plaquetas</b><br>PLT ( $\times 10^9/l$ )<br>MPV (fl)<br>PDW (%) |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|

Figura 19 - Parâmetros hematológicos determinados pelo Sysmex XT-1800i®.

Abreviaturas: RBC, número de eritrócitos; Hb, concentração de hemoglobina; Ht, hematócrito; VGM, volume globular médio; HGM, hemoglobina globular média; CHGM, concentração de hemoglobina globular média; RDW, amplitude de distribuição dos eritrócitos; WBC, número de leucócitos; PLT, número de plaquetas; MPV, volume plaquetário médio; PDW, amplitude de distribuição das plaquetas.

Um resultado fora dos intervalos de referência para os diferentes elementos sanguíneos ou a presença de células precursoras ativa os alarmes no equipamento, pelo que é necessário a realização de um esfregaço sanguíneo para confirmação dos valores.

#### i. Atividades realizadas

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 9309 análises no Sysmex XT-1800i® (cerca de 136 análises por dia) (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 27 dias (Anexo 1).

Para utilizar o aparelho era necessário colocar os tubos das amostras de sangue total, devidamente identificados e após agitação durante um determinado período, na *rack* do equipamento. Depois de terminar a corrida das amostras, os resultados eram validados.

Os controlos de qualidade eram realizados antes de começar o serviço e consistiam em 3 níveis: normal, patológico baixo e patológico alto, que eram utilizados alternadamente, segundo esta ordem.

## 4.2. Esfregaço sanguíneo

O esfregaço sanguíneo é feito em situações em que há emissão de algum tipo de alerta pelo equipamento, quer por aparecimento de células anormais, quer pelos valores hematológicos anormais (fora dos intervalos de referência). Estes casos incluem situações de trombocitopenia, eosinofilia, linfocitose, diminuição da concentração de hemoglobina, presença de linfócitos atípicos, presença de granulócitos imaturos entre outros.

O esfregaço consiste na preparação de uma fina camada de células sanguíneas sobre uma lâmina de vidro, para exame microscópico, com o objetivo de visualizar a morfologia das várias células sanguíneas e fazer a fórmula leucocitária. Durante a visualização microscópica, deve-se ter em atenção vários fatores, descritos na Figura 20.

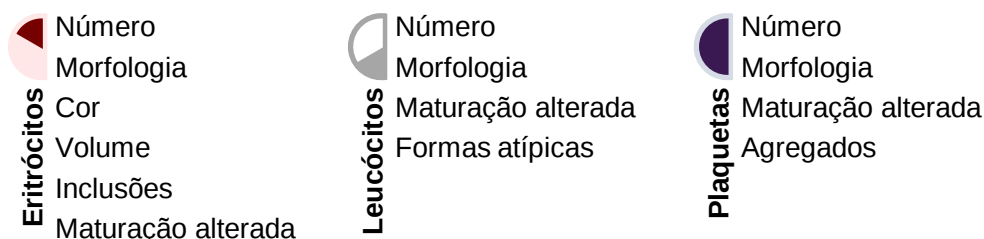


Figura 20 - Parâmetros a ter em conta durante a observação microscópica de um esfregaço sanguíneo.

No caso de amostras provenientes de veterinária, como sangue de gatos ou cães, a realização do esfregaço é obrigatória uma vez que o equipamento não é capaz de fazer a correta distinção das células.

### i. Atividades realizadas

No laboratório pude preparar e observar vários esfregaços sanguíneos, que observei ao microscópio num total de 36 dias (Anexo 1), tendo a oportunidade de observar lâminas normais, patológicas e de animais.

Tive ainda a oportunidade de observar esfregaços sanguíneos de leucemias (leucemia mieloide crónica, leucemia linfóide crónica, leucemia linfóide aguda e leucemia de células cabeludas) e de mononucleose infecciosa, provenientes do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

### ii. Exemplos

#### Esfregaço sanguíneo normal

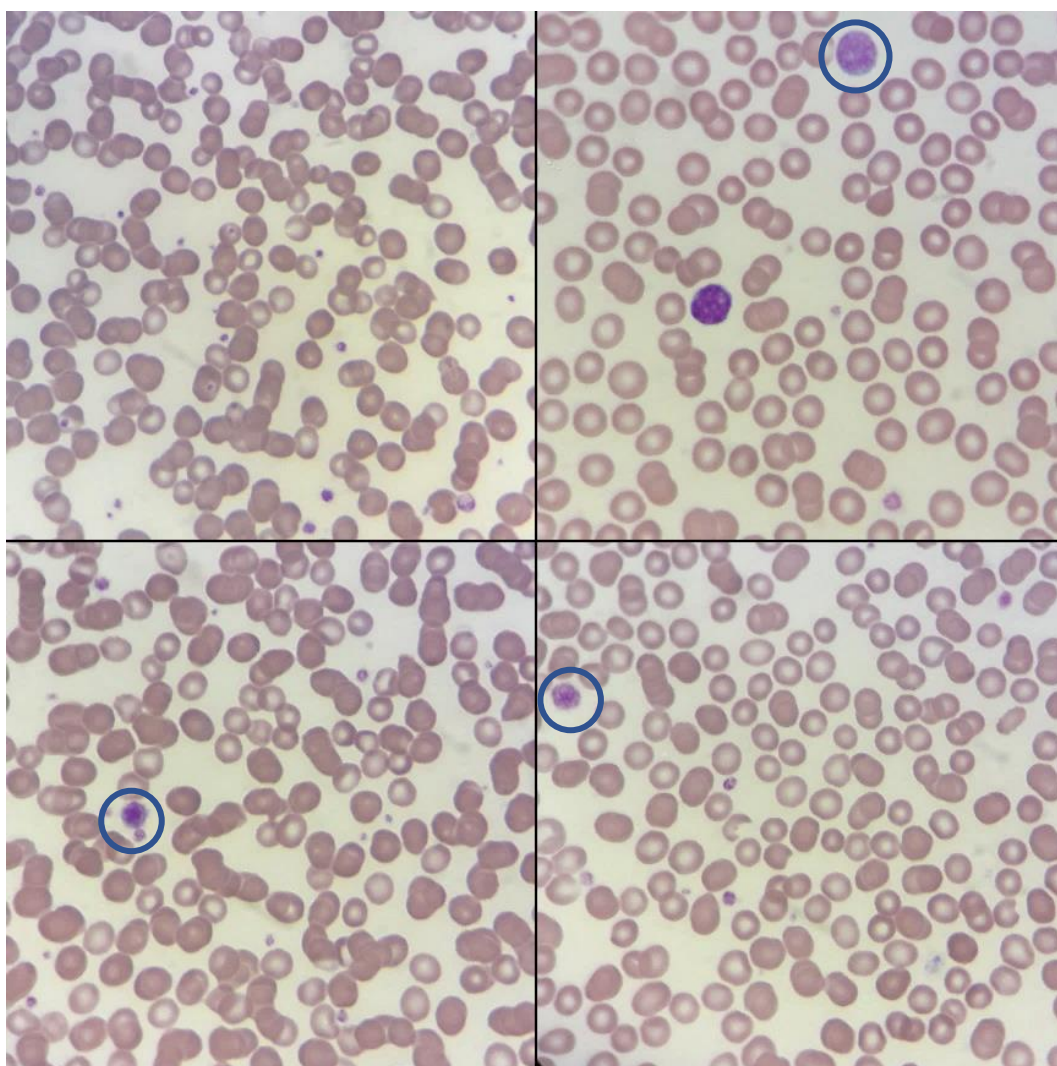
Este caso trata-se de um esfregaço sanguíneo normal, realizado a partir do meu sangue, e que tive a oportunidade de realizar no dia 6 de março de 2018. A Figura 21 demonstra o aspeto normal de um esfregaço sanguíneo e a suas diferentes partes - cabeça, corpo e cauda/franja. A cabeça corresponde à primeira zona do esfregaço, de maior espessura; o corpo constitui a maior parte do esfregaço, entre a cabeça e a cauda; a cauda, na parte final do esfregaço, apresenta um aspeto franjado e de espessura reduzida.

É possível observar a presença dos diferentes leucócitos (Figura 23) e alguma variação no tamanho das plaquetas (Figura 22).

Relativamente aos eritrócitos, verifica-se alguma variação no seu tamanho, mas nada que seja de valorizar.



*Figura 21 - Exemplo de uma lâmina de um esfregaço sanguíneo.*



*Figura 22 - Variação plaquetária observada no meu esfregaço sanguíneo.*

*Círculos, plaquetas gigantes.*

*Ampliação: 1000x.*

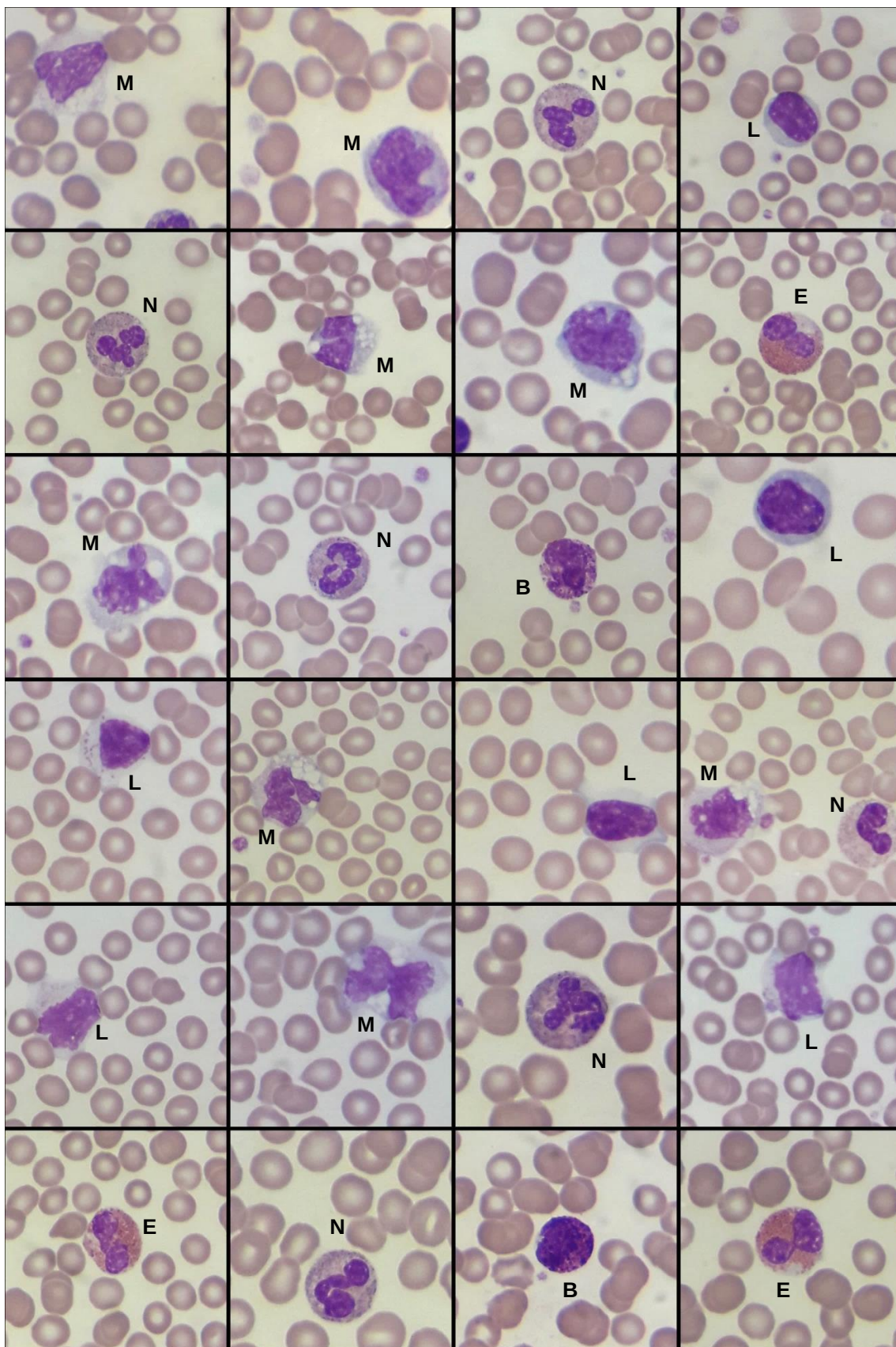


Figura 23 - Diferentes leucócitos observados no meu esfregaço sanguíneo.

N, neutrófilos; B, basófilos; E, eosinófilos; L, linfócitos; M, monócitos.

Ampliação: 1000x.

Tricoleucemia (Hairy-cells leukemia)

Na Figura 24 está presente um caso de um subtipo de leucemia linfóide crônica, a leucemia de células cabeludas ou tricoleucemia. É possível observar a presença linfócitos com projeções citoplasmáticas, as *Hairy cells*, um achado característico desta leucemia.

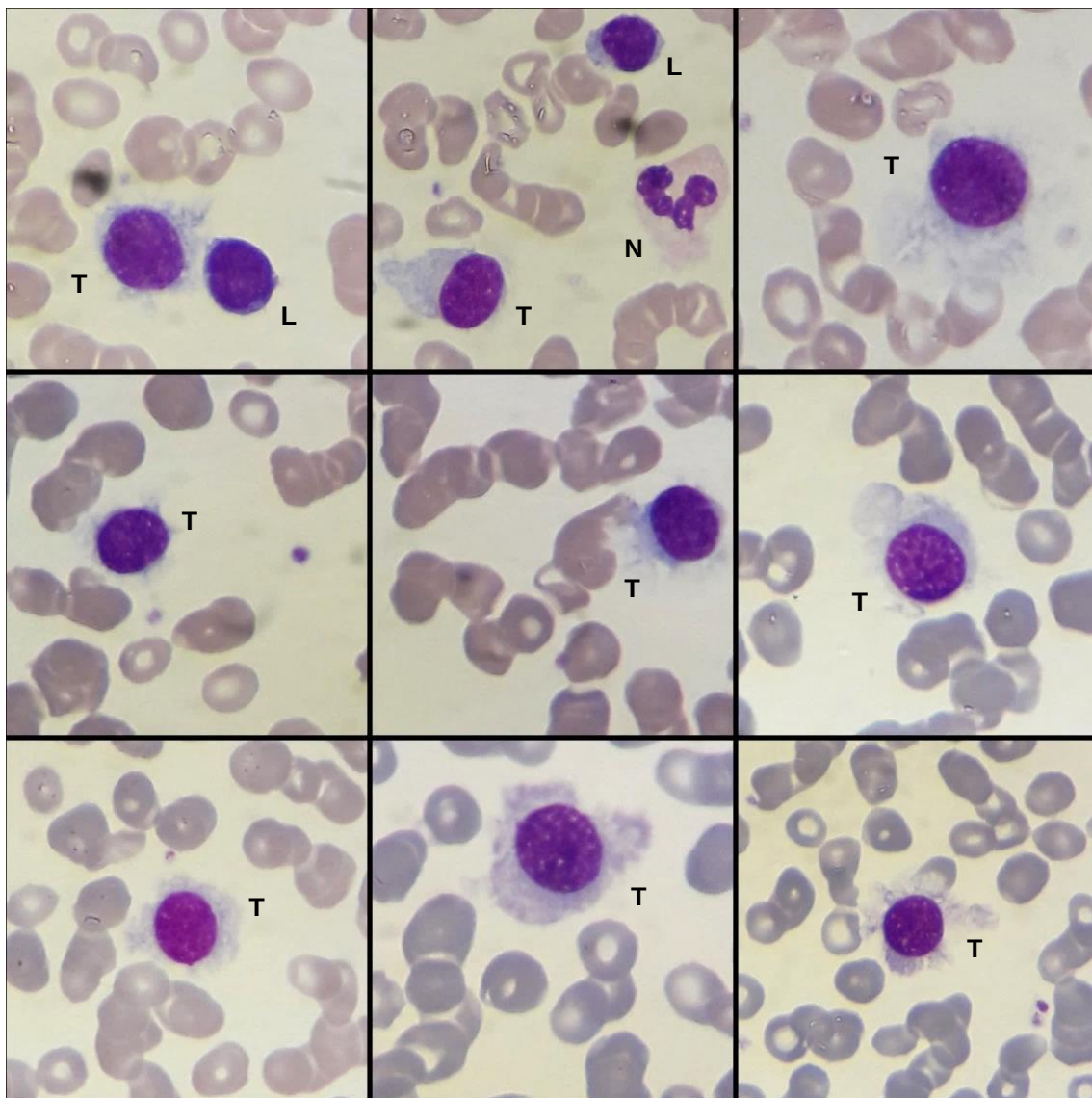


Figura 24 - Esfregaço de sangue periférico de um doente com tricoleucemia. Presença de tricoleucócitos.

N, neutrófilos; L, linfócitos; T, tricoleucócitos.

Ampliação: 1000x.

### Leucemia linfocítica crónica

Na Figura 25 está presente um caso de leucemia linfocítica crónica, onde é possível observar, essencialmente, a presença de *smudge cells*, um achado característico deste tipo de leucemia.

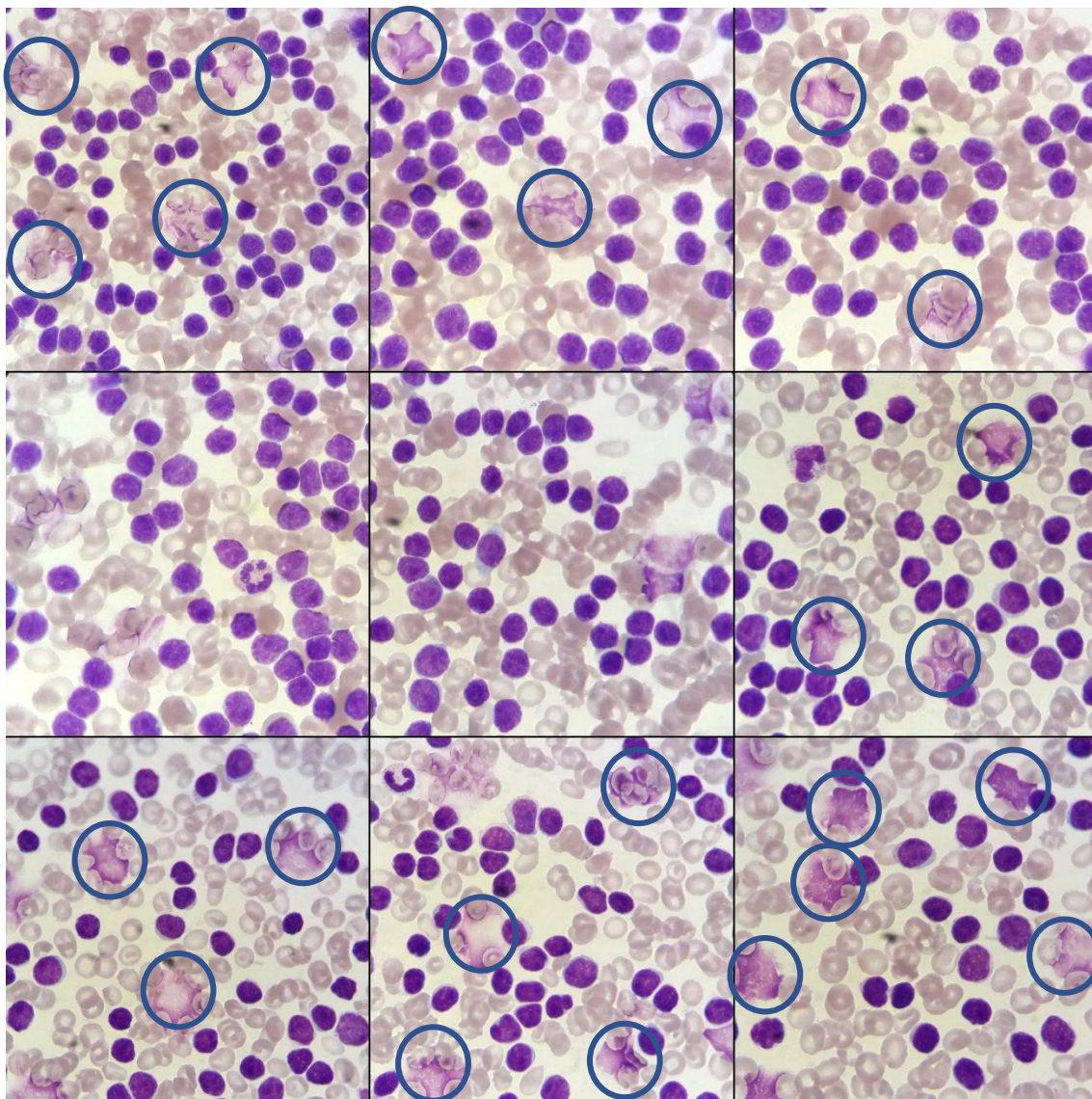


Figura 25 - Esfregaço de sangue periférico de um doente com leucemia linfocítica crónica. Presença de linfocitose, *smudge cells* (círculos), prolinfócitos e eritroblastos.  
Ampliação: 1000x.

### Leucemia mieloide crónica

Na Figura 26 está presente outro caso de leucemia, a leucemia mieloide crónica, onde é possível observar, a presença dos vários granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) como também precursores granulocíticos (mielócitos e meta mielócitos). Este caso também se encontra referido na minha monografia, dado que era este o tema.

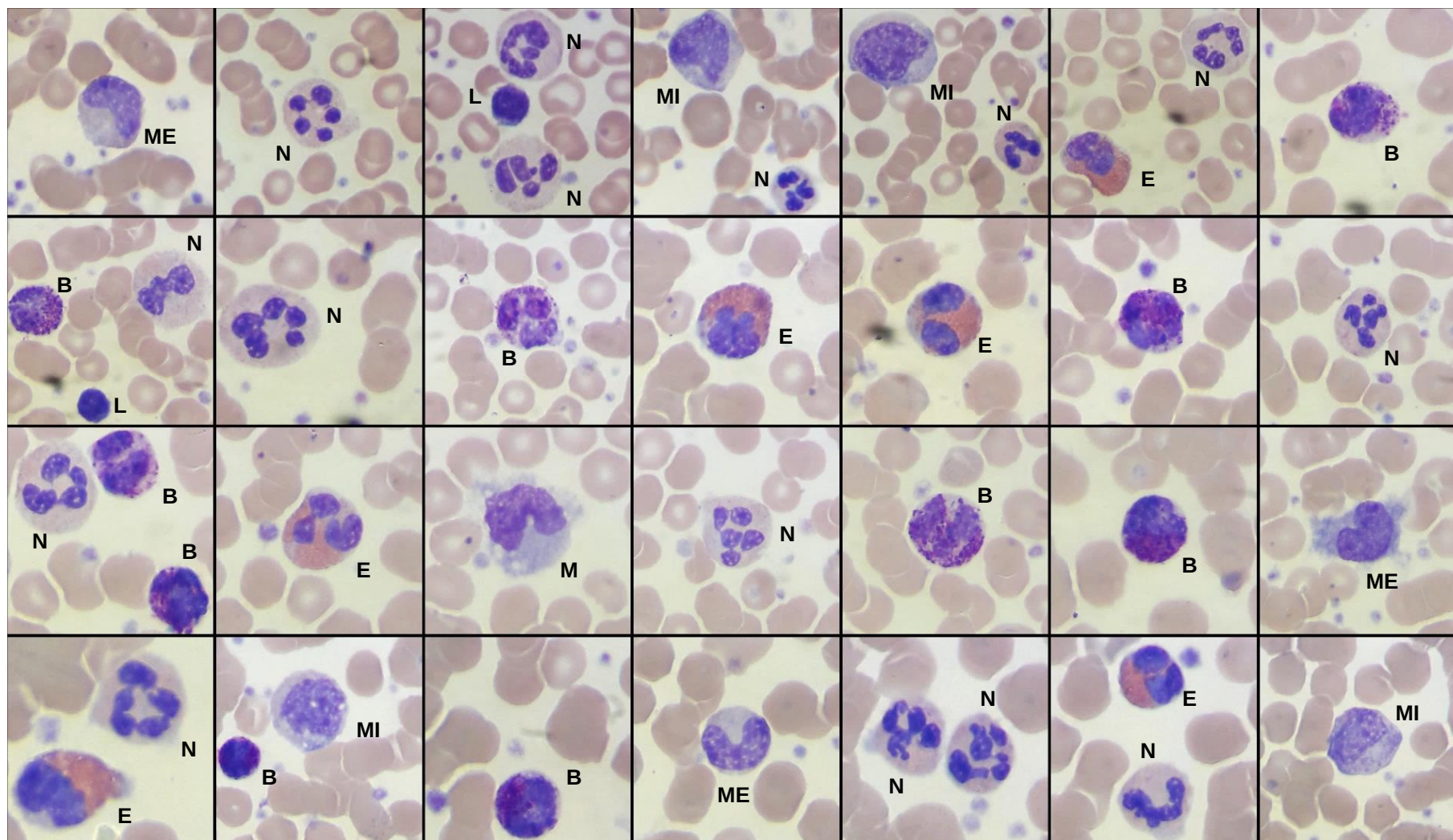


Figura 26 - Diferentes leucócitos observados no esfregaço sanguíneo do doente com leucemia mieloide crónica.

MI, mielócitos; ME, metamielócitos; N, neutrófilos; B, basófilos; E, eosinófilos; L, linfócitos; M, monócitos.

Ampliação: 1000x.

#### 4.2.2. Reticulócitos

Os reticulócitos são células anucleadas, no penúltimo estadio da eritropoiese, que apresentam vestígios RNA no citoplasma. A sua observação ao microscópio é possível recorrendo ao corante azul brilhante de Cresil, que reage com o RNA e o faz precipitar sob a forma de grânulos.

A contagem de reticulócitos é importante para avaliar a capacidade de resposta medular e representa a produção de eritrócitos. Por esta razão, é normalmente requisitada em casos de anemias.

##### i. Atividades realizadas

Durante o meu estágio, foram realizados, no laboratório, cerca de 27 contagens de reticulócitos, onde eu trabalhei um total de 3 dias (Anexo 1).

Num tubo, juntava-se 5 gotas de amostra a 5 gotas de corante e de seguida colocava-se em banho-maria, a 37°C, durante 30 minutos. Após a incubação, era realizado um esfregaço.

No microscópio, eram contabilizadas, manualmente, 1000 células da linha eritrocitária e o resultado era expresso em percentagem (reticulócitos/eritrócitos).

### 4.3. Grupo sanguíneo

#### Sistema ABO

A determinação do grupo sanguíneo, pelo sistema ABO, é bastante importante, pois tem implicações a nível de transfusões e de transplantes.

Esta determinação baseia-se no facto de que os indivíduos apresentam anticorpos contra os antígenos que não possuem.

Existem 4 grupos sanguíneos: A, B, AB e O. Os antígenos são expressos ao nível da membrana eritrocitária e cada uma corresponde um anticorpo (anti-A e anti-B), que está ausente num soro de um sujeito com o respetivo antígeno nas hemácias.

Desta forma, um indivíduo do grupo A apresenta o antígeno A e o anticorpo anti-B; do grupo B apresenta o antígeno B e o anticorpo anti-A; do grupo AB apresenta o antígeno A e o antígeno B e do grupo O apresenta os anticorpos anti-A e anti-B.

#### Sistema Rhesus

Este sistema é muito complexo e, por isso, classifica-se os indivíduos como Rh positivo e negativo, em função da presença ou ausência, respetivamente, do antígeno D.

Em casos de indivíduos Rh negativos, não existem anticorpos anti-D naturais no soro, pelo que quando estes indivíduos entram em contacto com o antígeno, o seu sistema imunitário é estimulado, produzindo anticorpos. Estas complicações podem ocorrer durante uma gravidez ou transfusão e dar origem à doença hemolítica do recém-nascido ou a outras alterações hemolíticas graves.

Existem também indivíduos com variantes do antígeno D, como é o caso do antígeno D-fraco e D-parcial. No primeiro caso, há a expressão reduzida de antígeno D, enquanto que no segundo verifica-se a falta de epítomos D ou mesmo epítomos alterados.

### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 139 determinações (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 38 dias (Anexo 1).

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião a determinação do grupo sanguíneo era efetuada manualmente, numa placa, por métodos de aglutinação direta de sangue total com anticorpos monoclonais (anti-A, anti-D, anti-B e anti-AB).

No laboratório as determinações dos grupos sanguíneos eram sempre realizadas na presença de dois técnicos, de forma a garantir a fiabilidade do resultado (garantir que não haja trocas de amostras nem erros na leitura).

Todos os resultados Rh negativos ou duvidosos eram repetidos em *card*, para evitar a classificação errada nos casos de indivíduos com antígeno D fraco. Para tal, a amostra de sangue total era diluída, carregada nos microtubos do Card-ID Bio-Rad® e centrifugados.

Nos casos positivos, havia aglutinação e, por isso, os eritrócitos ficavam retidos no topo do microtubo. Nos casos negativos, migravam até ao fundo do microtubo.

### **ii. Exemplos**

#### *Determinação do grupo sanguíneo em placa*

Na Figura 27 está representada a determinação do grupo sanguíneo, em placa, através do método aglutinação direta. No primeiro poço foi adicionado sangue total com anticorpos anti-A, onde se verificou aglutinação, o que indica que os eritrócitos do utente apresentam o antígeno A. O mesmo foi verificado nos restantes poços, observando aglutinação do sangue total com o anticorpo anti-D (segundo poço), com o anticorpo anti-B (terceiro poço) e com o anticorpo anti-AB (quarto poço).

Com isto é possível concluir que os eritrócitos do utente apresentam o antígeno A, o antígeno D e o antígeno B, logo trata-se do grupo sanguíneo AB positivo.

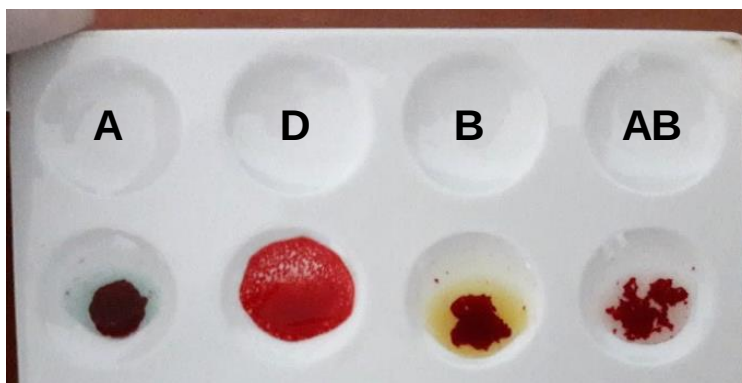


Figura 27 - Exemplo da determinação do grupo sanguíneo, em placa.

#### Determinação do grupo sanguíneo em card

Na Figura 28 estão representados duas determinações do grupo sanguíneo, de utentes diferentes. Nas determinações em *card*, baseado no método de aglutinação direta, caso não ocorra a ligação antígeno-anticorpo, os eritrócitos migram até ao fim do tubo, enquanto que, se ocorrer, os complexos anticorpo-eritrócito ficam retidos no topo do microtubo (ou na sua extensão).



Figura 28 - Exemplo da determinação do grupo sanguíneo, em card.

No primeiro caso (Figura 28A), é possível constatar que não ocorre aglutinação em nenhum dos tubos, logo, não existe nenhum dos antígenos testados na membrana do eritrócito. Por isso, trata-se do grupo sanguíneo O negativo.

No segundo caso (Figura 28B), houve aglutinação nos microtubos “DIV+” e “DIV-“, correspondentes aos anticorpos anti-D. Nos restantes tubos não houve aglutinação, logo, os eritrócitos deste utente apenas apresentam, na membrana do eritrócito, antígenos D. Por isso, trata-se do grupo sanguíneo O positivo.

#### 4.4. Reação de Coombs

O teste de Coombs consiste na pesquisa de anticorpos anti-eritrocitários responsáveis por hemólises de origem imunológica.

A prova de Coombs direta tem como objetivo a deteção dos anticorpos fixados, *in vivo*, nas membranas das hemácias do utente, sendo utilizado para a deteção de reações transfusionais, anemias hemolíticas autoimunes e anemias hemolíticas induzidas por fármacos.

A prova de Coombs indireta tem como objetivo a pesquisa de anticorpos não aglutinantes circulantes, através da sensibilização com suspensões de células de antigenicidade conhecida, onde ocorre fixação *in vitro*. Esta prova é utilizada para a pesquisa e identificação de anticorpos anti-eritrocitários no sangue e provas de compatibilidade.

##### i. Atividades realizadas

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião é utilizado o *kit* comercial Card-ID LISS/Coombs da Bio-Rad® e, durante o meu estágio, foram realizados, no laboratório, cerca de 121 testes, onde eu trabalhei um total de 19 dias (Anexo 1).

Para a realização da prova de Coombs indireta, a amostra (soro) era carregada nos *cards* fornecidos no *kit*, juntamente com os eritrócitos comerciais, e eram incubados durante 15 minutos, para que ocorresse a ligação dos anticorpos aos antígenos correspondentes, na membrana dos eritrócitos comerciais. O *card* era depois centrifugado.

No caso de um resultado negativo, não ocorria aglutinação e os eritrócitos migravam para o fundo do microtubo. No caso de um resultado positivo, havia aglutinação e os eritrócitos encontravam-se no topo do microtubo ou na sua extensão.

##### ii. Exemplos

###### Prova de Coombs indireta

Na Figura 29 estão representadas três provas de Coombs indiretas. Nestas provas, caso o utente não apresente os anticorpos, não vai ocorrer a ligação antígeno-anticorpo e,

por isso, os eritrócitos migram até ao fim do tubo, enquanto que, se ocorrer, os complexos anticorpo-eritrócito ficam retidos no topo do microtubo.

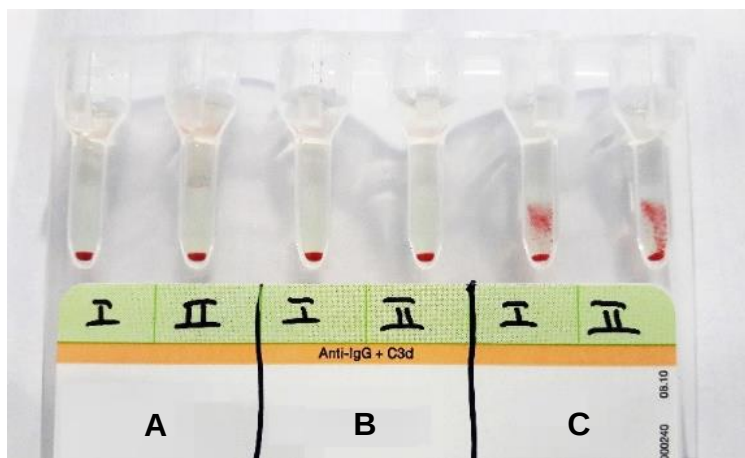


Figura 29 - Exemplo de três provas de Coombs indireta.

Tanto no primeiro caso como no segundo (Figura 29A e B), os eritrócitos encontram-se no fundo do tubo, o que indica que não houve aglutinação. Logo, é um resultado negativo, sendo que não existem os anticorpos no soro do utente.

No terceiro caso (Figura 29C), houve aglutinação, isto é, trata-se de um resultado positivo. Isto indica que houve aglutinação, logo o utente apresenta os anticorpos no soro.

#### 4.5. Velocidade de sedimentação

A velocidade de sedimentação (VS) é uma análise de rotina que consiste em avaliar a sedimentação dos eritrócitos, refletindo o estado geral de saúde do utente. Permite também avaliar um possível processo inflamatório e/ou infeccioso.

É necessário ter em atenção que a VS pode ser alterada devido a alterações na forma do eritrócito e devido às proteínas do plasma. Os valores da VS podem ser influenciados pela inclinação do tubo, a quantidade de anticoagulante maior que a recomendada, medicação e gravidez, levando a um aumento do seu valor. Medicação anti-inflamatória e corticosteroides induzem uma diminuição da VS.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião a VS é determinada no aparelho Vesmatic 30® (Figura 30), que permite a determinação simultânea de 30 amostras. Neste equipamento utilizam-se tubos específicos (sangue total em citrato de sódio 1:4).



Figura 30 - Vesmatic 30®.

Os resultados obtidos são comparáveis com os obtidos com o método de referência *Westgren*, permitindo obter o resultado de *Westgren* da 1ª hora ao fim de 25 minutos e o da 2ª hora ao fim de 45 minutos.

#### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 728 determinações no Vesmatic 30® (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 15 dias (Anexo 1).

Para utilizar o aparelho era necessário colocar os tubos das amostras de sangue total, devidamente identificados, no equipamento. Este procedia à homogeneização das amostras e antes e após da sedimentação das amostras era feita a leitura, através de sensores óticos.

Após terminar a corrida das amostras, estas eram validadas e o aparelho era desligado.

### **4.6. Estudo da hemostase**

A hemostase é um processo complexo que tem como objetivo a prevenção dos sangramentos espontâneos e a paragem de hemorragias, estando envolvidos o endotélio vascular, as plaquetas e as proteínas plasmáticas que atuam como fatores de coagulação, ativadores e inibidores de coagulação e da fibrinólise. Após uma lesão ao nível do endotélio, os fatores são ativados sequencialmente, dando origem à “cascata da coagulação”.

Os testes *in vitro* permitem avaliar as vias da cascata - a via intrínseca, a via extrínseca e a via comum. Para tal, é doseado o Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (aPTT) e o Tempo de Protrombina (PT ou Tempo de Quick).

O aPTT avalia a via intrínseca (fatores XII, XI, IX e VIII) e a via comum (fatores X, V, II e o fibrinogénio). Utiliza-se para a deteção de deficiências dos fatores de coagulação destas vias e na monitorização terapêutica da heparina. Neste teste é utilizada a cefalina (substituto plaquetário) e um ativador polifenólico, que ativa o fator XII, e é registado o tempo que o plasma demora a coagular. O aPTT pode estar aumentado em situações de deficiência dos fatores acima mencionados, tanto congénitas como adquiridas. Pode, ainda, estar diminuído em situações de hipercoaguabilidade.

O PT avalia a via extrínseca (fator VII) e a via comum. Utiliza-se na monitorização dos anticoagulantes orais antagonistas da vitamina K e consiste na adição de tromboplastina com cálcio ao plasma, levando à ativação da cascata da coagulação, da qual resulta a formação do coágulo de fibrina, sendo medido o tempo que demora a sua formação. O PT pode estar aumentado em situações de deficiência dos fatores, tanto congénitas como adquiridas, insuficiência hepática, hipovitaminose K, fibrinólise ou coagulação intravascular disseminada.

O estudo dos fatores II, VII e X, dependentes da vitamina K, é útil na monitorização da medicação hipocoagulante oral com antagonistas da vitamina K, como por exemplo a varfarina (*Varfine*®). O uso deste tipo de anticoagulantes implica um controlo constante, os “trombotestes”, conseguido pela análise do *International Normalized Ratio* (INR), que é a razão entre o PT do utente e o PT de referência elevado ao *International Sensitivity Index* (ISI). O ISI reflete as variações específicas de cada reagente e, por isso, é facultado pelo fabricante para cada lote de tromboplastina utilizado.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, a medição do PT e do aPTT é efetuado no Sta Compact® (Figura 31), que recorre à medição da variação do movimento de esferas magnéticas presentes nas *cups* de reação para determinar os tempos de coagulação, devido ao aumento da viscosidade do plasma à medida que se vai formando o coágulo.



Figura 31 - Sta Compact®.

#### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 2301 análises no Sta Compact® (cerca de 33 análises por dia) (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 10 dias (Anexo 1).

Relativamente ao processamento das amostras (plasma com citrato (tubo de tampa azul, com citrato na proporção de 1:9)), era necessário colocar os diferentes reagentes e tubos no equipamento. Após terminar a corrida das amostras, estas eram validadas e o aparelho era desligado.

Depois da validação, no caso dos trombotestes, era necessário fazer a análise dos resultados e ajustar a dosagem de *Varfine*® sempre que fosse necessário.

#### **4.7. Dificuldades**

Tal como no Cobas c501®, ao início tive alguma dificuldade em conseguir trabalhar com o Sysmex XT-1800i® e, principalmente, com o Sta Compact®. Contudo, após alguma prática, estas dificuldades foram ultrapassadas.

Relativamente à observação dos esfregaços sanguíneos e contagem dos reticulócitos, não tive grandes dificuldades exceto nos esfregaços sanguíneos de leucemias e, inicialmente, de sangue animal pois, no caso das leucemias, verifica-se a presença de células imaturas e nos casos de esfregaços de sangue animal a fórmula leucocitária, e até

mesmo os leucócitos, é ligeiramente diferente da observada nos humanos. Contudo, estas dificuldades foram ultrapassadas com a ajuda do Dr. Orlando Silva, que me auxiliou sempre que tive alguma dúvida.

A determinação dos grupos sanguíneos e a prova de Coombs indireta são técnicas são bastante simples, que não exigem grande perícia laboratorial, todavia, a análise dos resultados, numa primeira instância, é um pouco confusa, pelo que era necessária uma boa reflexão.

## 5. Imunologia

A imunologia engloba o estudo do sistema imunitário e das patologias associadas.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião são efetuadas várias determinações, que se encontram sumariadas na Figura 32.



Figura 32 - Determinações efetuadas na área da Imunologia.  
Ig - Imunoglobulina.

### 5.1. Determinação quantitativa das imunoglobulinas

A determinação quantitativa das diferentes imunoglobulinas (Ig) são efetuados nos autoanalisadores Cobas c501<sup>®</sup> (Figura 5) e no Cobas e411<sup>®</sup> (Figura 6).

Nomeadamente, a determinação das imunoglobulinas IgM, IgG e IgA são efetuadas no Cobas c501<sup>®</sup> e a IgE é quantificada no Cobas e411<sup>®</sup>.

### 5.2. Alergologia e autoimunidade

Muitas alergias são mediadas por imunoglobulinas específicas (IgE). Nos doentes que sofrem deste tipo de hipersensibilidade, as IgE funcionam como ponto de contacto entre o alérgeno e as células do sistema imunitário, que libertam histamina e outros agentes na presença desses alérgenos, desencadeando uma reação alérgica. A concentração sérica de IgE é elevada nos doentes que sofrem asma extrínseca, febre-dos-fenos ou eczema atópico.

Os testes *in vitro* de IgE são úteis no diagnóstico, pois podem auxiliar o clínico a identificar o(s) alérgeno(s) para o qual o doente está sensibilizado.

Relativamente à autoimunidade, a determinação dos anticorpos antinucleares (ANA) é de extrema importância para o diagnóstico clínico de doenças do tecido conjuntivo, como o Lúpus eritematoso sistémico (LES). Este caracteriza-se por lesões tecidulares, em órgãos não específicos, incluindo um vasto espectro de anticorpos dirigidos contra antígenos celulares, como por exemplo o dsDNA. Por esta razão, os anticorpos anti-dsDNA são marcadores bastante importantes para o diagnóstico e monitorização do LES.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damiao a área da alergologia e autoimunidade é executada no equipamento ImmunoCAP® (Figura 33).



Figura 33 - Autoanalizador ImmunoCAP®.

Para a determinação das IgE específicas, o soro do doente, contendo IgE, reage com o anticorpo anti-IgE que se encontra ligado às cápsulas que se colocam no aparelho. Após lavagem, são adicionados anticorpos contra a IgE, marcados com uma enzima, formando assim um complexo. Depois da incubação e lavagem, é adicionado o substrato da enzima, produzindo fluorescência, que será diretamente proporcional à concentração de IgE na amostra.

Para a determinação dos anticorpos antinucleares, são usados os *Elia dsDNA Well*, que se encontram revestidos com DNA de plasmídeos de cadeia dupla. Caso os anticorpos estejam presentes no soro, irão ligar-se ao DNA. Depois da lavagem, da adição de anticorpos contra IgG humanas, marcados com uma enzima; da incubação; da lavagem e da adição do substrato da enzima, é formado um composto que emite fluorescência. Este sinal é diretamente proporcional ao valor da concentração da IgG específica.

### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 401 análises no ImmunoCAP® (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 4 dias (Anexo 1).

Era necessária a introdução dos reagentes, das amostras (soro) e das diferentes cápsulas, onde se dava a análise, no aparelho. Após terminar a corrida das amostras, estas eram validadas e o equipamento lavado e desligado.

O controlo de qualidade era realizado a pedido do aparelho.

### **5.2.2. Dificuldades**

Ao contrário dos outros autoanalisadores, tinha dificuldades em utilizar o ImmunoCAP® uma vez que apenas trabalhei com o aparelho ocasionalmente, estando sempre acompanhada pelo técnico responsável.

## 6. Microbiologia

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião procede-se à análise microbiológica de inúmeros produtos biológicos como urina, fezes, expetoração, exsudado vaginais, auriculares, etc.

No laboratório estas determinações são efetuadas de várias formas, que se encontram sumariados na Figura 34.



Figura 34 - Determinações efetuadas na área da Microbiologia.

## 6.1. Urina do tipo II

A análise da urina do tipo II fornece informações importantes para o diagnóstico, orientação terapêutica e monitorização de doenças do sistema urinário. A sua análise envolve três princípios básicos: exame físico, com a avaliação visual da cor e do aspeto da urina; exame químico, com a deteção de determinadas substâncias usando tiras teste e a observação do sedimento urinário.

No laboratório de Análises Clínica Mesquita e Damião, o doseamento das urinas do tipo II são realizadas no Urisys 2400® (Figura 35). Este equipamento possibilita a determinação, automática, de analitos como leucócitos, nitritos, proteínas, glicose, cetonas, urobilinogénios, bilirrubina, eritrócitos, pH, densidade específica, cor e aspeto.



Figura 35 - Urisys 2400®.

O Urisys 2400® possui um sistema automatizado, onde a amostra é lida no leitor de código de barras e, após homogeneização, é pipetada uma pequena quantidade de urina que é dispensada para os diferentes compartimentos das tiras de teste Combur®, para a determinação dos diferentes parâmetros, levando à produção de uma substância corada, que é lida por refletância.

Sempre que necessário, o doseamento dos parâmetros urinários pode ser efetuado manualmente.

### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 2777 análises no Urisys 2400® (cerca de 40 análises por dia) (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 37 dias (Anexo 1).

As amostras após chegarem ao laboratório eram homogeneizadas, despejadas em tubos de fundo cónico e colocadas na *rack* do autoanalisador para serem analisadas. Era emitida uma folha com os resultados, que eram depois introduzidos no sistema informático.

Antes de iniciar o serviço, era necessário fazer a manutenção diária do equipamento e, no final, lavar e desligar o aparelho.

## **6.2. Sedimento urinário**

O exame microscópio do sedimento urinário permite identificar, caracterizar e semi-quantificar os elementos figurados clinicamente significativos como eritrócitos, leucócitos, células epiteliais, cristais, cilindros, microrganismos, muco, entre outros achados. A presença de microrganismos também deve ser referenciada.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião são efetuadas análises ao sedimento urinário em caso de exame bacteriológico e nas urinas do tipo II.

### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, observei sedimentos urinários ao longo de 15 dias (Anexo 1).

O sedimento urinário era observado ao microscópio ótico, após centrifugação de 10 ml de urina, desprezando o sobrenadante (só ficava 1 ml de sobrenadante).

Depois da ressuspensão da amostra, observavam-se 10 campos diferentes com a objetiva de 10x, e depois com a objetiva de 40x, e registava-se a presença de qualquer elemento anormal, como células epiteliais, sejam elas de descamação ou tubulares renais, leucócitos, eritrócitos, cilindros, cristais, espermatozoides (a valorizar em indivíduos do género masculino) e a presença microrganismos.

No laboratório, a alteração mais comum era a infeção urinária bacteriana, onde se observava um grande número leucócitos e bactérias, sendo que em alguns casos também se podia verificar a presença de eritrócitos. De facto, durante o meu estágio tive a oportunidade de observar esta mesma situação na urina da minha mãe que no momento apresentava uma infeção urinária por *Escherichia coli*, como se pode verificar na Figura 36.

**URINA E DOSEAMENTOS URINÁRIOS**

| Análises                                | Resultados/Unidades                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|
| <b>UROCULTURA</b>                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                      |                       |
| <b>EXAME MICROSCÓPICO DO SEDIMENTO:</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                      |                       |
| Cél.epit.de descamação/campo(A=100x)    | 0 - 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                      |                       |
| Leucócitos/campo(A=400x)                | 3 - 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                      |                       |
| Eritrócitos/campo(A=400x)               | 10 - 25                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                      |                       |
|                                         | <b>Bacteriúria</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                      |                       |
| <b>EXAME BACTERIOLÓGICO:</b>            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                      |                       |
| Directo-Gram                            | Abundantes bacilos gram(-).                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                      |                       |
| Exame Cultural                          | Desenvolvimento de <i>Escherichia coli</i>                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                      |                       |
| Contagem de Colónias                    | > 10 <sup>5</sup> U.F.C./ml                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                      |                       |
| <b>Antibiograma para:</b>               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                      |                       |
| Sensível                                | Amoxic.+Ac.Clavulanico, Cefuroxima(cefal.2 <sup>a</sup> ger.),<br>Cefotaxima(cefal.3 <sup>a</sup> ger.), Cefixima(cefal.3 <sup>a</sup> ger.),<br>Trimetopr.+Sulfametoxazol, Fosfomicina, Nitrofurantoina,<br>Ciprofloxacina, Levofloxacina, Norfloxacina, Ofloxacina, Prulifloxacina,<br>Gentamicina |                                                      |                       |
| Intermédio                              | Ampicilina, Amoxicilina                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                      |                       |

Figura 36 - Boletim analítico de uma infeção urinária por *Escherichia coli*.

A utilização deste boletim foi autorizada pela utente (Anexo 7).

## ii. Exemplos

Nas Figura 37, Figura 38 e Figura 39 demostram achados comuns durante a observação microscópica de sedimentos urinários.

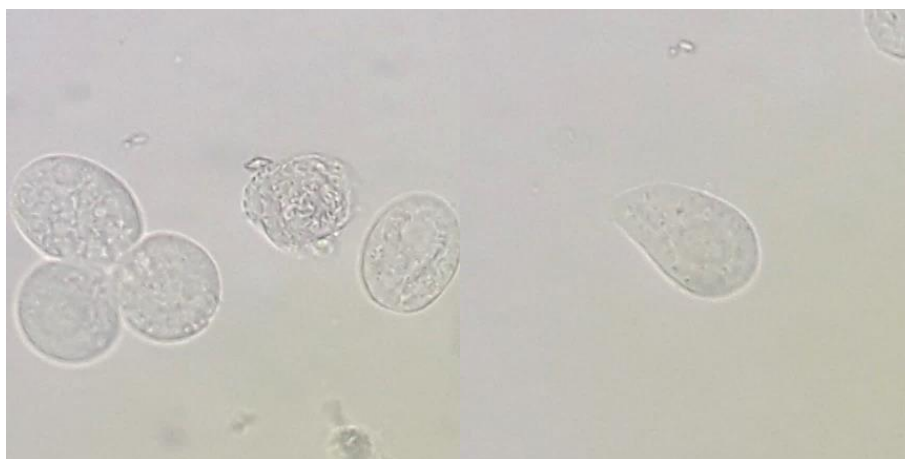
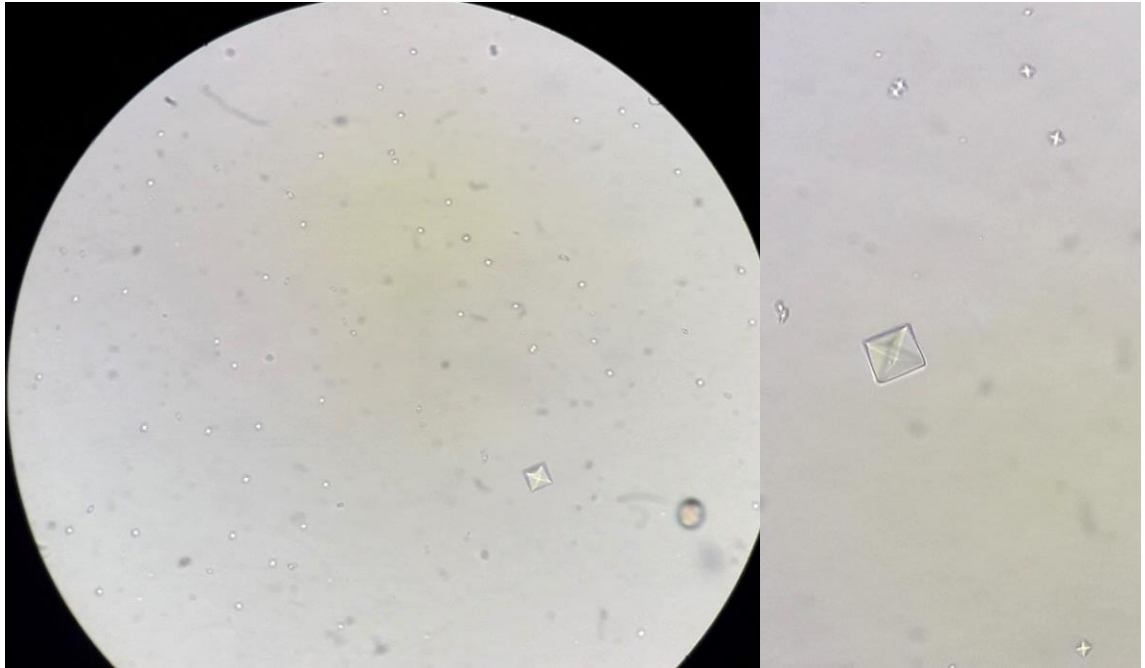
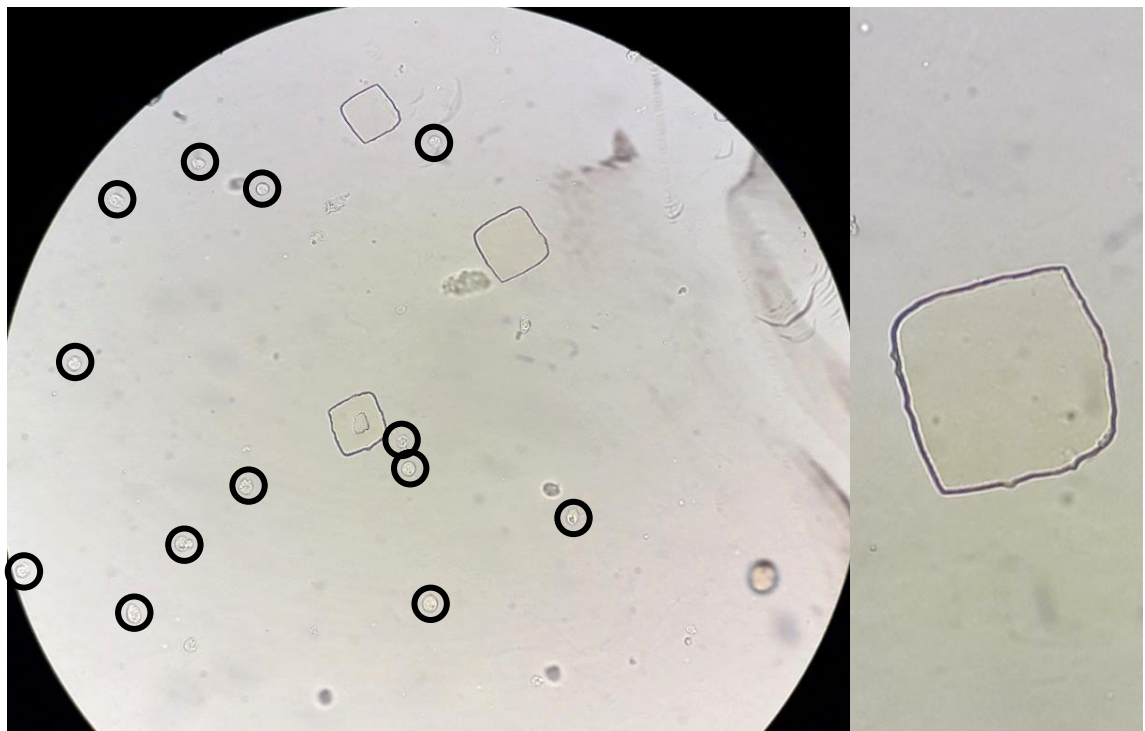


Figura 37 - Células renais tubulares.  
Ampliação: 400x.



*Figura 38 - Cristais de oxalato de cálcio.  
Ampliação: 400x.*



*Figura 39 - Cristais de ácido úrico. Também é possível observar a presença de leucócitos (círculos).  
Ampliação: 400x.*

## 6.3. Cultura das amostras

### 6.3.1. Urocultura

As infeções do aparelho urinário são uma das infeções mais frequentes no Homem. A infeção urinária aguda é, geralmente, causada por bactérias da flora intestinal que invadem o aparelho urinário através da uretra, após contaminação com flora fecal. Por isso, os agentes etiológicos mais comuns são as *Enterobacteriaceae*, especialmente a *Escherichia coli*.

Em doentes com fatores de risco como algaliação prolongada/permanentes e patologias do sistema urinário, os agentes etiológicos mais comuns, para além da *E. coli*, são *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus spp*, *Enterococcus spp* e fungos.

#### i. Atividades realizadas

O procedimento utilizado no laboratório de Análises Clínicas Mesquita e Damião encontra-se representado na Figura 40.

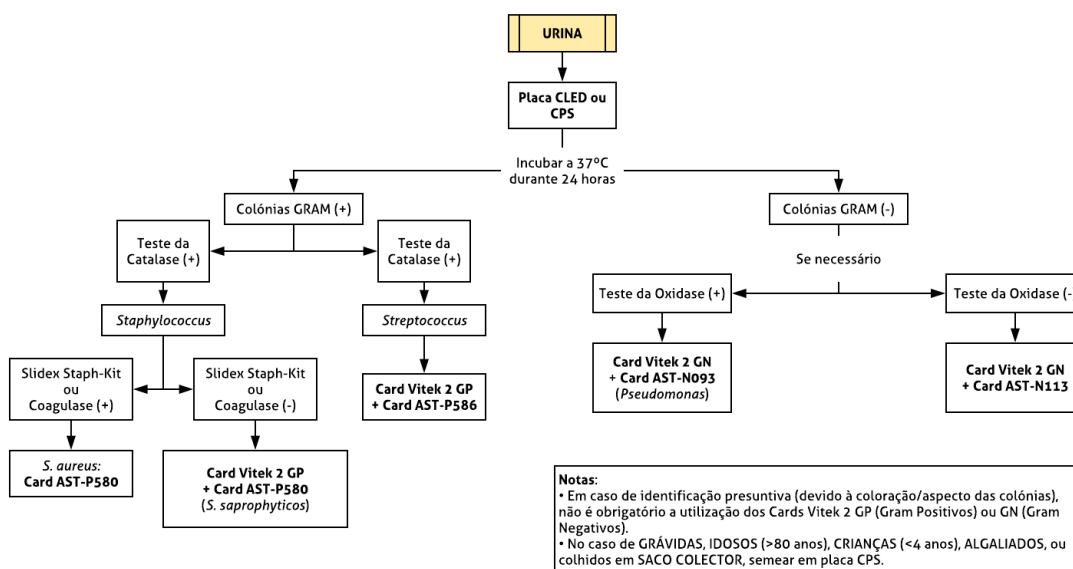


Figura 40 - Fluxograma para execução de exame bacteriológico de urina.

Notas: Sedimento urinário: pesquisa de células, leucócitos, eritrócitos, flora, cristais, cilindros, etc.

A avaliação do sedimento urinário é de extrema importância na abordagem inicial de uma urocultura, pois permite uma primeira interpretação do caso. Normalmente, as urinas em que o sedimento urinário sugeria infeção, eram semeadas, recorrendo a ansas esterilizadas e calibradas, nas placas de CPS que, por serem cromogénicas, permitiam a identificação presuntiva das bactérias. Nos casos em que o sedimento não sugeria infeção, as urinas eram semeadas em placas CLED.

Após a incubação do meio de cultura, analisava-se a placa e fazia-se a contagem das colónias presentes. É necessário ter em consideração que nem todo o crescimento deve ser valorizado (Tabela 2), onde crescimentos superiores a  $10^5$  Unidades Formadoras de Colónias (UFC)/ml devem ser valorizados e crescimentos inferiores poderão ser simplesmente contaminações.

Tabela 2 - Tabela para validação de contagem de colónias semeadas com ansa de 1  $\mu$ l.

| Nº de colónias | Volume de amostra (1 $\mu$ l) |
|----------------|-------------------------------|
| 1              | $10^3$ UFC/ml                 |
| 10             | $10^4$ UFC/ml                 |
| 100            | $10^5$ UFC/ml                 |
| 1 000          | $10^6$ UFC/ml                 |
| 10 000         | $10^7$ UFC/ml                 |
| 100 000        | $>10^7$ UFC/ml                |

Abreviatura: UFC, Unidades Formadoras de Colónias.

## ii. Exemplos

### Infeção por *Escherichia coli*

Relativamente ao caso ilustrado na Figura 41, na observação da coloração de Gram verificou-se a presença abundante de bacilos negativos. Após o estudo da bactéria, descobriu-se que se tratava de uma *E. coli*, estirpe produtora de betalactamases de espectro alargado (ESBL).

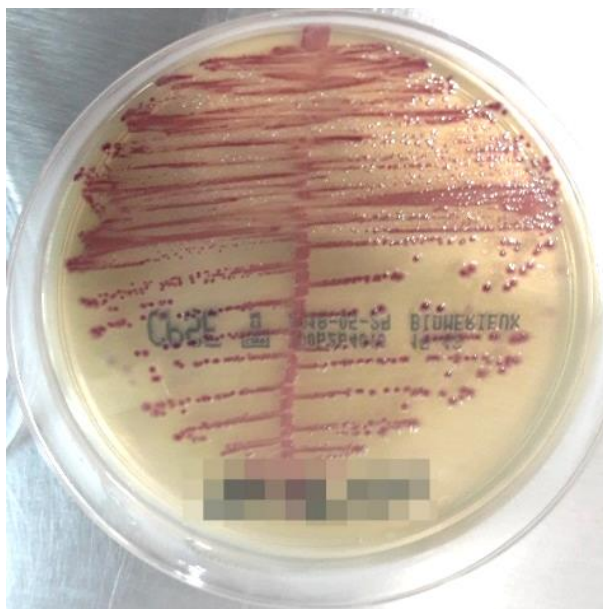


Figura 41 - Placa de cultura de *Escherichia coli*.

Infeção por *Klebsiella pneumoniae*

No caso ilustrado na Figura 42, durante a observação da coloração de Gram verificou-se a presença abundante de bacilos negativos e, depois da identificação da bactéria, descobriu-se que se tratava de uma *K. pneumoniae*.



Figura 42 - Placa de cultura de *Klebsiella pneumoniae*.

Infeção por *Proteus mirabilis*

No caso ilustrado na Figura 43, na observação da coloração de Gram verificou-se a presença abundante de bacilos negativos e, depois do estudo da bactéria, descobriu-se que se tratava de um *P. mirabilis*.



Figura 43 - Placa de cultura de *Proteus mirabilis*.

### Infeção por *Pseudomonas aeruginosa*

Relativamente ao caso ilustrado na Figura 44, na observação da coloração de Gram verificou-se a presença abundante de bacilos negativos e, depois do estudo da bactéria, descobriu-se que se tratava de uma *P. aeruginosa*.



Figura 44 - Placa de cultura de *Pseudomonas aeruginosa*.

### **6.3.2. Coproculturas**

As infeções do aparelho gastrointestinal são comuns na população em geral, sendo que os sintomas frequentemente associados a este tipo de infeção incluem dores abdominais, vómitos, diarreia e, por vezes, febre.

A deteção dos microrganismos patogénicos nas fezes é dificultada pela presença de microflora fecal abundante e complexa, pelo que durante a interpretação do exame bacteriológico é importante ter a noção dos microrganismos comensais intestinais, de forma a perceber em que situação se deve valorizar os resultados.

Os principais microrganismos causadores de infeções do trato gastrointestinal são a *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.* e *Escherichia coli* enteropatogénica (EPEC).

#### **i. Atividades realizadas**

O procedimento utilizado no laboratório de Análises Clínicas Mesquita e Damião encontra-se representado na Figura 45.

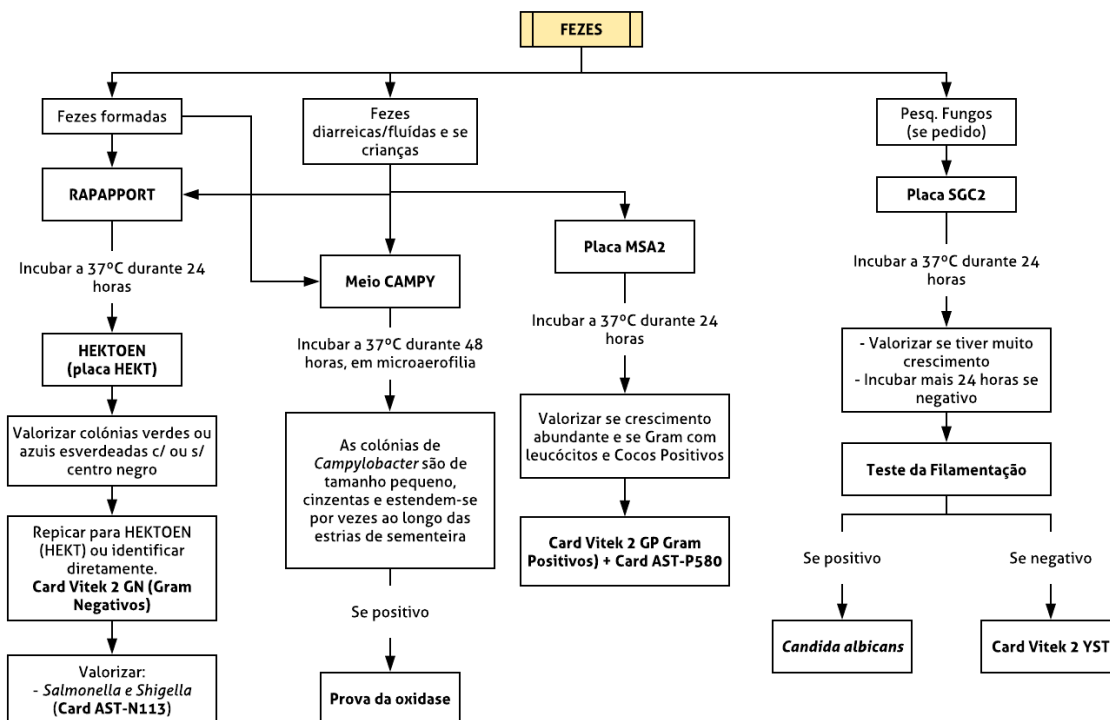


Figura 45 - Fluxograma para execução de exame microbiológico de fezes.

Notas: Na rotina não fazer coloração de Gram. Fazer coloração de Gram se houver dúvidas para valorizar crescimento na Placa MSA2 (muitos *Staphylococcus*).

## ii. Exemplos

### Resultado negativo

Na Figura 46 está representado um caso de uma coprocultura com crescimento da flora intestinal normal, que apresentam um coloração laranja.

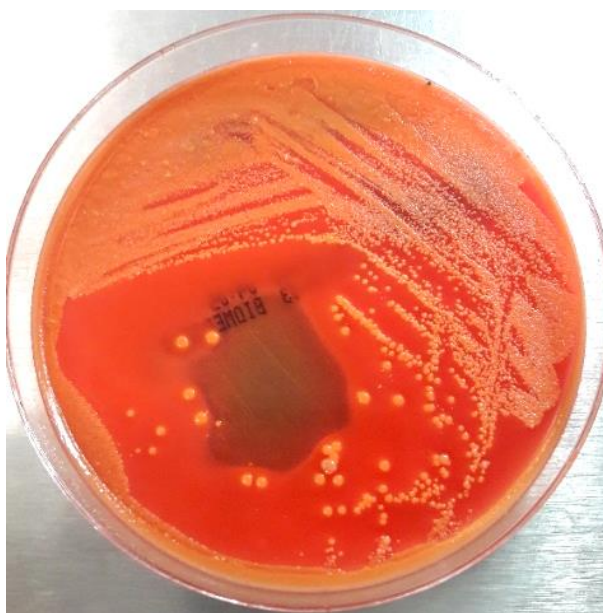


Figura 46 - Coprocultura. A presença de colônias laranjas indica que se trata da flora normal, sendo por isso um resultado negativo.

### 6.3.3. Expetoração

Uma das principais amostras representativas do trato respiratório inferior é a expetoração, sendo que esta deve ser colhida, preferencialmente, de manhã, para um recipiente estéril. O diagnóstico das infeções respiratórias inferiores é, frequentemente, dificultado pela contaminação das amostras por flora comensal da orofaringe durante a colheita, pelo que é bastante importante evitar a sua mistura com a saliva.

Os microrganismos mais frequentemente associados a uma infeção do trato respiratório inferior são o *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Pseudomonas aeruginosa*. A presença de uma flora polimorfa sem evidente predominância de um dos microrganismos não deve ser valorizada.

#### i. Atividades realizadas

O procedimento utilizado no laboratório de Análises Clínicas Mesquita e Damião encontra-se representado na Figura 47.

Para além da cultura da expetoração, realizava-se um exame direto, para avaliar a qualidade da amostra e procedia-se à coloração de Gram, para verificar o tipo de flora e se havia a presença de leucócitos e de células. Também se procedia à coloração de Ziehl-Neelsen, para pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes.

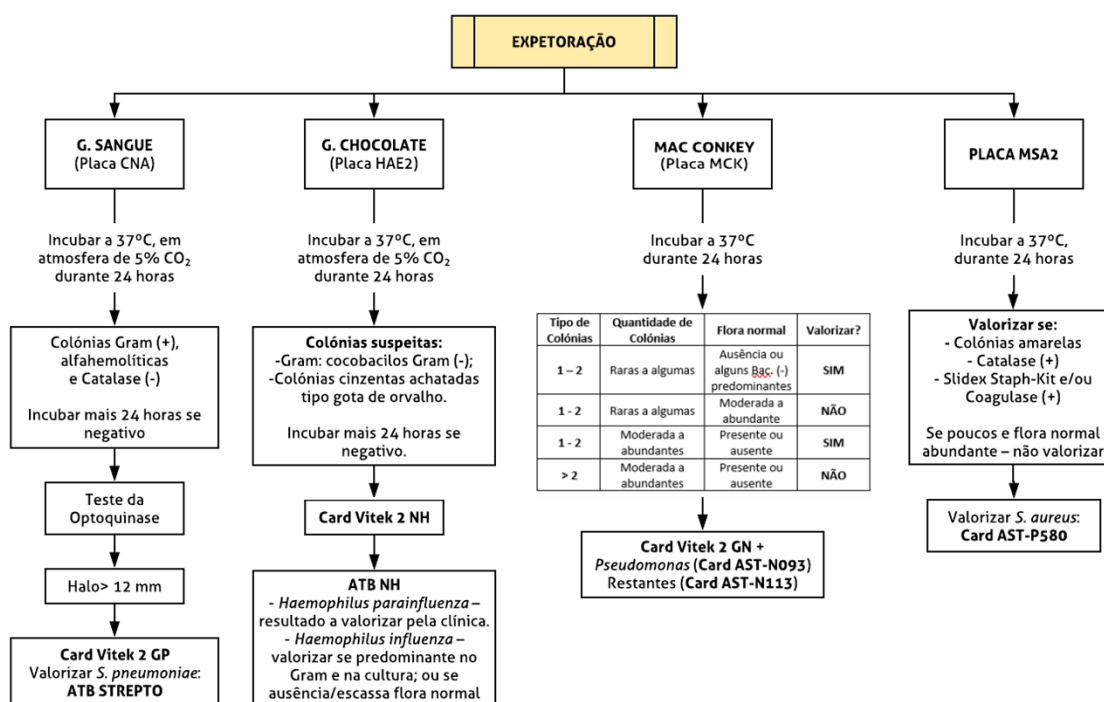


Figura 47 - Fluxograma para execução de exame bacteriológico de expetoração.

Notas: Coloração de Ziehl-Neelsen para deteção de bacilos de Koch; Coloração de Gram para observação das células, presença de leucócitos e tipo de flora.

## ii. Exemplos

Relativamente ao caso ilustrado na Figura 48, trata-se de uma amostra de expetoração onde se verificou crescimento numa placa de gelose de sangue e de gelose de chocolate. Na placa de gelose de sangue (Figura 48A), verificou-se o crescimento de colónias alfa-hemolíticas. Na placa de gelose de chocolate (Figura 48B), estavam presentes 2 colónias distintas, uma amarela e outra cinza, das quais foi feita um repicagem para um nova placa (Figura 48C).

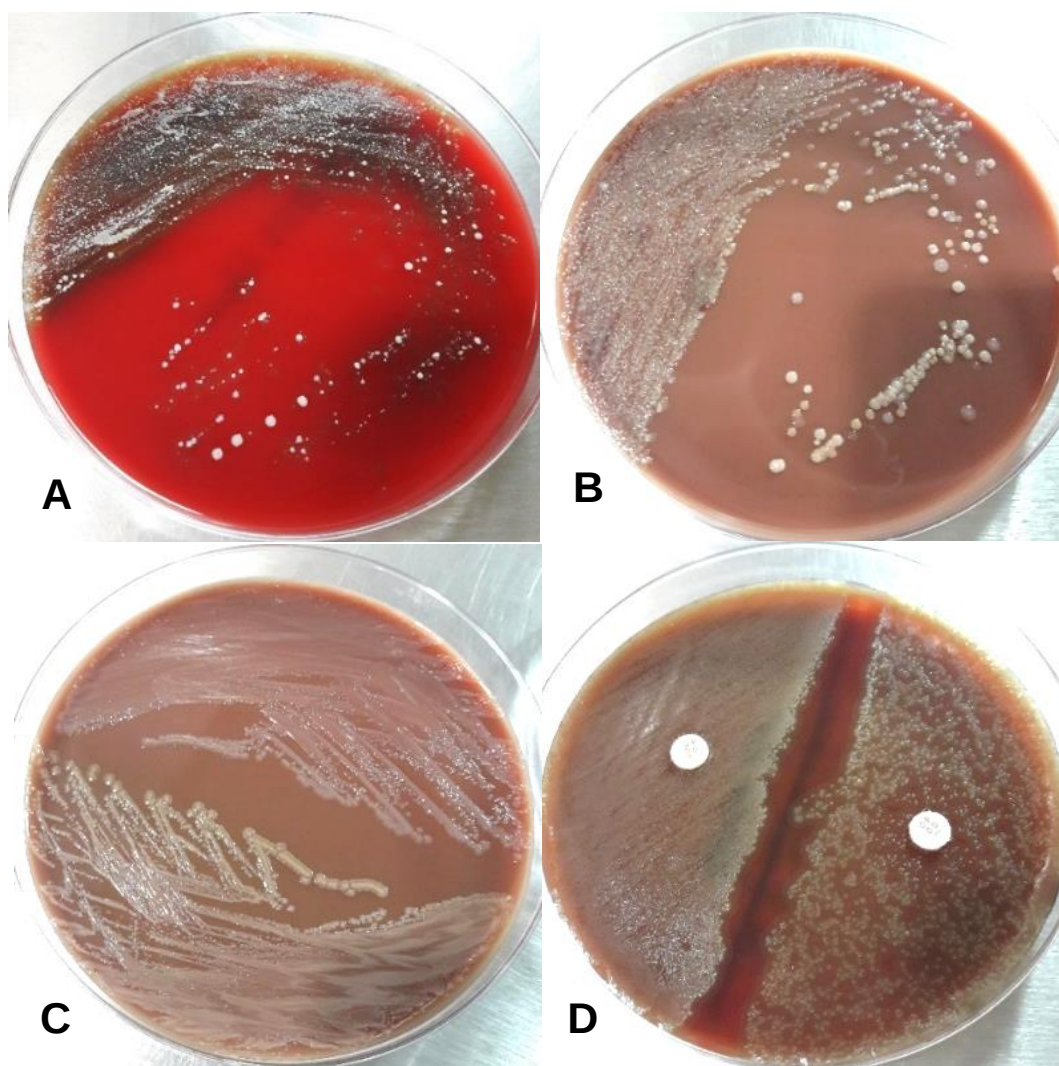


Figura 48 - Placas de cultura de uma expetoração. (A) Placa de gelose de sangue, com presença de colónias alfa-hemolíticas. (B) Placa de gelose de chocolate, com a presença de 2 colónias distintas, uma amarela e outra cinza. (C) Placa de gelose de chocolate, repicagem da placa B. (D) Teste da optoquinase.

Foi feito o teste da optoquinase (Figura 48D), que é útil para a identificação do *Streptococcus pneumoniae*, dado que este é sensível à optoquina. Como não houve a formação de nenhum halo, as bactérias foram consideradas resistentes à optoquina, o que permitiu concluir de que não se tratava de *Streptococcus pneumoniae*.

Na observação da coloração de Gram verificou-se um número de células epiteliais inferior a 10/campo e um número de leucócitos >25/campo, com flora polimorfa.

O resultado foi negativo, sem a presença de organismos patogénicos.

#### **6.3.4. Exsudado vaginal**

A flora vaginal é constituída por uma grande variedade microrganismos, onde a maioria são lactobacilos. Contudo, no contexto de uma infeção do trato genital, esta pode dever-se a microrganismos endógenos, cuja patogenicidade foi ativada por fatores do hospedeiro, ou por microrganismos patogénicos adquiridos via sexual.

A presença de uma flora polimorfa não deverá ser valorizada, devido à grande variedade de microrganismos da flora comensal do trato genital feminino. Todavia, se os resultados mostrarem uma cultura pura de algum dos microrganismos, com um crescimento elevado no meio de cultura, este já deve ser valorizado.

Os casos em que se verifica a presença de microrganismos patogénicos devem ser valorizados.

#### **i. Atividades realizadas**

O procedimento utilizado no laboratório de Análises Clínicas Mesquita e Damião encontra-se esquematizado na Figura 49.

Para além da cultura do exsudado, realizava-se um exame direto, para pesquisa de *T. vaginalis* e procedia-se à coloração de Gram, para verificar o tipo de flora, se havia a presença de leucócitos e de *clue cells*, característico de infeção vaginal, e outros achados que podiam ter importância clínica.

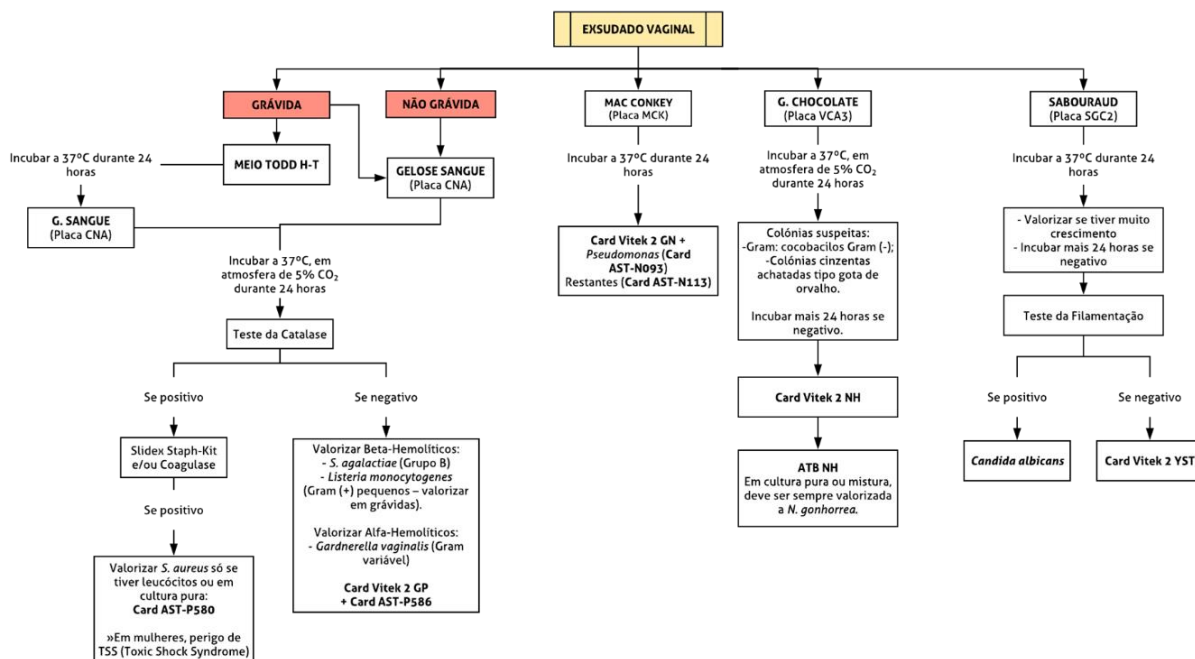


Figura 49 - Fluxograma para execução de exame microbiológico de exsudado vaginal.

Notas: Exame a fresco para pesquisa de *T. vaginalis*, observação das células e presença de leucócitos; Coloração de Gram para observação das células, presença de leucócitos e tipo de flora.

### 6.3.5. Exsudado auricular

Este produto biológico é utilizado para pesquisar o agente etiológico de uma otite, infecção bastante frequente em crianças. Os agentes mais comuns são *S. pneumoniae* e *H. Influenzae*.

#### i. Atividades realizadas

O procedimento utilizado no laboratório de Análises Clínicas Mesquita e Damião encontra-se esquematizado na Figura 50.

Para além da cultura do exsudado, procedia-se à coloração de Gram, para verificar o tipo de flora, se havia a presença de leucócitos e outros achados que podiam ter importância clínica.

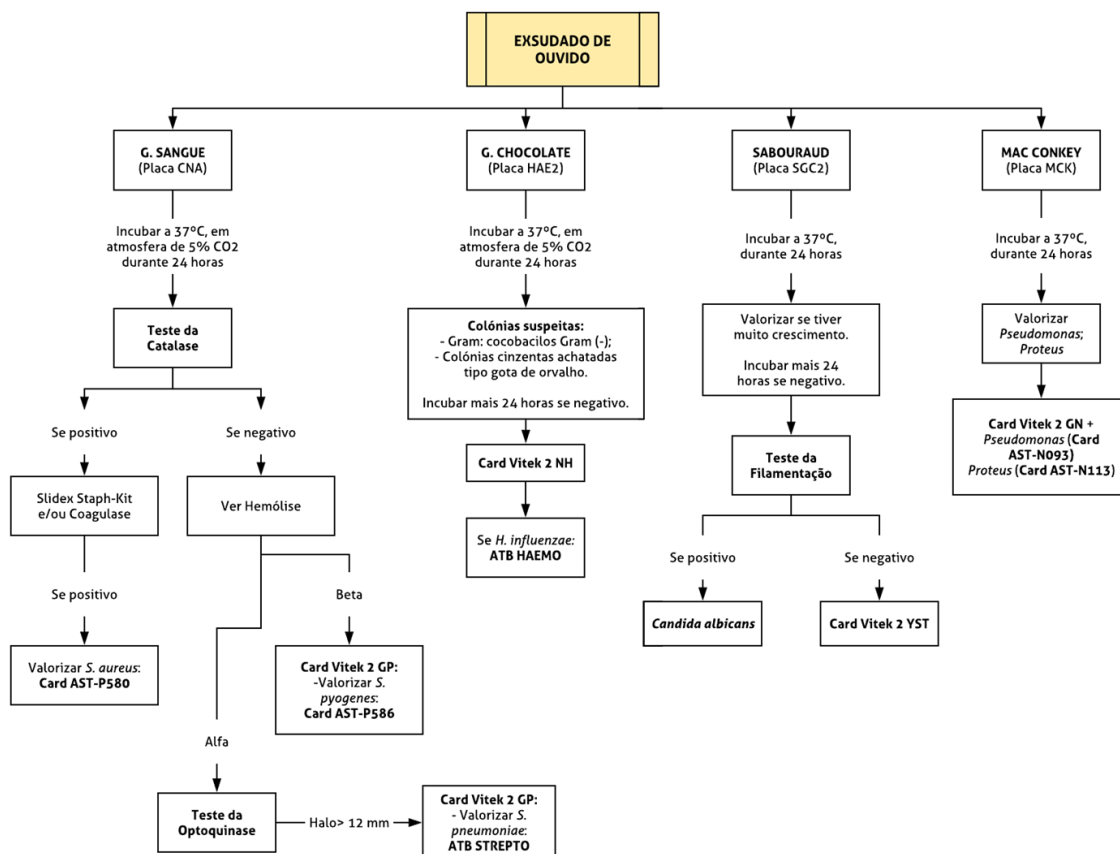


Figura 50 - Fluxograma para execução de exame microbiológico de exsudado do ouvido.

Notas: Coloração de Gram para observação das células, presença de leucócitos e tipo de flora.

## ii. Exemplos

Relativamente ao caso ilustrado na Figura 51, trata-se de uma amostra de um exsudado auricular, onde se verificou crescimento na placa de gelose de sangue, de gelose de chocolate e no meio MacConkey.

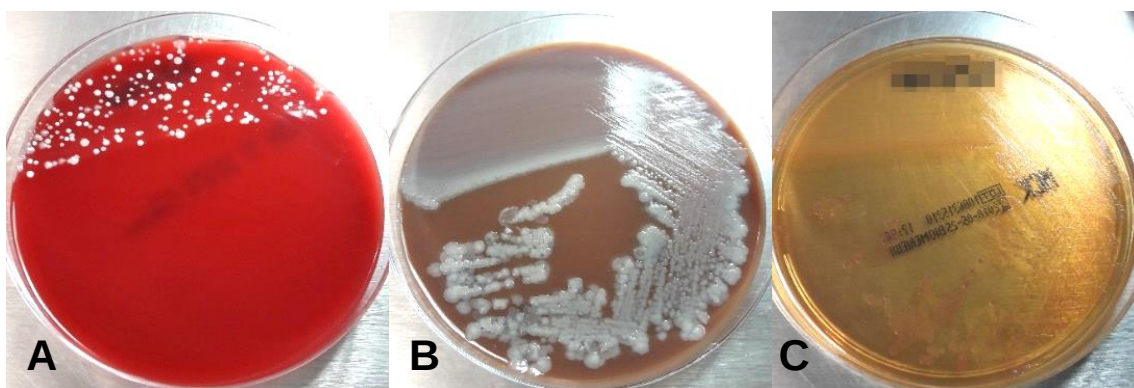


Figura 51 - Placas de cultura de um exsudado auricular. (A) Placa de gelose de sangue (CNA), com pouco crescimento. (B) Placa de gelose de chocolate, com crescimento abundante. (C) Placa de MacConkey, com crescimento abundante.

Na placa de gelose de sangue CNA (Figura 51A), verificou-se pouco crescimento. Por se poder tratar de um *Stapholococcus*, que existe normalmente na flora normal, não foi valorizado. Tanto na placa de gelose de chocolate (Figura 51B), como no meio de MacConkey (Figura 51C), verificou-se um crescimento abundante.

Na observação da coloração de Gram verificou-se a presença de poucas células epiteliais, alguns leucócitos e abundantes bacilos gram negativo.

A identificação da colônia no autoanalisador Vitek Compact® confirmou a presença de uma bactéria gram negativa, o *Proteus mirabilis*.

#### 6.4. Identificação de bactérias e realização de antibiogramas

A identificação dos microrganismos e os respectivos antibiogramas devem ser efetuados sempre que se encontre um microrganismo possivelmente patogénico no produto biológicos em estudo.

No laboratório Mesquita & Damião, quando é necessário realizar a identificação das bactérias e os seus antibiogramas, recorre-se ao autoanalisador Vitek Compact® (Figura 52), de forma a agilizar o processo.



Figura 52 - Vitek Compact®.

O Vitek Compact<sup>®</sup> é constituído por uma unidade de leitura de códigos de barras (para reconhecer as diferentes cartas de identificação e antibiogramas); uma câmara de enchimento das cartas por vácuo, sendo posteriormente seladas; e zona de incubação e leitura automática das cartas, por turbidimetria e colorimetria. Também possui o seu próprio *software* e base de dados, com o qual cruza a informação da indentação e do antibiograma.

Desta forma, a utilização do Vitek Compact<sup>®</sup> permite uma maior rapidez e segurança nos resultados obtidos.

Relativamente às cartas, estas podem ser i) de identificação, em que cada carta possui vários poços que contêm substratos bioquímicos; e ii) de antibiograma, em que a carta contém poços com os diferentes substratos de antibióticos.

Caso não seja possível utilizar o Vitek Compact<sup>®</sup>, o antibiograma é feito manualmente.

### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, foram realizadas, no laboratório, cerca de 215 análises no Vitek<sup>®</sup> (Anexo 6), onde eu trabalhei um total de 19 dias (Anexo 1).

O procedimento para a realização dos testes de identificação e dos seus testes de sensibilidade aos antibióticos era executado segundo as indicações do fornecedor. Mas, em suma, era necessário preparar uma suspensão da bactéria que pretendíamos analisar, cuja concentração era medida recorrendo à escala de McFarland, e carregá-la para as cartas que se iriam utilizar, dado que difere consoante a bactéria em estudo.

## **6.5. Virologia**

A Virologia é uma área da Patologia Clínica que se dedica ao diagnóstico laboratorial de doenças víricas.

No laboratório Mesquita & Damião, a área da virologia consiste na determinação quantitativa de marcadores virais (antigénios víricos e anticorpos contra diferentes vírus) no Cobas e411<sup>®</sup> e no aparelho Vidas<sup>®</sup>. No Cobas e411<sup>®</sup> são doseados os analitos antigénio HBs, anticorpo HBs e HIV 1+2 e no aparelho Vidas<sup>®</sup> são determinados os valores de vários analitos, como anticorpo anti-HCV, anticorpo anti-Rubéola (IgM), anticorpo anti-Rubéola (IgG), anticorpo anti-Citomegalovírus (IgM), anticorpo anti-Citomegalovírus (IgG), anticorpo anti-HBc total, antigénio HBe e anticorpo anti-HBe.

## 6.6. Parasitologia

No laboratório Mesquita & Damião, a valência da parasitologia compreende, entre outras, a utilização do aparelho Vidas<sup>®</sup>, com a determinação quantitativa dos anticorpos (IgM e IgG) anti-*Toxoplasma gondii*, e a pesquisa de elementos parasitários nos produtos biológicos, maioritariamente fezes.

### 6.6.1. Exame parasitológico de fezes

Os parasitas intestinais incluem vários microrganismos, desde vermes a protozoários, transmitindo-se, essencialmente, via fecal-oral. Em casos de suspeita clínica de parasitose intestinal, o exame parasitológico de fezes é essencial para a determinação do agente etiológico.

Para esta análises, as fezes devem ser recolhidas e entregues rapidamente ao laboratório. Depois da recolha, deve-se avaliar o aspeto da amostra, a sua consistência, a sua cor, pesquisar vermes adultos e observar microscópio, após concentração.

#### i. Atividades realizadas

Durante o meu estágio, foram realizados, no laboratório, cerca de 196 exames parasitológicos, onde eu trabalhei um total de 9 dias (Anexo 1).

O exame parasitológico iniciava-se com a avaliação macroscópica das fezes, com a observação da consistência e pesquisa de elementos parasitários. As amostras eram concentradas, usando um *kit* comercial, e, de seguida, eram observadas ao microscópio com a objetiva de 10x e com a objetiva de 40x (totalidade da lâmina com as duas objetivas).

A maioria das amostras que observei durante o estágio indicavam ser negativas, sem qualquer estrutura que apontasse para a presença de parasitas. Contudo, tive a oportunidade de observar ovos de *Enterobius vermicularis* e quistos de *Giardia lamblia*.

#### ii. Exemplos

Nas Figura 53 e Figura 54 estão representados dois tipos de parasitas que se pode encontrar nas fezes, podendo-se observar um ovo de *Enterobius vermicularis* e um quisto de *Giardia lamblia*, respetivamente.



Figura 53 - Exame a fresco de fezes. Presença de um ovo de *Enterobius vermicularis*.  
Ampliação: 400x.

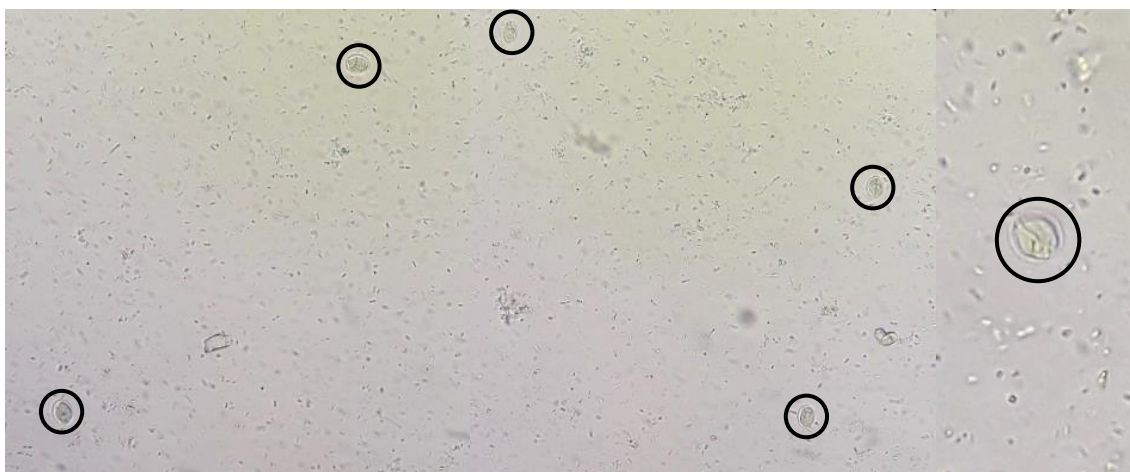


Figura 54 - Exame a fresco de fezes. Presença de quistos de *Giardia lamblia* (círculos).  
Ampliação: 400x.

## 6.7. Testes manuais para a detecção de Sífilis

A sífilis é uma doença causada por uma bactéria espiroqueta denominada *Treponema pallidum* e é, habitualmente, transmitida por via sexual e caracteriza-se por episódios de doença ativa e por períodos de latência. É uma doença de cariz crónico e pode apresentar sintomas a nível dermatológico, mas também a nível cerebral.

Durante uma infeção por esta espiroqueta, são produzidos dois tipos de anticorpos: anticorpos não treponémicos e anticorpos treponémicos específicos.

### 6.7.1. VDRL - Venereal Disease Research Laboratory

Esta análise consiste na pesquisa da presença de anticorpos não treponémicos no soro ou plasma do utente. É usado no diagnóstico e acompanhamento da terapêutica em doentes com sífilis e permite uma identificação qualitativa e semi-quantitativa dos anticorpos, uma vez que um resultado positivo pode ser quantificado posteriormente por

diluições do soro - quando maior for a diluição que se detecta o anticorpo, mais positivo é o resultado.

Os resultados dados por este teste não são específicos, pois podem surgir falsos positivos devido a outras patologias como a hepatite, mononucleose infecciosa, malária, lepra e lúpus eritematoso sistêmico. Por ser, então, um teste suscetível a falsos positivos, os resultados positivos devem ser confirmados através do teste TPHA (*Treponema pallidum haemagglutination assay*) e/ou FTA-ABS.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião é utilizado o kit Immutrep®-RPR.

### i. Atividades realizadas

Durante o meu estágio, foram realizados, no laboratório, cerca de 303 testes, onde eu trabalhei um total de 25 dias (Anexo 1).

Para executar a análise era necessário pipetar 50 µl de soro para um círculo do cartão teste, juntamente com uma gota do reagente (combinação de lectina, colesterol e cadiolipina, semelhante aos antígenos da *T. pallidum*), modificado com carvão.

A presença ou ausência de aglutinação macroscópica era examinada após agitação dos cartões de teste, durante 8 minutos. Em caso de resultado positivo, fazia-se uma titulação para testar várias diluições com soro fisiológico, e o título era referente à última diluição positiva.

### ii. Exemplos

#### Resultado negativo vs. positivo

Na Figura 55 estão representados um caso negativo (Figura 55A), devido à ausência de aglutinação, e um positivo (Figura 55B), onde são bem visíveis os agregados.

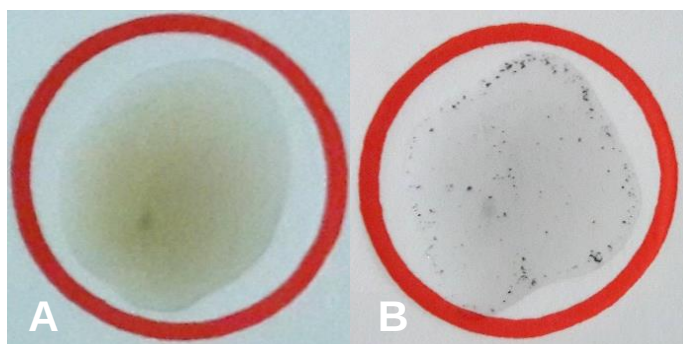


Figura 55 - Diferentes resultados obtidos no teste Venereal Disease Research Laboratory. (A) Resultado negativo, devido à ausência de aglutinação. (B) É possível observar a presença de vários grânulos, tratando-se por isso de um resultado positivo.

### Determinação do título do anticorpo

Na Figura 56 é possível observar a determinação do título de anticorpos, nos resultados positivos. Nesta figura estão representados dois casos distintos, com títulos de anticorpo diferentes.

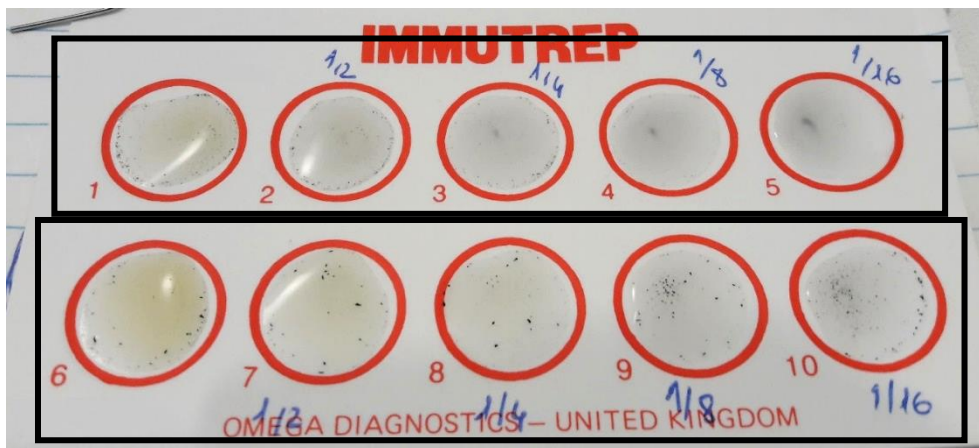


Figura 56 - Determinação do título do anticorpo, em caso de resultado positivo.

No primeiro caso, poço 1 ao 5, o utente tem um título de anticorpo de 1/8 (ou seja, 8 diluições), enquanto que no segundo caso, poço 6 ao 10, o utente tem um título superior a 1/16 (16 diluições), sendo necessário realizar mais diluições para determinar o título final.

### **6.7.2. TPHA - Treponema pallidum Haemagglutination Assay**

O TPHA é um teste que deteta anticorpos específicos para a *T. pallidum* no soro e, por isso, é utilizado para a confirmação da presença de anticorpos treponémicos específicos.

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião é utilizado o *kit* Immutrep®-TPHA, que é constituído por i) células de teste - uma suspensão de eritrócitos aviários revestidos com antígenos da bactéria; ii) células controlo - uma suspensão de eritrócitos de ave não sensibilizados com os antígenos da bactéria; iii) um diluente e iv) um soro controlo positivo (soro com anticorpos anti-*Treponema pallidum*).

Em caso de resultado positivo, verifica-se a aglutinação das células devido à presença de anticorpos específicos no soro do utente, o que forma um padrão característico no fundo do poço. Em caso de resultado negativo, observa-se um botão compacto de células no fundo do poço.

Ainda, nos casos positivos, é necessário realizar diluições sucessivas de forma a definir o título de anticorpo.

### i. Atividades realizadas

Durante o meu estágio, foram realizados, no laboratório, cerca de 16 testes, onde eu trabalhei um total de 5 dias (Anexo 1).

Este teste era realizado em placas com poços de fundo redondo que, ao longo de cada fila utilizada para a mesma amostra, continham diluições sucessivas do reagente.

Depois da adição do soro a testar, era necessário incubar durante 60 minutos e o resultado era lido logo após a incubação.

### ii. Exemplo

#### Exemplo das diluições efetuadas

Na Figura 57 está exemplificado o método TPHA. É possível verificar que, tanto no poço 3, controlo negativo, como no poço 4, poço de teste, se formou um botão de eritrócitos no fundo da placa. Logo, trata-se de um resultado negativo.

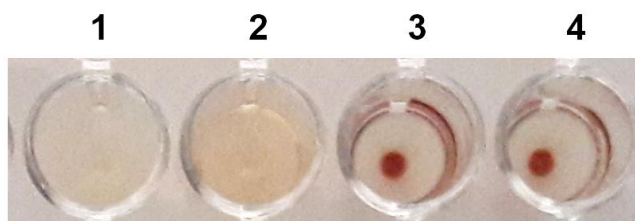


Figura 57 - Exemplo de teste para a deteção de sífilis pela técnica *Treponema pallidum* haemagglutination. Os poços 1 e 2 são os poços onde se efetua a diluição inicial, o poço 3 é o poço controlo negativo e o poço 4 é o poço de teste.

## 6.8. Dificuldades

Relativamente à análise das placas de cultura, inicialmente, tive alguma dificuldade em conseguir fazer a correta identificação das bacterias. Contudo, no final do estágio já era capaz de fazer a identificação presuntiva da maioria das uroculturas, precisando só de auxílio nos outros casos, como, por exemplo, nos exsudados.

O Vitek Compact®, à semelhança dos restantes equipamentos, era fácil de manusear a partir do momento em que já se tivesse alguma prática, pelo que nas primeiras utilizações tive alguma dificuldade por não conhecer o funcionamento do aparelho.

No que diz respeito às observações microscópicas, quer do sedimento urinário, quer dos exames parasitológicos de fezes, devido à existência de partículas nas amostras que se assemelham a achados típicos das amostras, como alguns ovos ou quistos de parasitas nas fezes, pelo que é necessária alguma prática para não emitir um falso resultado positivo.

Em relação aos testes manuais para a deteção de Sífilis, tive dificuldades em conseguir detetar os resultados positivos fracos e, no teste TPHA, em realizar as diferentes diluições.

## **7. Outros testes**

No laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, existem mais testes para além dos que foram referidos ao longo do relatório, correspondentes às áreas da bioquímica, hematologia, imunologia e microbiologia.

É possível realizar a pesquisa de drogas de abuso na urina, testes de gravidez, estudo do esperma, doseamento de fármacos, exames citológicos e testes respiratórios para pesquisa de *Helicobacter pylori*.

Todavia, uma vez que não pude realizar estes testes, à exceção da pesquisa de drogas de abuso na urina, não serão abordados neste relatório.

### **7.1. Pesquisa de drogas de abuso na urina**

Para a pesquisa de drogas de abuso na urina, é utilizado um *kit* comercial, que se baseia num método imunocromatográfico. Contrariamente ao que se verifica com restantes testes rápidos, este teste baseia-se no princípio de ligação competitiva - a droga/metabolito caso esteja na urina, vai competir com o conjugado droga-proteína por sítios de ligação ao anticorpo presente na zona do teste.

A mistura migra numa membrana por ação capilar para reagir com o anticorpo. Na presença de um resultado negativo, os anticorpos monoclonais formam um complexo com o conjugado, observando-se uma linha colorida; assim sendo, a sua ausência, indica um resultado positivo, onde os locais de ligação do anticorpo serão saturados com a droga/metabolito e não se dará a ligação ao conjugado.

#### **i. Atividades realizadas**

Durante o meu estágio, foram realizados, no laboratório, cerca de 27 testes, onde eu trabalhei um total de 2 dias (Anexo 1).

O procedimento deste teste era bastante simples: homogeneizar a urina, centrifugá-la (caso a urina estivesse turva) e, com uma pipeta, fornecida com o *kit*, colocar 3 gotas desta solução no orifício na placa de teste e esperar 5 minutos para a leitura.

## ii. Exemplos

### Resultado negativo vs. positivo

Na Figura 58 está representado a pesquisa de drogas de abuso na urina.

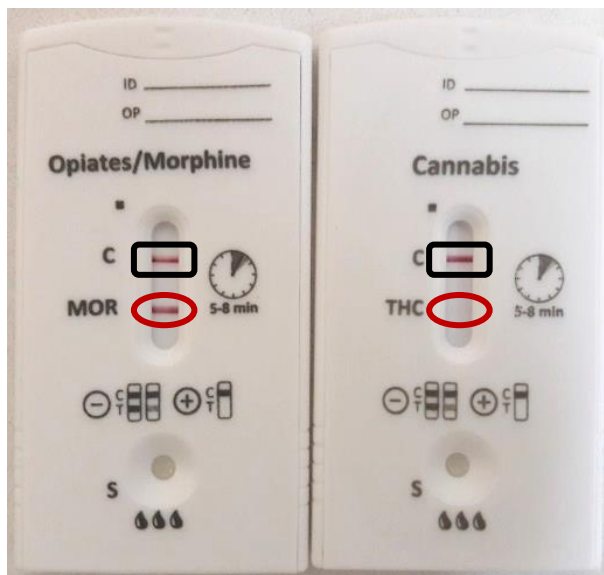


Figura 58 - Testes para pesquisa de drogas de abuso na urina, onde o primeiro teste é para a pesquisa de opiáceos e o segundo para a pesquisa de canabinóides.

O primeiro teste, onde se pesquisa a presença de opiáceos, verifica-se a presença da linha de controlo (retângulo) e da linha de teste (círculo), logo é um resultado negativo. O segundo teste, para pesquisa de canabinóides, uma vez que só apresenta a linha de controlo, é um resultado positivo.

### 7.1.2. Dificuldades

Por se tratar de um teste rápido, o procedimento era bastante simples, semelhante ao utilizado na pesquisa de sangue oculto nas fezes. Porém, a análise dos resultados era um pouco confusa, dado que normalmente a ausência da linha teste é indicativo de um resultado negativo e, neste caso, trata-se de um resultado positivo.

## 8. Fase pós-analítica

No fim das determinações dos diferentes parâmetros, os resultados são validados pelos técnicos responsáveis. A validação final dos resultados, onde se verifica a concordância de todos os parâmetros analisados para cada utente e o seu historial clínico, é realizada pelo diretor técnico.

Caso algum dos resultados obtidos ultrapasse os valores críticos estabelecidos (Tabela 3), o diretor técnico deve informar logo de seguida o respetivo médico, de forma a resolver o mais rápido possível o problema.

*Tabela 3 - Valores críticos dos parâmetros mencionados.*

| Análise                                        | Valor baixo                                                  | Valor alto                                |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <b>Hemoglobina</b>                             | <7,5 g/dl - Sair urgente<br>7,5 - 8,0 g/dl - Avisar o utente | >19 g/dl                                  |
| <b>Plaquetas</b>                               | <30×10 <sup>9</sup> /l                                       | >1000×10 <sup>9</sup> /l                  |
| <b>Tempo de Protrombina</b>                    | -                                                            | >40 s ou INR>5                            |
| <b>Tempo de Tromboplastina Parcial ativada</b> | -                                                            | >90 s                                     |
| <b>Glicose</b>                                 | <40 mg/dl                                                    | >500 mg/dl<br>>200 mg/dl se não diabético |
| <b>Triglicerídeos</b>                          | -                                                            | >1000 mg/dl                               |
| <b>Fósforo</b>                                 | <1 mg/dl                                                     | -                                         |
| <b>Potássio</b>                                | <2,5 mEq/l                                                   | >6,5 mEq/l                                |
| <b>Sódio</b>                                   | <120 mEq/l                                                   | >160 mEq/l                                |
| <b>Cálcio</b>                                  | <6 mg/dl                                                     | >14 mg/dl                                 |

*INR, International Normalized Ratio.*

Ainda, segundo o Despacho 5681-A-2014 de 29/Abril, existem algumas doenças de notificação obrigatória (Figura 59). Caso alguma das doenças mencionadas na figura seja detetada no laboratório, o diretor técnico deverá proceder à notificação na plataforma online (<https://sinave.min-saude.pt/SINAVE.MIN-SAUDE/login.html>).

**Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, Lda.**  
**Relatório de Estágio**

|                                                   |                                                                                   |                                                            |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Botulismo                                         | Giardíase                                                                         | Raiva                                                      |
| Brucelose                                         | Gonorreia                                                                         | Rubéola Congénita                                          |
| Campilobacteriose                                 | Gripe Não Sazonal                                                                 | Rubéola, excluindo Rubéola Congénita                       |
| Cólera                                            | Hepatite A                                                                        | Salmoneloses não Typhi e não Paratyphi                     |
| Criptosporidiose                                  | Hepatite B                                                                        | Sarampo                                                    |
| Dengue                                            | Hepatite C                                                                        | Shigelose                                                  |
| Difteria                                          | Hepatite E                                                                        | Sífilis Congénita                                          |
| Doença de Creutzfeldt-Jakob (DCJ)                 | Infeção por <i>Bacillus anthracis</i>                                             | Sífilis, excluindo Sífilis Congénita                       |
| Doença de Creutzfeldt-Jakob variante(DCJ)         | Infeção por <i>Chlamydia trachomatis</i> , excluindo Linfgranuloma Venéreo        | Síndrome Respiratória Aguda – SARS                         |
| Doença de Hansen (Lepra)                          | Infeção por <i>Clamydia trachomatis</i> - Linfgranuloma Venéreo                   | Tétano, excluindo Tétano Neonatal                          |
| Doença de Lyme (Borreliose)                       | Infeção por <i>Escherichia coli</i> produtora de Toxina Shiga ou Vero (Stec/Vtec) | Tétano Neonatal                                            |
| Doença dos Legionários                            | Infeção por vírus do Nilo Ocidental                                               | Tosse Convulsa                                             |
| Doença Invasiva Meningocócica                     | Leishmaniose Visceral                                                             | Toxoplasmose Congénita                                     |
| Doença Invasiva Pneumocócica                      | Leptospirose                                                                      | Triquinelose                                               |
| Doença Invasiva por <i>Haemophilus influenzae</i> | Listeriose                                                                        | Tuberculose                                                |
| Equinococose/Hidatidose                           | Malária                                                                           | Tularémia                                                  |
| Febre Amarela                                     | Paralisia Flácida Aguda                                                           | Varíola                                                    |
| Febre Escaro-Nodular (Ricketsiose)                | Parotidite Epidémica                                                              | VIH (Infeção pelo vírus da imunodeficiência humana) e SIDA |
| Febre Q                                           | Peste                                                                             | Yersiniose                                                 |
| Febre Tifóide e Febre Paratífóide                 | Poliomielite Aguda                                                                |                                                            |
| Febres Hemorrágicas Virais e Febres por Arbovírus |                                                                                   |                                                            |

Figura 59 - Lista de doenças de declaração obrigatória.

## 9. Casos clínicos

### 9.1. Caso 1

Colheita a junho de 2016 (Figura 60)

Motivo: análises de rotina.

#### Informações relevantes

Utente do género feminino, com 20 anos.

#### História familiar

Mãe saudável, apresenta ligeira trombocitopenia.

Pai saudável.

| HEMATOLOGIA                                                          |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|------------|------------|
| Análises                                                             | Resultados/Unidades |                      | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |            |            |
|                                                                      |                     |                      |                                                      | 25-08-2011            | 05-12-2009 | 05-07-2008 |
| <b>HEMOGRAMA</b>                                                     |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| <i>Método: Citometria Fluxo/Fluorescência/Impedância/Microscopia</i> |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| <b>ERITROGRAMA</b>                                                   |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| Eritrócitos                                                          | 5.11                | x10 <sup>12</sup> /L | 3.80 - 5.30                                          | 4.64                  | 4.94       | 5.11       |
| Hemoglobina                                                          | 14.2                | g/dL                 | 11.7 - 15.5                                          | 13.0                  | 13.9       | 14.2       |
| Hematócrito                                                          | 42.3                | %                    | 35.0 - 47.0                                          | 38.1                  | 41.2       | 42.3       |
| VGM(Vol.Gl.Médio)                                                    | 82.8                | fl                   | 80.0 - 101.0                                         | 82.1                  | 83.4       | 82.8       |
| HGM(Hg.Gl.Média)                                                     | 27.8                | pg                   | 27.0 - 34.0                                          | 28.0                  | 28.1       | 27.8       |
| CHGM(Conc.Hg.Gl.Média)                                               | 33.6                | g/dL                 | 32.0 - 36.0                                          | 34.1                  | 33.7       | 33.6       |
| RDW-CV                                                               | 13.4                | %                    | 11.5 - 15.0                                          | 13.6                  | 13.3       | 14.1       |
| <b>LEUCOGRAMA</b>                                                    |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| Leucócitos                                                           | 8.3                 | x10 <sup>9</sup> /L  | 4.0 - 10.0                                           | 7.6                   | 6.5        | 6.9        |
| Neutrófilos                                                          | 44.9 %              | 3.7                  | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 55.0                  | 51.9       | 58.9       |
| Eosinófilos                                                          | 5.1 %               | 0.4                  | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 1.1                   | 1.5        | 1.0        |
| Basófilos                                                            | 0.4 %               | 0.0                  | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 0.1                   | 0.2        | 0.1        |
| Linfócitos                                                           | 43.4 %              | 3.6                  | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 38.0                  | 38.6       | 34.8       |
| Monócitos                                                            | 6.2 %               | 0.5                  | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 5.8                   | 7.8        | 5.2        |
| <b>PLAQUETAS</b>                                                     |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| <i>Método: Impedância e foco hidrodinâmico</i>                       |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
|                                                                      | 138                 | x10 <sup>9</sup> /L  | 150 - 400                                            | 129                   | 145        |            |
| BIOQUÍMICA GERAL                                                     |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| Análises                                                             | Resultados/Unidades |                      | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |            |            |
|                                                                      |                     |                      |                                                      | 05-12-2009            | 05-07-2008 | 27-11-2007 |
| <b>ÁCIDO ÚRICO</b>                                                   |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| <i>Método: Colorimétrico enz.</i>                                    |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
|                                                                      | 3.9                 | mg/dL                | 2.0 - 5.8                                            | 4.4                   | 3.8        | 3.5        |
| <b>CREATININA</b>                                                    |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| <i>Método: Colorimétrico</i>                                         |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
|                                                                      | 0.64                | mg/dL                | 0.50 - 0.90                                          | 0.60                  | 0.62       | 0.57       |
| <b>UREIA</b>                                                         |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| <i>Método: Cinético</i>                                              |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
|                                                                      | 24                  | mg/dL                | 10 - 50                                              | 22                    | 26         | 21         |

Figura 60 - Boletim analítico da utente (junho/2016).

| <b>BIOQUÍMICA GERAL</b>                               |                     |       |                                                                         |                       |            |           |
|-------------------------------------------------------|---------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------|-----------|
| Análises                                              | Resultados/Unidades |       | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade)                    | Resultados Anteriores |            |           |
|                                                       |                     |       |                                                                         | 05-12-2009            | 05-07-2008 | 27-11-200 |
| GAMA GT<br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>          | <b>9</b>            | U/L   | 5 - 36                                                                  | 11                    | 10         | 10        |
| BILIRRUBINA TOTAL<br><i>Método: Colorimétrico</i>     | <b>0.46</b>         | mg/dL | 0.30-1.20                                                               | 0.91                  | 0.81       | 0.76      |
| BILIRRUBINA DIRECTA<br><i>Método: Colorimétrico</i>   | <b>0.21</b>         | mg/dL | < 0.30                                                                  | 0.28                  | 0.15       | 0.22      |
| COLESTEROL- HDL<br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>  | <b>76</b>           | mg/dL |                                                                         |                       |            |           |
|                                                       |                     |       | Baixo risco: > 60<br>Risco moderado: 40 - 60<br>Risco elevado: < 40     |                       |            |           |
| COLESTEROL TOTAL<br><i>Método: Colorimétrico enz.</i> | <b>166</b>          | mg/dL |                                                                         | 118                   |            |           |
|                                                       |                     |       | Baixo risco: < 190<br>Risco moderado: 190 - 240<br>Risco elevado: > 240 |                       |            |           |
| FERRO SÉRICO<br><i>Método: Colorimétrico</i>          | <b>82</b>           | µg/dL | 37 - 145                                                                | 108                   | 101        | 71        |

| <b>ENDOCRINOLOGIA</b>                                                        |                     |        |                                                      |                       |  |  |
|------------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------|------------------------------------------------------|-----------------------|--|--|
| Análises                                                                     | Resultados/Unidades |        | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |  |  |
|                                                                              |                     |        |                                                      |                       |  |  |
| T3 (TRIIODOTIRONINA TOTAL)<br><i>Método: Electroquimioluminescência</i>      | <b>181</b>          | ng/dL  | 80 - 200                                             |                       |  |  |
| F T4 (TIROXINA LIVRE)<br><i>Método: Electroquimioluminescência</i>           | <b>1.26</b>         | ng/dL  | 0.93 - 1.70                                          |                       |  |  |
| T.S.H. (H. ESTIMULANTE TIRÓIDE)<br><i>Método: Electroquimioluminescência</i> | <b>1.97</b>         | µUI/mL | 0.270 - 4.20                                         |                       |  |  |

Figura 60 - Boletim analítico da utente (junho/2016). (continuação)

## Colheita a março de 2018 (Figura 61)

Motivo: análises de rotina.

| <b>HEMATOLOGIA</b>                                                                       |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|------------|------------|
| Análises                                                                                 | Resultados/Unidades |                      | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |            |            |
|                                                                                          |                     |                      |                                                      | 04-06-2016            | 25-08-2011 | 05-12-2009 |
| <b>HEMOGRAMA</b><br><i>Método: Citometria Fluxo/Fluorescência/impedância/Microscopia</i> |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| <b>ERITROGRAMA</b>                                                                       |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| Eritrócitos                                                                              | <b>4.85</b>         | x10 <sup>12</sup> /L | 3.80 - 5.30                                          | 5.11                  | 4.64       | 4.94       |
| Hemoglobina                                                                              | <b>13.3</b>         | g/dL                 | 11.7 - 15.5                                          | 14.2                  | 13.0       | 13.9       |
| Hematócrito                                                                              | <b>40.1</b>         | %                    | 35.0 - 47.0                                          | 42.3                  | 38.1       | 41.2       |
| VGM(Vol.Gl.Médio)                                                                        | <b>82.7</b>         | fL                   | 80.0 - 101.0                                         | 82.8                  | 82.1       | 83.4       |
| HGM(Hg.Gl.Média)                                                                         | <b>27.4</b>         | pg                   | 27.0 - 34.0                                          | 27.8                  | 28.0       | 28.1       |
| CHGM(Conc.Hg.Gl.Média)                                                                   | <b>33.2</b>         | g/dL                 | 32.0 - 36.0                                          | 33.6                  | 34.1       | 33.7       |
| RDW-CV                                                                                   | <b>14.0</b>         | %                    | 11.5 - 15.0                                          | 13.4                  | 13.6       | 13.3       |
| <b>LEUCOGRAMA</b>                                                                        |                     |                      |                                                      |                       |            |            |
| Leucócitos                                                                               | <b>7.5</b>          | x10 <sup>9</sup> /L  | 4.0 - 10.0                                           | 8.3                   | 7.6        | 6.5        |
| Neutrófilos                                                                              | <b>49.6 %</b>       | <b>3.7</b>           | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 44.9                  | 55.0       | 51.9       |
| Eosinófilos                                                                              | <b>0.7 %</b>        | <b>0.1</b>           | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 5.1                   | 1.1        | 1.5        |
| Basófilos                                                                                | <b>0.3 %</b>        | <b>0.0</b>           | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 0.4                   | 0.1        | 0.2        |
| Linfócitos                                                                               | <b>42.3 %</b>       | <b>3.2</b>           | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 43.4                  | 38.0       | 38.6       |
| Monócitos                                                                                | <b>7.1 %</b>        | <b>0.5</b>           | x10 <sup>9</sup> /L                                  | 6.2                   | 5.8        | 7.8        |
| PLAQUETAS<br><i>Método: Impedância e foco hidrodinâmico</i>                              | <b>159</b>          | x10 <sup>9</sup> /L  | 150 - 400                                            | 138                   | 129        | 145        |

Figura 61 - Boletim analítico da utente (março/2018).

| <b>BIOQUÍMICA GERAL</b>                               |                     |       |                                                      |                       |            |            |
|-------------------------------------------------------|---------------------|-------|------------------------------------------------------|-----------------------|------------|------------|
| Análises                                              | Resultados/Unidades |       | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |            |            |
|                                                       |                     |       |                                                      | 04-06-2016            | 05-12-2009 | 05-07-2008 |
| GLICOSE<br><i>Método: Hexoquinase</i>                 | <b>97</b>           | mg/dL | 70 - 110                                             |                       | 89         | 94         |
| CREATININA<br><i>Método: Colorimétrico</i>            | <b>0.73</b>         | mg/dL | 0.50 - 0.90                                          | 0.64                  | 0.60       | 0.62       |
| COLESTEROL- HDL<br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>  | <b>71</b>           | mg/dL | > 45                                                 | 76                    |            |            |
| TRIGLICERÍDEOS<br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>   | <b>120</b>          | mg/dL | < 150                                                |                       |            |            |
| COLESTEROL TOTAL<br><i>Método: Colorimétrico enz.</i> | <b>164</b>          | mg/dL | < 190                                                | 166                   | 118        |            |

Figura 61 - Boletim analítico da utente (março/2018). (continuação)

### Colheita a junho de 2018 (Figura 62)

Motivo: aparecimento de equimoses, sem razão aparente.

| <b>HEMATOLOGIA</b>                                                                       |                     |                     |                                                      |                       |            |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|------------|------------|
| Análises                                                                                 | Resultados/Unidades |                     | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |            |            |
|                                                                                          |                     |                     |                                                      | 06-03-2018            | 04-06-2016 | 25-08-2011 |
| <b>HEMOGRAMA</b><br><i>Método: Citometria Fluxo/Fluorescência/Impedância/Microscopia</i> |                     |                     |                                                      |                       |            |            |
| <b>ERITROGRAMA</b>                                                                       |                     |                     |                                                      |                       |            |            |
| Eritrócitos                                                                              | <b>5.14</b>         | $\times 10^{12}$ /L | 3.80 - 5.30                                          | 4.85                  | 5.11       | 4.64       |
| Hemoglobina                                                                              | <b>13.9</b>         | g/dL                | 11.7 - 15.5                                          | 13.3                  | 14.2       | 13.0       |
| Hematócrito                                                                              | <b>42.2</b>         | %                   | 35.0 - 47.0                                          | 40.1                  | 42.3       | 38.1       |
| VGM(Vol.Gl.Médio)                                                                        | <b>82.1</b>         | fL                  | 80.0 - 101.0                                         | 82.7                  | 82.8       | 82.1       |
| HGM(Hg.Gl.Média)                                                                         | <b>27.0</b>         | pg                  | 27.0 - 34.0                                          | 27.4                  | 27.8       | 28.0       |
| CHGM(Conc.Hg.Gl.Média)                                                                   | <b>32.9</b>         | g/dL                | 32.0 - 36.0                                          | 33.2                  | 33.6       | 34.1       |
| RDW-CV                                                                                   | <b>13.6</b>         | %                   | 11.5 - 15.0                                          | 14.0                  | 13.4       | 13.6       |
| <b>LEUCOGRAMA</b>                                                                        |                     |                     |                                                      |                       |            |            |
| Leucócitos                                                                               | <b>8.8</b>          | $\times 10^9$ /L    | 4.0 - 10.0                                           | 7.5                   | 8.3        | 7.6        |
| Neutrófilos                                                                              | <b>57.9 %</b>       | $\times 10^9$ /L    | 1.6 - 6.9                                            | 49.6                  | 44.9       | 55.0       |
| Eosinófilos                                                                              | <b>2.0 %</b>        | $\times 10^9$ /L    | 0.0 - 0.6                                            | 0.7                   | 5.1        | 1.1        |
| Basófilos                                                                                | <b>0.2 %</b>        | $\times 10^9$ /L    | 0.0 - 0.2                                            | 0.3                   | 0.4        | 0.1        |
| Linfócitos                                                                               | <b>34.0 %</b>       | $\times 10^9$ /L    | 1.2 - 3.9                                            | 42.3                  | 43.4       | 38.0       |
| Monócitos                                                                                | <b>5.9 %</b>        | $\times 10^9$ /L    | 0.1 - 0.8                                            | 7.1                   | 6.2        | 5.8        |
| <b>PLAQUETAS</b><br><i>Método: Impedância e foco hidrodinâmico</i>                       |                     |                     |                                                      |                       |            |            |
|                                                                                          | <b>143</b>          | $\times 10^9$ /L    | 150 - 400                                            | 159                   | 138        | 129        |

Figura 62 - Boletim analítico da utente (junho/2018).

Observação: Por se tratar de uma utente com histórico de trombocitopenia, o hemograma foi realizado logo após a colheita, de forma a evitar agregação plaquetária.

**A utilização destes boletins foi autorizada pela utente.**

### Discussão

Este caso trata-se de uma utente saudável, que apresenta história familiar de trombocitopenia.

Relativamente ao hemograma, este apresentava-se normal à exceção do número de plaquetas, onde a utente apresentava ligeira trombocitopenia mas que era concordante com o seu histórico.

Os parâmetros bioquímicos e endocrinológicos estavam também normais.

Decorrido cerca de dois anos, a utente realizou novas análises de rotina, onde se observou uma melhoria no número de plaquetas, não apresentando trombocitopenia. Os restantes parâmetros, quer hematológicos, quer bioquímicos, estavam normais.

Após nova análise do hemograma, a utente voltou a apresentar trombocitopenia.

Com isto é possível concluir de que se trata de uma utente saudável mas que, por norma, apresenta trombocitopenia, pelo que deve vigiar os valores das plaquetas de forma a evitar possíveis eventos trombóticos.

## 9.2. Caso 2

### Colheita a maio de 2016 (Figura 63)

Motivo: análises de rotina (maio de 2016).

#### Informações relevantes

Utente do género masculino, com 57 anos.

Fumador.

#### História familiar

Mãe diabética (Diabetes Mellitus do tipo II).

Pai saudável.

| <b>BIOQUÍMICA GERAL</b>                                                                          |                     |                                                                         |                       |            |            |  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------|------------|--|
| Análises                                                                                         | Resultados/Unidades | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade)                    | Resultados Anteriores |            |            |  |
|                                                                                                  |                     |                                                                         | 25-05-2013            | 05-12-2009 | 20-12-2008 |  |
| <b>HEMOGLOBINA GLICADA (NGSP/DCCT)</b><br><i>Método: HPLC (NGSP/DCCT) Padronização IFCC</i>      | <b>5.3</b> %        | < 6.5                                                                   |                       |            |            |  |
| Hemoglobina glicada (IFCC)                                                                       | 34                  | mmol/mol                                                                |                       |            |            |  |
| Glicemia média estimada (GME)                                                                    | 105                 | mg/dL                                                                   |                       |            |            |  |
| <b>GLICOSE</b><br><i>Método: Hexoquinase</i>                                                     | <b>104</b> mg/dL    | 70 - 110                                                                | 108                   | 99         | 97         |  |
| <b>CREATININA</b><br><i>Método: Colorimétrico</i>                                                | <b>0.56</b> mg/dL   | 0.70 - 1.20                                                             | 0.61                  | 0.68       | 0.66       |  |
| <b>UREIA</b><br><i>Método: Cinético</i>                                                          | <b>35</b> mg/dL     | 10 - 50                                                                 | 26                    | 28         |            |  |
| <b>GAMA GT</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>                                              | <b>28</b> U/L       | 8 - 61                                                                  | 38                    | 31         | 38         |  |
| <b>BILIRRUBINA TOTAL</b><br><i>Método: Colorimétrico</i>                                         | <b>0.65</b> mg/dL   | 0.30-1.20                                                               | 0.78                  |            | 1.84       |  |
| <b>BILIRRUBINA DIRECTA</b><br><i>Método: Colorimétrico</i>                                       | <b>0.23</b> mg/dL   | < 0.30                                                                  | 0.25                  |            | 0.38       |  |
| <b>COLESTEROL- HDL</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>                                      | <b>26</b> mg/dL     |                                                                         | 43                    | 43         |            |  |
|                                                                                                  |                     | Baixo risco: > 60<br>Risco moderado: 40 - 60<br>Risco elevado: < 40     |                       |            |            |  |
| <b>TRIGLICERÍDEOS</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>                                       | <b>806</b> mg/dL    |                                                                         | 152                   | 98         | 162        |  |
|                                                                                                  | Soro lipêmico       | Baixo risco: < 150<br>Risco moderado: 150 - 200<br>Risco elevado: > 200 |                       |            |            |  |
| <b>COLESTEROL TOTAL</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>                                     | <b>174</b> mg/dL    |                                                                         | 150                   |            | 126        |  |
|                                                                                                  |                     | Baixo risco: < 190<br>Risco moderado: 190 - 240<br>Risco elevado: > 240 |                       |            |            |  |
| <b>MARCADORES TUMORAIS</b>                                                                       |                     |                                                                         |                       |            |            |  |
| Análises                                                                                         | Resultados/Unidades | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade)                    | Resultados Anteriores |            |            |  |
|                                                                                                  |                     |                                                                         | 25-05-2013            | 20-12-2008 | 16-11-2005 |  |
| <b>P.S.A. TOTAL (Ag. Total Especi. da Próstata)</b><br><i>Método: Electroquimioluminescência</i> | <b>1.46</b> ng/mL   | < 3.10                                                                  | 1.28                  | 1.13       | 0.97       |  |
| <b>ESTUDO DAS FEZES</b>                                                                          |                     |                                                                         |                       |            |            |  |
| Análises                                                                                         | Resultados/Unidades | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade)                    | Resultados Anteriores |            |            |  |
| <b>PESQ. SANGUE OCULTO NAS FEZES (Rastreio)</b><br><i>Método: Imunocromatografia</i>             |                     |                                                                         |                       |            |            |  |
| 1ª Dejeção                                                                                       | <b>Negativo</b>     |                                                                         |                       |            |            |  |
| <b>PESQ. SANGUE OCULTO NAS FEZES (Rastreio)</b><br><i>Método: Imunocromatografia</i>             |                     |                                                                         |                       |            |            |  |
| 2ª Dejeção                                                                                       | <b>Negativo</b>     |                                                                         |                       |            |            |  |
| <b>PESQ. SANGUE OCULTO NAS FEZES (Rastreio)</b><br><i>Método: Imunocromatografia</i>             |                     |                                                                         |                       |            |            |  |
| 3ª Dejeção                                                                                       | <b>Negativo</b>     |                                                                         |                       |            |            |  |

Figura 63 - Boletim analítico do utente (maio/2016).

### Observações

Foi realizada nova colheita, no mês seguinte, para confirmação do valor de triglicéridos onde foi obtido o valor de 195 mg/dl (junho de 2016)

## Colheita a março de 2018 (Figura 64)

Motivo: Análises de rotina.

### Informações relevantes

O utente deixou de fumar em janeiro.

| HEMATOLOGIA                                                          |                           |                                                      |                       |            |            |  |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|------------|------------|--|
| Análises                                                             | Resultados/Unidades       | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |            |            |  |
|                                                                      |                           |                                                      | 25-05-2013            | 05-12-2009 | 20-12-2008 |  |
| <b>HEMOGRAMA</b>                                                     |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| <i>Método: Citometria Fluxo/Fluorescência/impedância/Microscopia</i> |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| <b>ERITROGRAMA</b>                                                   |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| Eritrócitos                                                          | 5.15 x10 <sup>12</sup> /L | 4.20 - 5.60                                          | 5.01                  | 5.08       | 5.09       |  |
| Hemoglobina                                                          | 16.4 g/dL                 | 13.5 - 17.3                                          | 15.8                  | 16.1       | 16.0       |  |
| Hematócrito                                                          | 47.7 %                    | 39.0 - 51.0                                          | 46.1                  | 45.6       | 47.1       |  |
| VGM(Vol. Gl. Médio)                                                  | 92.6 fL                   | 80.0 - 101.0                                         | 92.0                  | 89.8       | 92.5       |  |
| HGM(Hg. Gl. Média)                                                   | 31.8 pg                   | 27.0 - 34.0                                          | 31.5                  | 31.7       | 31.4       |  |
| CHGM(Conc. Hg. Gl. Média)                                            | 34.4 g/dL                 | 32.0 - 36.0                                          | 34.3                  | 35.3       | 34.0       |  |
| RDW-CV                                                               | 12.6 %                    | 11.5 - 15.0                                          | 12.6                  | 12.3       | 12.3       |  |
| <b>LEUCOGRAMA</b>                                                    |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| Leucócitos                                                           | 6.9 x10 <sup>9</sup> /L   | 4.0 - 10.0                                           | 6.3                   | 6.4        | 7.5        |  |
| Neutrófilos                                                          | 72.3 %                    | 5.0 x10 <sup>9</sup> /L                              | 64.9                  | 64.6       | 62.3       |  |
| Eosinófilos                                                          | 1.3 %                     | 0.1 x10 <sup>9</sup> /L                              | 2.4                   | 2.4        | 2.3        |  |
| Basófilos                                                            | 0.1 %                     | 0.0 x10 <sup>9</sup> /L                              | 0.2                   | 0.2        | 0.1        |  |
| Linfócitos                                                           | 18.9 %                    | 1.3 x10 <sup>9</sup> /L                              | 25.2                  | 26.5       | 28.5       |  |
| Monócitos                                                            | 7.4 %                     | 0.5 x10 <sup>9</sup> /L                              | 7.3                   | 6.3        | 6.8        |  |
| <b>PLAQUETAS</b>                                                     | 182 x10 <sup>9</sup> /L   | 150 - 400                                            | 166                   | 181        |            |  |
| <i>Método: Impedância e foco hidrodinâmico</i>                       |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| BIOQUÍMICA GERAL                                                     |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| Análises                                                             | Resultados/Unidades       | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |            |            |  |
|                                                                      |                           |                                                      | 25-06-2016            | 23-05-2016 | 25-05-2013 |  |
| <b>GLICOSE</b>                                                       | 114 mg/dL                 | 70 - 110                                             |                       | 104        | 108        |  |
| <i>Método: Hexoquinase</i>                                           |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| <b>CREATININA</b>                                                    | 0.87 mg/dL                | 0.70 - 1.20                                          |                       | 0.56       | 0.61       |  |
| <i>Método: Colorimétrico</i>                                         |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| <b>COLESTEROL- HDL</b>                                               | 52 mg/dL                  | > 40                                                 |                       | 26         | 43         |  |
| <i>Método: Colorimétrico enz.</i>                                    |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| <b>TRIGLICERÍDEOS</b>                                                | 78 mg/dL                  | < 150                                                | 195                   | 806        | 152        |  |
| <i>Método: Colorimétrico enz.</i>                                    |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| <b>COLESTEROL TOTAL</b>                                              | 134 mg/dL                 | < 190                                                | 25-06-2016            | 23-05-2016 | 25-05-2013 |  |
| <i>Método: Colorimétrico enz.</i>                                    |                           |                                                      |                       |            |            |  |
|                                                                      |                           |                                                      | 174                   | 150        |            |  |
| MARCADORES TUMORAIS                                                  |                           |                                                      |                       |            |            |  |
| Análises                                                             | Resultados/Unidades       | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores |            |            |  |
|                                                                      |                           |                                                      | 23-05-2016            | 25-05-2013 | 20-12-2008 |  |
| <b>P.S.A. TOTAL (Ag. Total Espec. da Próstata)</b>                   | 1.61 ng/mL                | < 3.10                                               | 1.46                  | 1.28       | 1.13       |  |
| <i>Método: Electroquimioluminescência</i>                            |                           |                                                      |                       |            |            |  |

Figura 64 - Boletim analítico do utente (março/2018).

A utilização destes boletins foi autorizada pelo utente.

### Discussão

Este caso clínico é referente a um utente com história familiar de diabetes mellitus do tipo II. Por esta razão, na análise realizada em 2016, foi requisitado, pelo médico de família, o doseamento da hemoglobina glicada, que deu normal.

Relativamente aos restantes parâmetros do boletim, estes encontravam-se normais à exceção dos triglicerídeos, que apresentava um valor de 806 mg/dl, bastante superior ao valor de referência, <150 mg/dl.

Decorrido um mês, foi realizada uma nova colheita, onde os valores de triglicéridos diminuíram, contudo continuavam acima do valor de referência. Esta variação dos resultados deveu-se ao facto do utente, aquando da primeira colheita, não ter tido cuidado prévio com a alimentação, o que provocou um aumento dos níveis dos triglicerídeos.

Nas novas análises de rotina, observou-se a completa normalização dos triglicerídeos, porém, também se observou um aumento da glicemia, estando ligeiramente acima dos valores de referência.

Ainda, é possível observar que os valores de PSA têm vindo a aumentar, gradualmente.

Em suma, este utente apresenta alterações que podem potenciar o desenvolvimento da diabetes do tipo II, pelo que deverá ter cuidados acrescidos de forma a evitar o seu desenvolvimento.

### **9.3. Caso 3**

#### **Colheita a março de 2018 (Figura 65)**

Motivo: aparecimento de feridas sem causa aparente.

#### Informações relevantes

Utente do género masculino, com 23 anos.

Atleta.

#### História familiar

Mãe saudável.

Pai apresenta distúrbios no metabolismo do ferro.

### HEMATOLOGIA

| Análises                                                                                 | Resultados/Unidades       | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores<br>19-09-2009 |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>HEMOGRAMA</b><br><i>Método: Citometria Fluxo/Fluorescência/Impedância/Microscopia</i> |                           |                                                      |                                     |
| <b>ERITROGRAMA</b>                                                                       |                           |                                                      |                                     |
| Eritrócitos                                                                              | 5.01 x10 <sup>12</sup> /L | 4.20 - 5.60                                          | 4.92                                |
| Hemoglobina                                                                              | 14.9 g/dL                 | 13.5 - 17.3                                          | 14.8                                |
| Hematócrito                                                                              | 44.5 %                    | 39.0 - 51.0                                          | 43.3                                |
| VGM(Vol.Gl.Médio)                                                                        | 88.8 fl                   | 80.0 - 101.0                                         | 88.0                                |
| HGM(Hg.Gl.Média)                                                                         | 29.7 pg                   | 27.0 - 34.0                                          | 30.1                                |
| CHGM(Conc.Hg.Gl.Média)                                                                   | 33.5 g/dL                 | 32.0 - 36.0                                          | 34.2                                |
| RDW-CV                                                                                   | 12.9 %                    | 11.5 - 15.0                                          | 14.1                                |
| <b>LEUCOGRAMA</b>                                                                        |                           |                                                      |                                     |
| Leucócitos                                                                               | 6.4 x10 <sup>9</sup> /L   | 4.0 - 10.0                                           | 5.8                                 |
| Neutrófilos                                                                              | 57.8 %                    | 3.7 x10 <sup>9</sup> /L                              | 53.3                                |
| Eosinófilos                                                                              | 1.7 %                     | 0.1 x10 <sup>9</sup> /L                              | 0.9                                 |
| Basófilos                                                                                | 0.3 %                     | 0.0 x10 <sup>9</sup> /L                              | 0.2                                 |
| Linfócitos                                                                               | 34.8 %                    | 2.2 x10 <sup>9</sup> /L                              | 39.8                                |
| Monócitos                                                                                | 5.4 %                     | 0.3 x10 <sup>9</sup> /L                              | 5.8                                 |
| <b>PLAQUETAS</b><br><i>Método: Impedância e foco hidrodinâmico</i>                       | 268 x10 <sup>9</sup> /L   | 150 - 400                                            |                                     |

### BIOQUÍMICA GERAL

| Análises                                                           | Resultados/Unidades | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores<br>19-09-2009 |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>GLICOSE</b><br><i>Método: Hexoquinase</i>                       | 77 mg/dL            | 70 - 110                                             | 77                                  |
| <b>CREATININA</b><br><i>Método: Colorimétrico</i>                  | 0.88 mg/dL          | 0.70 - 1.20                                          | 0.71                                |
| <b>COLESTEROL- HDL</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>        | 71 mg/dL            | > 40                                                 |                                     |
| <b>TRIGLICERÍDEOS</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>         | 51 mg/dL            | < 150                                                |                                     |
| <b>COLESTEROL TOTAL</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>       | 235 mg/dL           | < 190                                                |                                     |
| <b>FERRITINA</b><br><i>Método: Electroquimioluminescência</i>      | 212 ng/mL           | 30 - 400                                             |                                     |
| <b>FERRO SÉRICO</b><br><i>Método: Colorimétrico</i>                | 88 µg/dL            | 58 - 158                                             |                                     |
| <b>CAPACIDADE FIXAÇÃO DO FERRO</b><br><i>Método: Colorimétrico</i> | 275 µg/dL           | 250 - 425                                            |                                     |
| <b>TRANSFERRINA</b><br><i>Método: Imunoturbidimétrico</i>          | 239 mg/dL           | 200 - 360                                            |                                     |

Figura 65 - Boletim analítico do utente (março/2018).

### Colheita a junho de 2018 (Figura 66)

Motivo: confirmação dos resultados do colesterol.

### BIOQUÍMICA GERAL

| Análises                                                     | Resultados/Unidades | Valores de Referência<br>(Ajustados ao sexo e idade) | Resultados Anteriores<br>06-03-2018 |
|--------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>COLESTEROL- HDL</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>  | 74 mg/dL            | > 40                                                 | 71                                  |
| <b>TRIGLICERÍDEOS</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i>   | 38 mg/dL            | < 150                                                | 51                                  |
| <b>COLESTEROL TOTAL</b><br><i>Método: Colorimétrico enz.</i> | 260 mg/dL           | < 190                                                | 235                                 |

Parâmetros Lipídicos: Val recomendados p/risco cardiovascular baixo(DGS 19/2011)

Figura 66 - Boletim analítico do utente (junho/2018).

A utilização deste boletim foi autorizada pelo utente.

## **Discussão**

Trata-se de um utente que realizou análises para despiste de distúrbios do metabolismo do ferro, dado que apresentava feridas semelhantes às observadas no pai.

Os valores do hemograma, da ferritina, do ferro sérico, da capacidade de fixação do ferro e da transferrina estavam normais, o que indica que o metabolismo do ferro, no utente, está normal.

Os restantes parâmetros bioquímicos estavam normais à exceção do colesterol total, que estava acima dos valores de referência.

Decorrido três meses, foi realizada uma nova colheita, onde os valores de colesterol total continuavam aumentados.

É possível, então, concluir de que se trata de um indivíduo saudável, sem distúrbios ao nível do metabolismo do ferro, mas que necessita monitorizar os seus valores de colesterol, de forma a evitar possíveis doenças cardiovasculares.

## 10. Estudo bacteriológico

Após a conclusão do meu estágio no laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, foi-me sugerido, pelo Dr. Orlando Silva, realizar uma breve análise sobre a incidência bacteriológica nas uroculturas, como também dos antibiogramas das respetivas bactérias.

Para tal, foram-me fornecidos dados relativos a este mesmo tema, referente às amostras analisadas entre 5 de fevereiro e 1 de junho, onde constavam as diferentes bactérias identificadas nas uroculturas, os diferentes antibióticos testados e as respostas observadas.

Devido à natureza dos dados, foi efetuada uma breve análise descritiva.

### Panorama geral

Foram analisadas cerca de 228 amostras de urina, onde se identificou a presença de uma grande variedade de bactérias, como se pode observar na Figura 67.

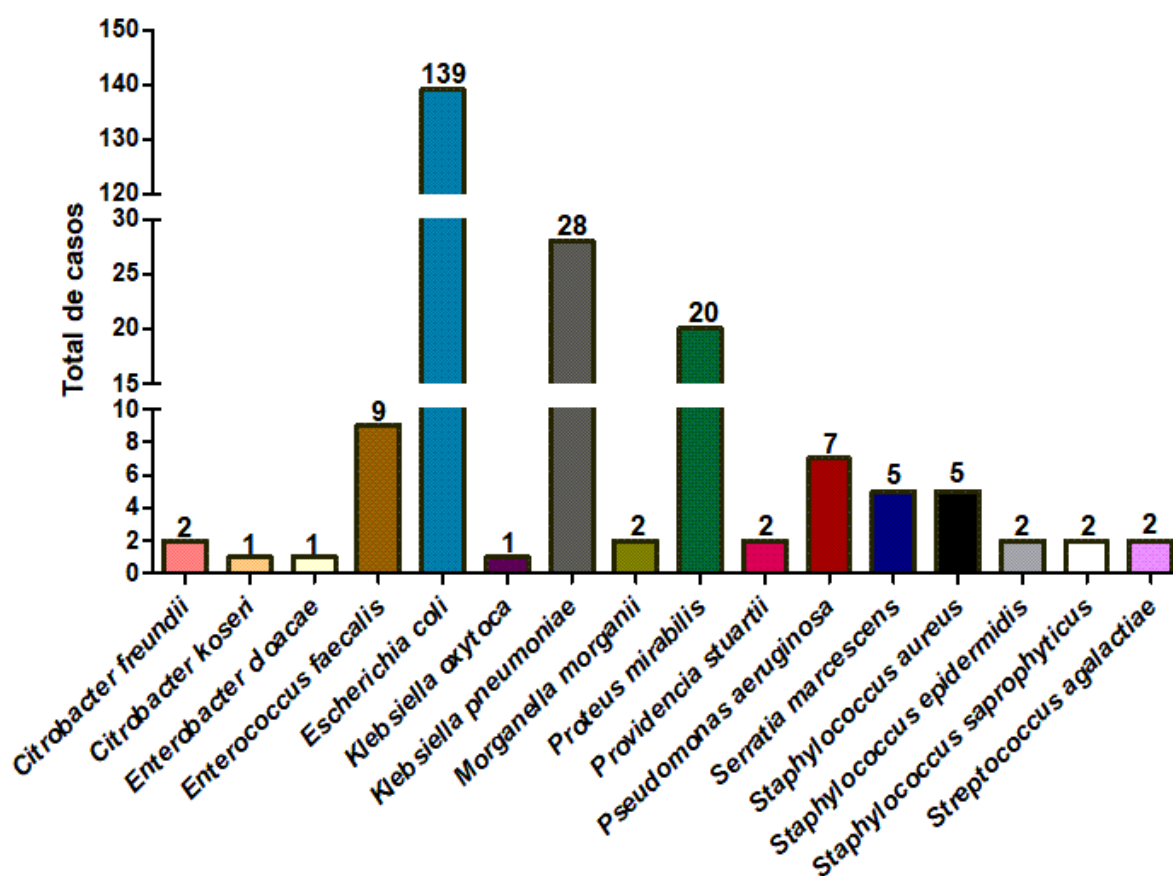


Figura 67 - Visão geral do tipo e número das bactérias identificadas nas uroculturas analisadas.

A partir deste gráfico, é possível constatar que o maior número de bactérias encontradas nas uroculturas se tratavam de *E. coli*, seguida pela *K. pneumoniae* e pelo *P. mirabilis*. Posto isto, as próximas análises são referentes a estas bactérias.

### **Antibiogramas**

Após a identificação das bactérias, é realizado o seu antibiograma, onde são testados diferentes antibióticos. As bactérias são depois classificadas como sensíveis, intermédias e resistentes.

#### *Escherichia coli*

Das 228 uroculturas analisadas, a *E. coli* estava presente em 139, o que perfaz mais de 60% do total de bactérias identificadas.

A partir do Figura 68, é possível concluir que a maioria das bactérias *E. coli* revelou-se sensível aos diferentes antibióticos (82%). Por outro lado, cerca de 18% das bactérias analisadas demonstrou ser resistente contra os antibióticos testados.

#### *Klebsiella pneumoniae*

Em relação à *K. pneumoniae*, esta foi identificada em 28 das 228 uroculturas analisadas.

A análise dos antibiogramas mostra que, tal como a *E. coli*, a maioria das bactérias *K. pneumoniae* revelou-se sensível aos antibióticos testados (62,5%) (Figura 69). Contudo, a Ampicilina e a Amoxicilina demonstraram total ineficácia no combate às bactérias analisadas.

#### *Proteus mirabilis*

O *P. mirabilis* foi identificado em 20 uroculturas.

Pela análise dos antibiogramas, constatou-se também sensibilidade aos antibióticos testados (71,2%) (Figura 70). Por outro lado, a Cefotaxamina revelou-se eficaz em 95% dos casos analisados, enquanto que nos restantes 5%, as bactérias apresentaram uma resposta intermédia.

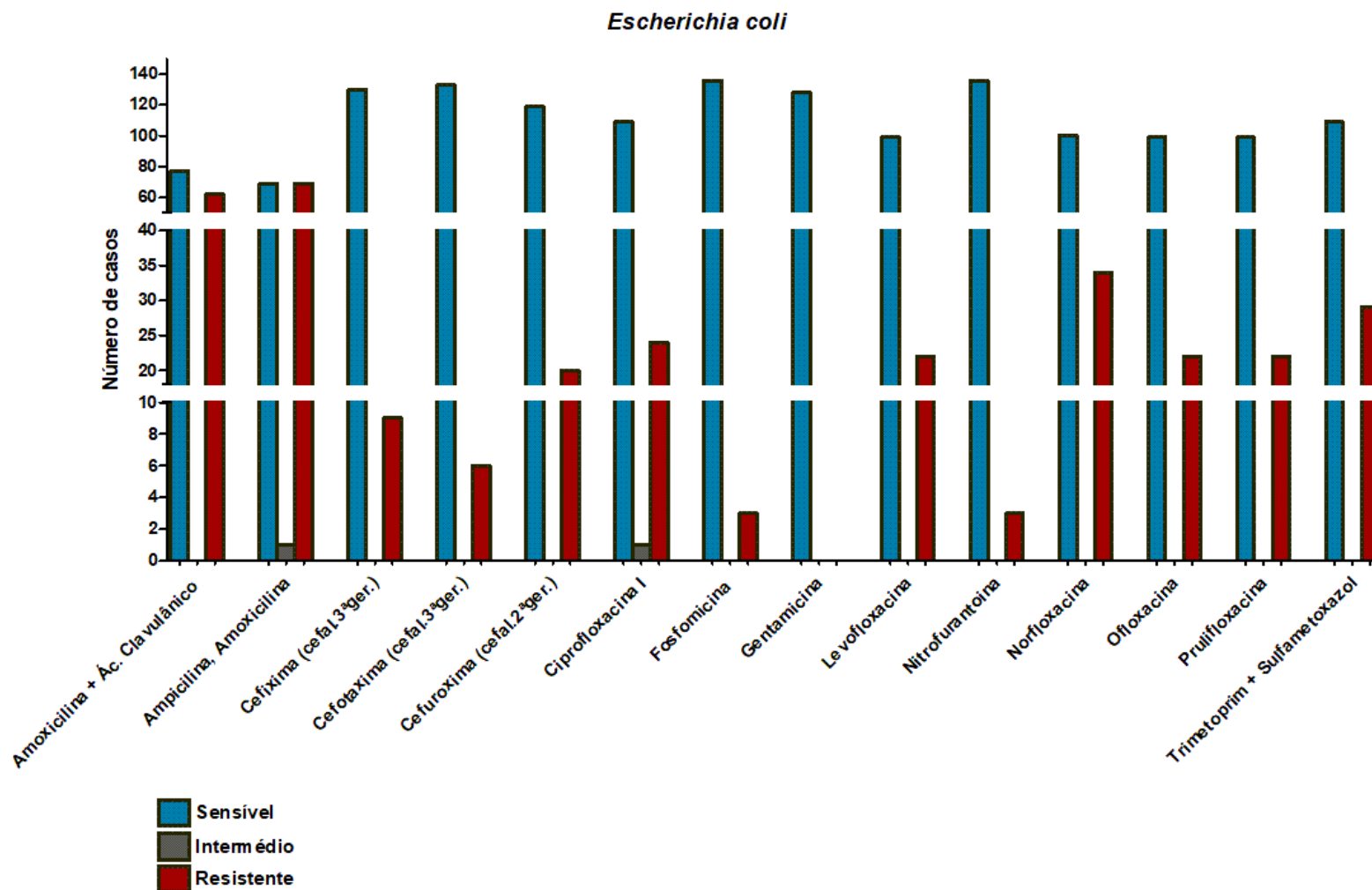


Figura 68 - Representação gráfica da variedade da resposta das diferentes *E. coli* face aos antibióticos.

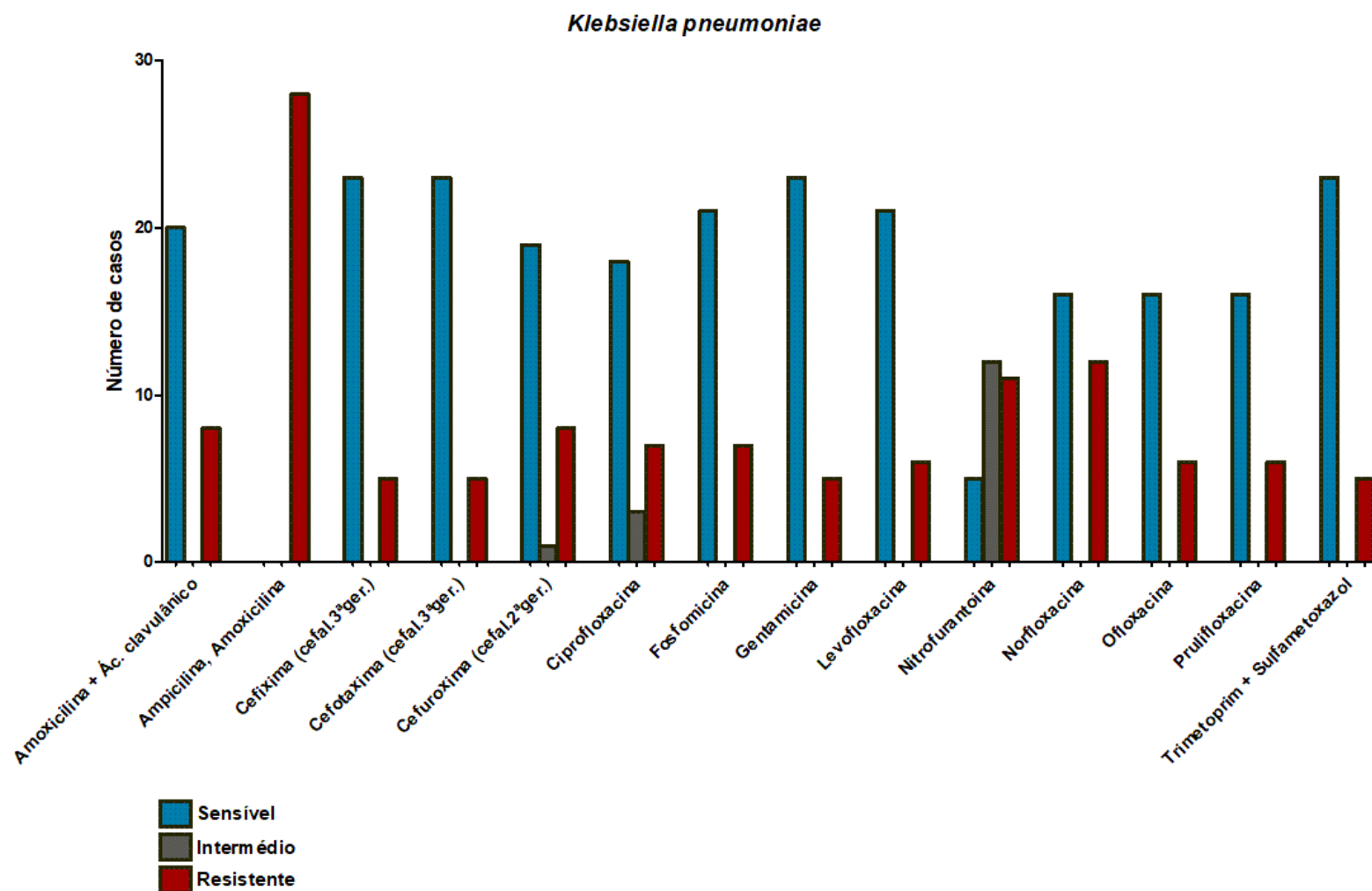


Figura 69 - Representação gráfica da variedade da resposta das diferentes *K. pneumoniae* face aos antibióticos.

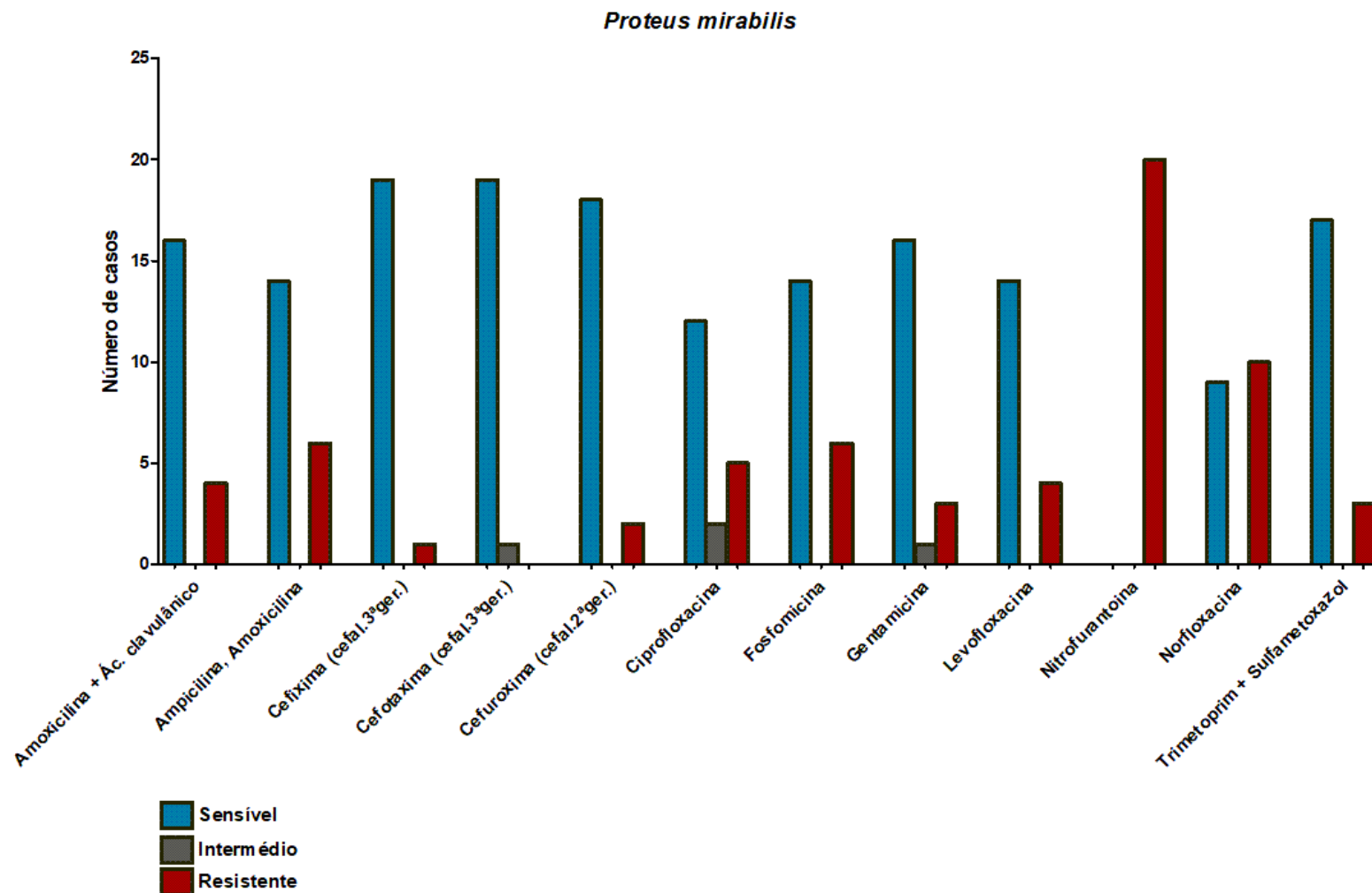


Figura 70 - Representação gráfica da variedade da resposta das diferentes *P. mirabilis* face aos antibióticos.

## Discussão

Apesar de, a partir da análise descritiva, não ser possível fazer extrapolações, constatou-se que os dados analisados vão ao encontro do conhecimento transmitido ao longo do mestrado. Isto é, verificou-se, nos casos analisados, que as infecções urinárias são infecções complexas, com várias possibilidades etiológicas, onde, a maioria, se deve à *E. coli*, e que as resistências aos antibióticos devem ser devidamente analisadas, para melhor orientar o tratamento, como também para evitar a aquisição de mais resistências.

Futuramente, poderia ser interessante realizar um estudo estatístico inferencial sobre este tema, pois considero ser um tópico bastante importante no contexto do laboratório de análises clínicas.

## **11. Estágio complementar**

Em complemento ao estágio no Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião, Lda., tive a oportunidade de realizar um estágio de observação, com a duração de uma semana, no Serviço de Hematologia Laboratorial do Instituto Português de Oncologia do Porto (IPO), gentilmente concedido pelo diretor do Serviço, Dr. Carlos Mendes.

Durante este estágio tive a oportunidade de observar esfregaços sanguíneos e de aspirados de medula óssea de diversas patologias hematológicas, sempre acompanhada pela Dr.<sup>a</sup> Cristina Silva.

Tive ainda a oportunidade de poder observar como é realizado o diagnóstico de leucemia mieloide crónica (LMC), tema da minha monografia, no Centro Hospitalar do Porto, tanto na área da Biologia Molecular, acompanhada pelo Dr. João Rodrigues, onde pude observar os diferentes equipamentos e metodologias utilizadas, como na área da Hematologia Laboratorial, acompanhada pela Dr.<sup>a</sup> Inês Freitas, onde pude observar esfregaços sanguíneos e de aspirados de medula óssea de doentes com LMC.

## 12. Conclusão

A realização deste estágio profissional no laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião foi bastante enriquecedor, quer a nível profissional, quer a nível pessoal, dado que me permitiu adquirir uma nova perspetiva do mundo de trabalho, particularmente de Análises Clínicas.

O estágio permitiu-me testar e controlar os métodos usados na execução das análises clínicas, colaborar na obtenção e manipulação das amostras e controlar a qualidade técnica e instrumental e a manutenção dos equipamentos. O estágio foi, por isso, bastante gratificante, onde pude consolidar a informação teórica que adquiri ao longo do mestrado em Análises Clínicas, como também me permitiu adquirir novos conhecimentos, fruto da convivência com os utentes e com o pessoal profissional do laboratório.

Atualmente, o laboratório de análises clínicas é automatizado, sendo que as técnicas laboratoriais exigem pouco trabalho manual, de forma a evitar erros nas determinações. Esta automatização dos processos permite uma maior confiança nos resultados obtidos contudo, é necessário ter bastante atenção aos controlos efetuados para garantir a fiabilidade dos mesmos. Para além disso, a validação dos resultados requer bastante concentração, para ser possível interligá-los, o que exige muita prática.

No estágio complementar pude observar patologias que são difíceis de encontrar num laboratório de análises clínicas de rotina, o que me permitiu adquirir uma experiência mais ampla na área da hematologia.

Por fim, embora tenha terminado este estágio, é meu desejo continuar a melhorar e permanecer em constante aprendizagem, de modo a dignificar e a exercer cada vez melhor o papel de mestre em Análises Clínicas.

## **Anexos**

### **Anexo 1 - Sumários**

#### **Fevereiro**

##### **Segunda-feira, dia 5 de fevereiro, 8 horas (total: 8h)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Noções sobre protocolo de controlo de qualidade utilizado no laboratório (preenchimento de folhas de não conformidades).
- Observação microscópica de 1 expectoração (gram e Ziem-Nelson) e de 1 exsudado de ferida (gram).
- Observação e contagem de reticulócitos.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial e de plaquetas.

##### **Terça-feira, dia 6 de fevereiro, 7 horas (total: 15h)**

- Colheitas.
- Observação da colheita de sangue durante a prova de tolerância à glucose (PTGO - grávida).
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação do Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Observação microscópica de exsudado vaginal (gram).

##### **Quarta-feira, dia 7 de fevereiro, 4 horas (total: 19h)**

- Colheitas.
- Observação da realização do teste respiratório.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.

##### **Quinta-feira, dia 8 de fevereiro, 7 horas (total: 26h)**

- Colheitas.
- Observação da colheita de sangue durante a prova de tolerância à glucose (PTGO - grávida).
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial e de plaquetas.

##### **Sexta-feira, dia 9 de fevereiro, 4 horas (total: 30h)**

- Pesquisa de sangue oculto.
- Preparação das amostras (fezes) para exame parasitológico.
- Realização de esfregaços sanguíneos.
- Observação microscópica de exames parasitológicos (fezes).

##### **Segunda-feira, dia 12 de fevereiro, 7 horas e 30 minutos (total: 37h30)**

- Colheitas.
- Observação da colheita de sangue durante a prova de tolerância à glucose (PTGO - grávida).
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Observação microscópica de um exsudado vaginal (pesquisa de *Trichomonas vaginalis*, negativo).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quarta-feira, dia 14 de fevereiro, 7 horas e 30 minutos (total: 45h)**

- Colheitas.
- Observação da realização do teste respiratório.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Observação microscópica de exames parasitológicos (fezes).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quinta-feira, dia 15 de fevereiro, 4 horas (total: 49h)**

- Colheitas.
- Observação da realização do teste respiratório.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial e de plaquetas.

**Segunda-feira, dia 26 de fevereiro, 7 horas e 30 minutos (total: 56h30)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Realização da prova de VDRL.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Terça-feira, dia 27 de fevereiro, 7 horas e 30 minutos (total: 64h)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas E411®.
- Realização de eletroforeses.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Corrida das amostras no ADAMS A1c HA-8160®.
- Análise de placas de cultura de urinas e fezes.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quarta-feira, dia 28 de fevereiro, 7 horas (total: 71h)**

- Colheitas.
- Observação da realização do teste respiratório.
- Observação da colheita de sangue durante a prova de tolerância à glucose (PTGO - grávida).
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.

## **Março**

### **Quinta-feira, dia 1 de março, 7 horas (total: 78h)**

- Colheitas.
- Observação da realização do teste respiratório.
- Observação da colheita de sangue durante a prova de tolerância à glucose (PTGO - grávida).
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas e exsudados vaginais.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

### **Sexta-feira, dia 2 de março, 7 horas (total: 85h)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Preparação e cultura das urinas.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Realização da prova de VDRL.
- Observação microscópica de um exsudado vaginal.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

### **Segunda-feira, dia 5 de março, 7 horas (total: 92h)**

- Colheitas.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação do Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (card).
- Realização da prova de VDRL.
- Preparação de lâminas de reticulócitos.
- Observação microscópica de exames parasitológicos (fezes).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem de plaquetas.

### **Terça-feira, dia 6 de março, 7 horas (total: 99h)**

- Colheitas.
- Observação da colheita de sangue durante a prova de tolerância à glucose (PTGO - grávida).
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Realização de um esfregaço sanguíneo (meu).
- Observação e contagem de reticulócitos.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial e de plaquetas.

### **Quarta-feira, dia 7 de março, 7 horas (total: 106h)**

- Colheitas.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Corrida das amostras no ADAMS A1c HA-8160®.
- Pesquisa de sangue oculto.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial e de plaquetas.

### **Quinta-feira, dia 8 de março, 7 horas (total: 113h)**

- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (em placa).
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Observação microscópica de exames parasitológicos (fezes).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Sexta-feira, dia 9 de março, 7 horas (total: 120h)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys.
- Preparação e corrida das amostras no ImmunoCAP<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Corrida das amostras no ADAMS A1c HA-8160<sup>®</sup>.
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Segunda-feira, dia 12 de março, 7 horas (total: 127h)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Terça-feira, dia 13 de março, 7 horas (total: 134h)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas E411<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Corrida das amostras no Vesmatic<sup>®</sup>.
- Corrida das amostras no ADAMS A1c HA-8160<sup>®</sup>.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quarta-feira, dia 14 de março, 7 horas (total: 141h)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Realização de eletroforeses.

- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização da prova de TPHA.

**Quinta-feira, dia 15 de março, 7 horas (total: 148h)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.
- Corrida das amostras no ADAMS A1c HA-8160<sup>®</sup>.
- Corrida das amostras no Vesmatic<sup>®</sup>.
- Observação microscópica de exames parasitológicos (fezes).

**Sexta-feira, dia 16 de março, 7 horas 30 minutos (total: 155h30)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.
- Pesquisa de sangue oculto.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).

**Segunda-feira, dia 19 de março, 4 horas (total: 159h30)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação do Cobas e411<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.

**Terça-feira, dia 20 de março, 7 horas (total: 166h30)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas E411<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Corrida das amostras no Vesmatic<sup>®</sup>.
- Pesquisa de sangue oculto.

**Quarta-feira, dia 21 de março, 7 horas (total: 173h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Corrida das amostras no ADAMS A1c HA-8160®.
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).

**Quinta-feira, dia 22 de março, 7 horas (total: 180h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas E411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Pesquisa de sangue oculto.

**Sexta-feira, dia 23 de março, 7 horas (total: 187h30)**

- Observação microscópica de um exame parasitológico.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Realização de eletroforeses.
- Pesquisa de sangue oculto.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).

**Segunda-feira, dia 26 de março, 4 horas (total: 191h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.

**Terça-feira, dia 27 de março, 7 horas (total: 198h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial - lâminas do Instituto Ricardo Jorge, Leucemia da Hairy Cels, LLC e Mononucleose Infeciosa.

**Quarta-feira, dia 28 de março, 7 horas (total: 205h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Realização de eletroforeses.
- Corrida das amostras no ADAMS A1c HA-8160®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial - lâminas do Instituto Ricardo Jorge, LMC.

**Sexta-feira, dia 29 de março, 7 horas (total: 212h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

## **Abril**

### **Terça-feira, dia 3 de abril, 4 horas (total: 216h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.

### **Quarta-feira, dia 4 de abril, 4 horas (total: 220h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.

### **Quinta-feira, dia 5 de abril, 4 horas (total: 224h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.

### **Segunda-feira, dia 9 de abril, 4 horas (total: 228h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.

### **Terça-feira, dia 10 de abril, 7 horas (total: 235h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

### **Quarta-feira, dia 11 de abril, 7 horas (total: 242h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da prova de TPHA.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

### **Quinta-feira, dia 12 de abril, 7 horas (total: 249h30)**

- Observação da colheita de sangue durante a prova de tolerância à glucose (PTGO).
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Observação microscópica e contagem diferencial de um esfregaço sanguíneo (LLA-T).

### **Sexta-feira, dia 13 de abril, 7 horas (total: 256h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Corrida das amostras no ADAMS A1c HA-8160®.
- Realização de eletroforeses.
- Pesquisa de sangue oculto.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

### **Segunda-feira, dia 16 de abril, 7 horas (total: 263h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização da prova de VDRL.

### **Terça-feira, dia 17 de abril, 7 horas (total: 270h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quarta-feira, dia 18 de abril, 7 horas (total: 277h30)**

- Observação da colheita de sangue durante a prova de tolerância à glucose (PTGO).
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Pesquisa de sangue oculto.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Realização da prova de TPHA.
- Realização da prova de VDRL.

**Quinta-feira, dia 19 de abril, 7 horas (total: 284h30)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização de esfregaços sanguíneos.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Sexta-feira, dia 20 de abril, 7 horas (total: 291h30)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Realização de testes de pesquisa de drogas de abuso na urina.
- Realização da prova de VDRL.

- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Segunda-feira, dia 23 de abril, 7 horas (total: 298h30)**

- Observação da colheita de sangue durante a prova de tolerância à glucose (PTGO - grávida).
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no ImmunoCAP®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Pesquisa de sangue oculto.
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Preparação de esfregaços sanguíneos.

**Terça-feira, dia 24 de abril, 7 horas (total: 305h30)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quinta-feira, dia 26 de abril, 4 horas (total: 309h30)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação do Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.

**Sexta-feira, dia 27 de abril, 7 horas (total: 316h30)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Realização de eletroforeses.
- Pesquisa de sangue oculto.

**Maio**

**Quinta-feira, dia 3 de maio, 7 horas (total: 330h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Pesquisa de sangue oculto.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).

- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Realização da prova de VDRL.

**Segunda-feira, dia 30 de abril, 7 horas (total: 323h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.
- Preparação e corrida das amostras no ImmunoCAP®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização da prova de VDRL.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Preparação de esfregaços sanguíneos.

**Sexta-feira, dia 4 de maio, 7 horas (total: 337h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Realização de eletroforeses.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Realização da prova de VDRL.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).

**Segunda-feira, dia 7 de maio, 7 horas 30 minutos (total: 345h)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Realização de testes de pesquisa de drogas de abuso na urina.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).

**Quarta-feira, dia 9 de maio, 7 horas e 30 minutos (total: 352h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas e de exsudado de ferida.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Realização de eletroforeses.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Realização da prova de VDRL.

**Quinta-feira, dia 10 de maio, 7 horas e 30 minutos (total: 360h)**

- Colheitas.
- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Corrida das amostras no ADAMS A1c HA-8160®.

- Análise de placas de cultura.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.

**Sexta-feira, dia 11 de maio, 7 horas e 30 minutos (total: 367h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Corrida das amostras no Sta Compact®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Realização de eletroforeses.
- Corrida das amostras no Vesmatic®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Realização da prova de TPHA.
- Realização da prova de VDRL.

**Segunda-feira, dia 14 de maio, 7 horas (total: 374h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas cultura de urinas, expetoração e de exsudado de ouvido.
- Preparação e cultura das urinas.
- Corrida das amostras no aparelho de Vitek Compact®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Realização da prova de VDRL.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.

**Terça-feira, dia 15 de maio, 7 horas (total: 381h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Preparação de lâminas de reticulócitos.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quarta-feira, dia 16 de maio, 7 horas (total: 388h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400®.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Realização de eletroforeses.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Análise de culturas de pedidos de micologia (raspados de pele - análise, raspados de unha - preparação).
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Pesquisa de sangue oculto.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação e contagem de reticulócitos.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.
- Preparação de esfregaços sanguíneos.

**Quinta-feira, dia 17 de maio, 7 horas (total: 395h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no ImmunoCAP®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.

- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Sexta-feira, dia 18 de maio, 7 horas (total: 402h30)**

- Preparação do Cobas c501® e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i®.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411®.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS®.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact®.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Realização da prova de VDRL.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Observação microscópica de sedimentos urinários.

**Terça-feira, dia 22 de maio, 7 horas (total: 409h30)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact<sup>®</sup>.
- Realização de eletroforeses.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização da prova de VDRL.
- Observação microscópica de exames parasitológicos (fezes).
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quarta-feira, dia 23 de maio, 7 horas (total: 416h30)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411<sup>®</sup>.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact<sup>®</sup>.
- Pesquisa de sangue oculto.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização de um esfregaço sanguíneo.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quinta-feira, dia 24 de maio, 7 horas (total:423h30)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Cobas e411<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.

- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact<sup>®</sup>.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa e card).
- Realização da prova de TPHA.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Sexta-feira, dia 25 de maio, 7 horas (total:430h30)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact<sup>®</sup>.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Realização da prova de VDRL.
- Realização de um esfregaço sanguíneo.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Segunda-feira, dia 28 de maio, 7 horas (total:437h30)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas e coprocultura.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact<sup>®</sup>.
- Corrida das amostras no Vesmatic<sup>®</sup>.
- Determinação dos grupos sanguíneos (placa).
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de exsudado de ferida e espermocultura.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Quarta-feira, dia 30 de maio, 7 horas (total:444h30)**

- Preparação do Cobas C501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Análise de placas de cultura de urinas e coprocultura.
- Preparação e cultura das urinas.

- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact<sup>®</sup>.
- Realização de eletroforeses.
- Corrida das amostras no Vesmatic<sup>®</sup>.
- Realização da Reação Coombs Indireta.
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de exames parasitológicos (fezes).
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

**Junho**

**Sexta-feira, dia 1 de junho, 7 horas e 30 minutos (total:452h)**

- Preparação do Cobas c501<sup>®</sup> e corrida das amostras.
- Preparação e corrida das amostras no Urisys 2400<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no Sysmex XT 1800i<sup>®</sup>.
- Preparação e corrida das amostras no VIDAS<sup>®</sup>.
- Análise de placas de cultura de urinas.
- Preparação e cultura das urinas e de exsudado purulento de ferida.
- Preparação e corrida das amostras no Vitek Compact<sup>®</sup>.
- Realização da prova de VDRL.
- Determinação de grupos sanguíneos (placa).
- Observação microscópica de sedimentos urinários.
- Observação microscópica de esfregaços sanguíneos, com contagem diferencial.

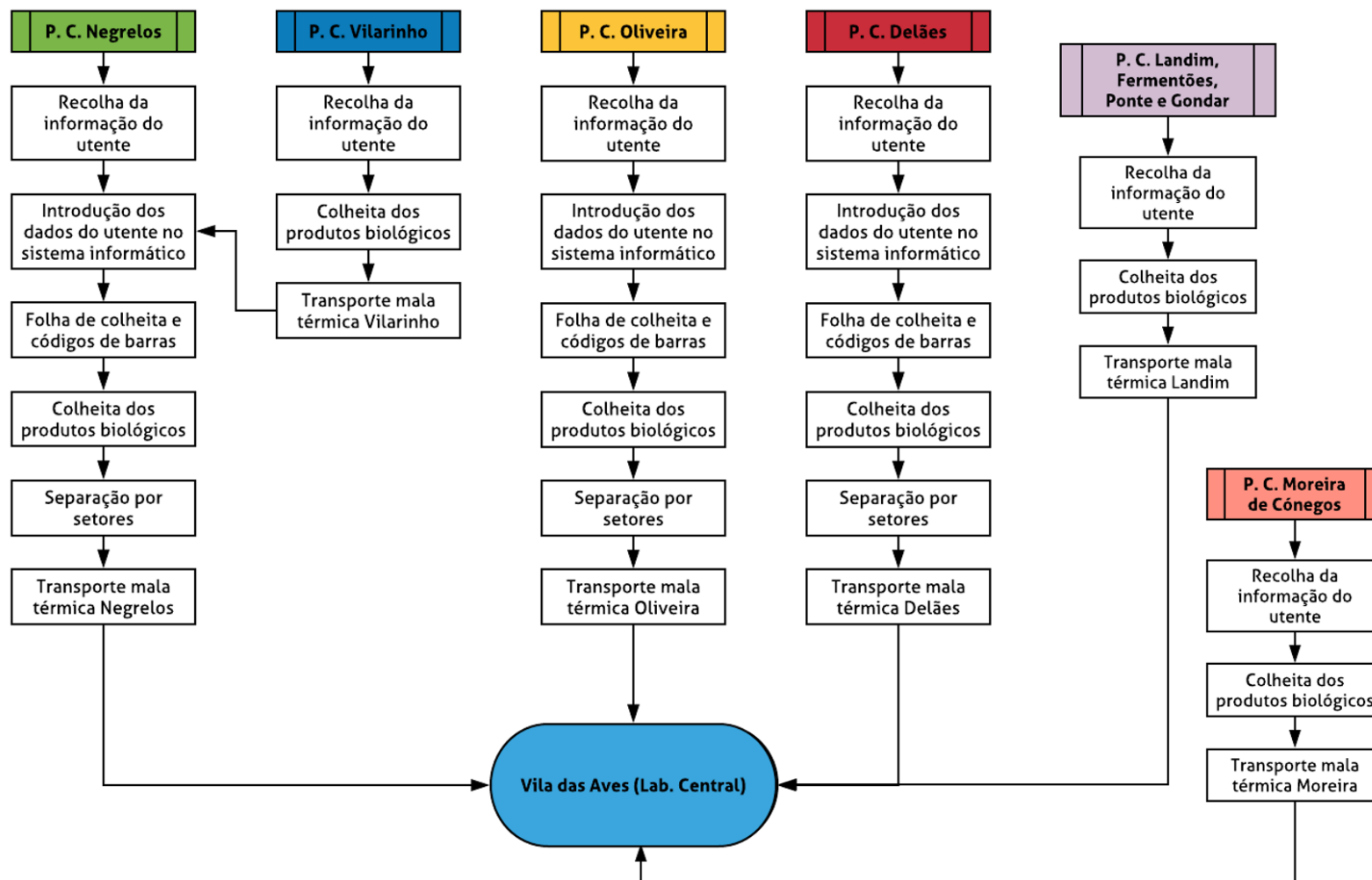
Ainda, todos os dias, participei no processamento pré-analítico das amostras, auxiliei na receção e participei na validação dos resultados.

## Anexo 2 - Estrutura do laboratório

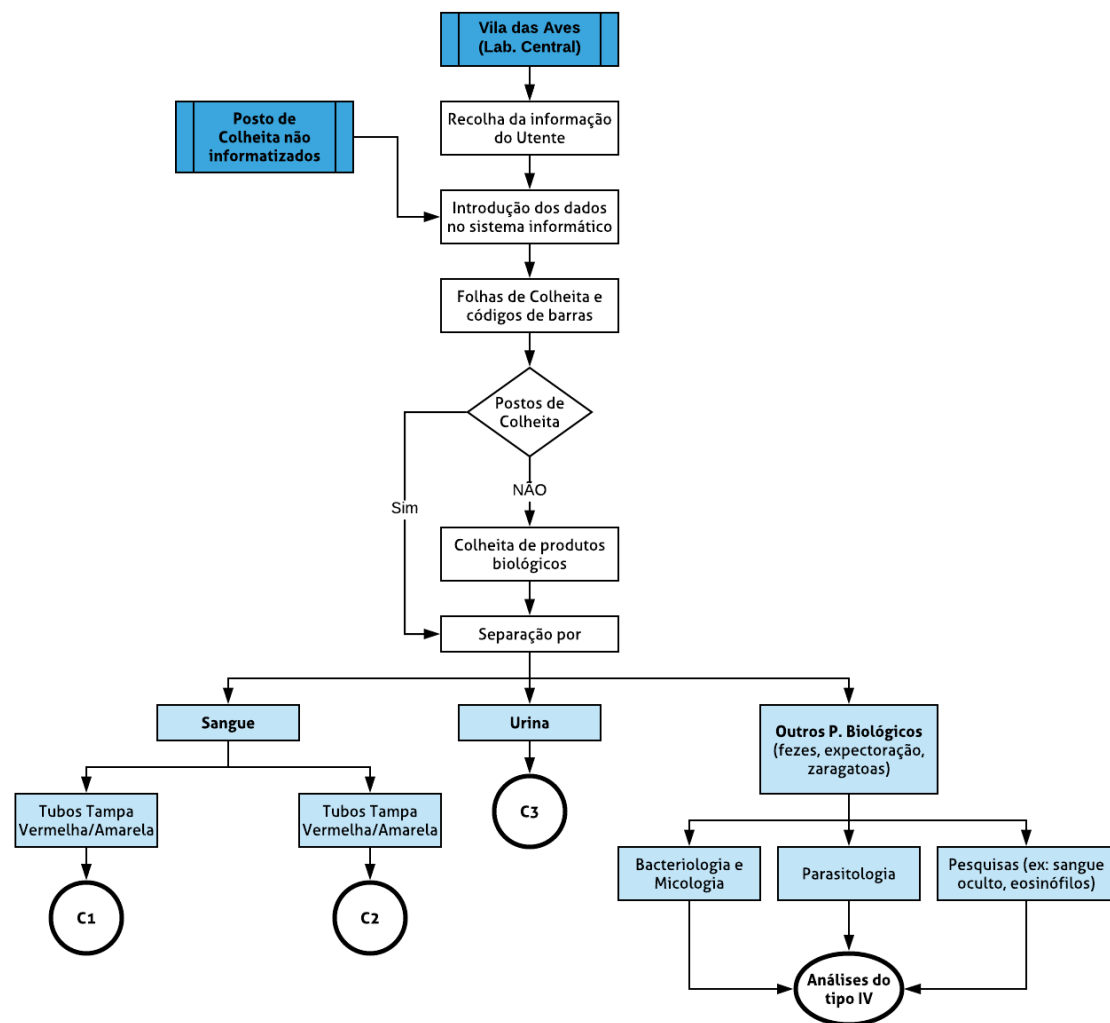


Anexo 2 - Infraestrutura do Laboratório de Análises Clínicas Mesquita & Damião. (A) Recepção. (B) Sala de colheitas. (C) Sala principal. (D) Zona do microscópio. (E) Sala da triagem. (F) Sala das lavagens. (G) Sala da Microbiologia.

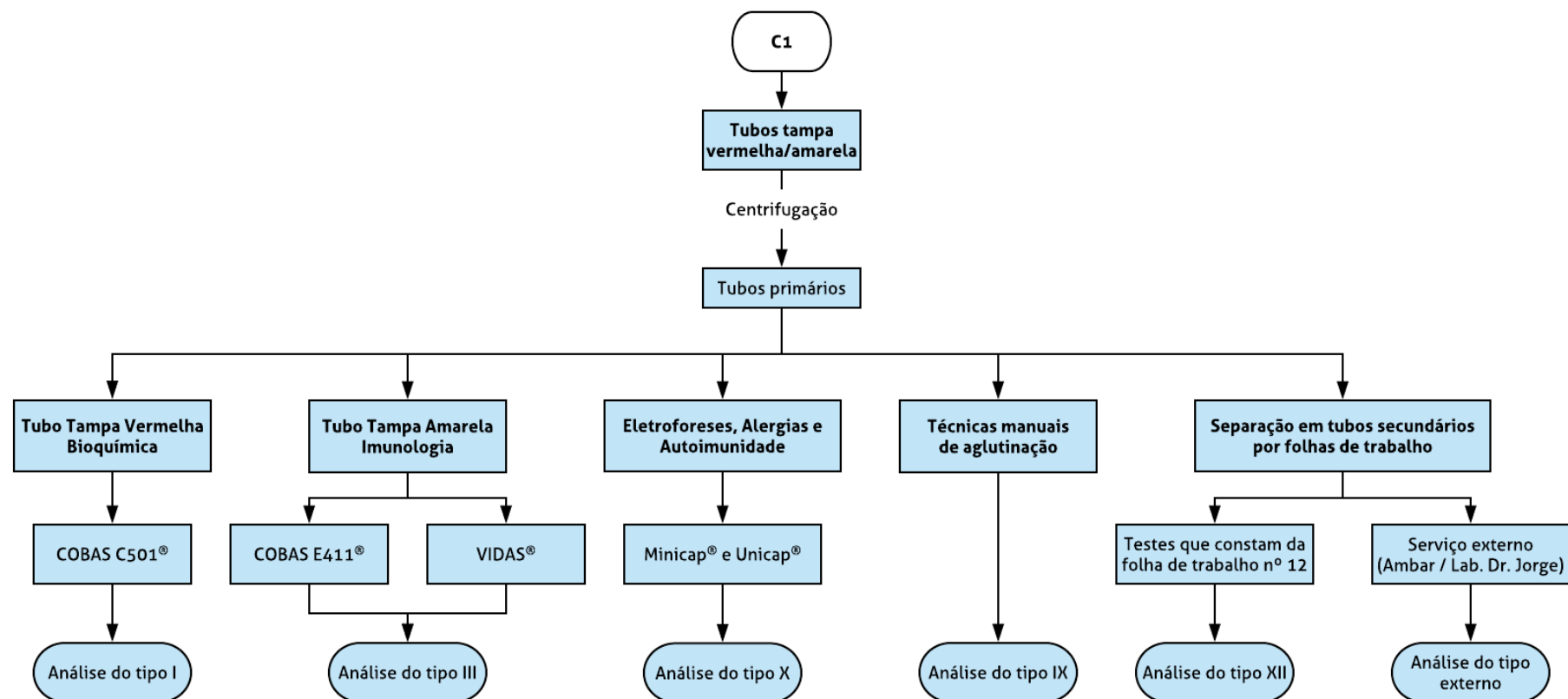
### Anexo 3 - Fase pré-analítica



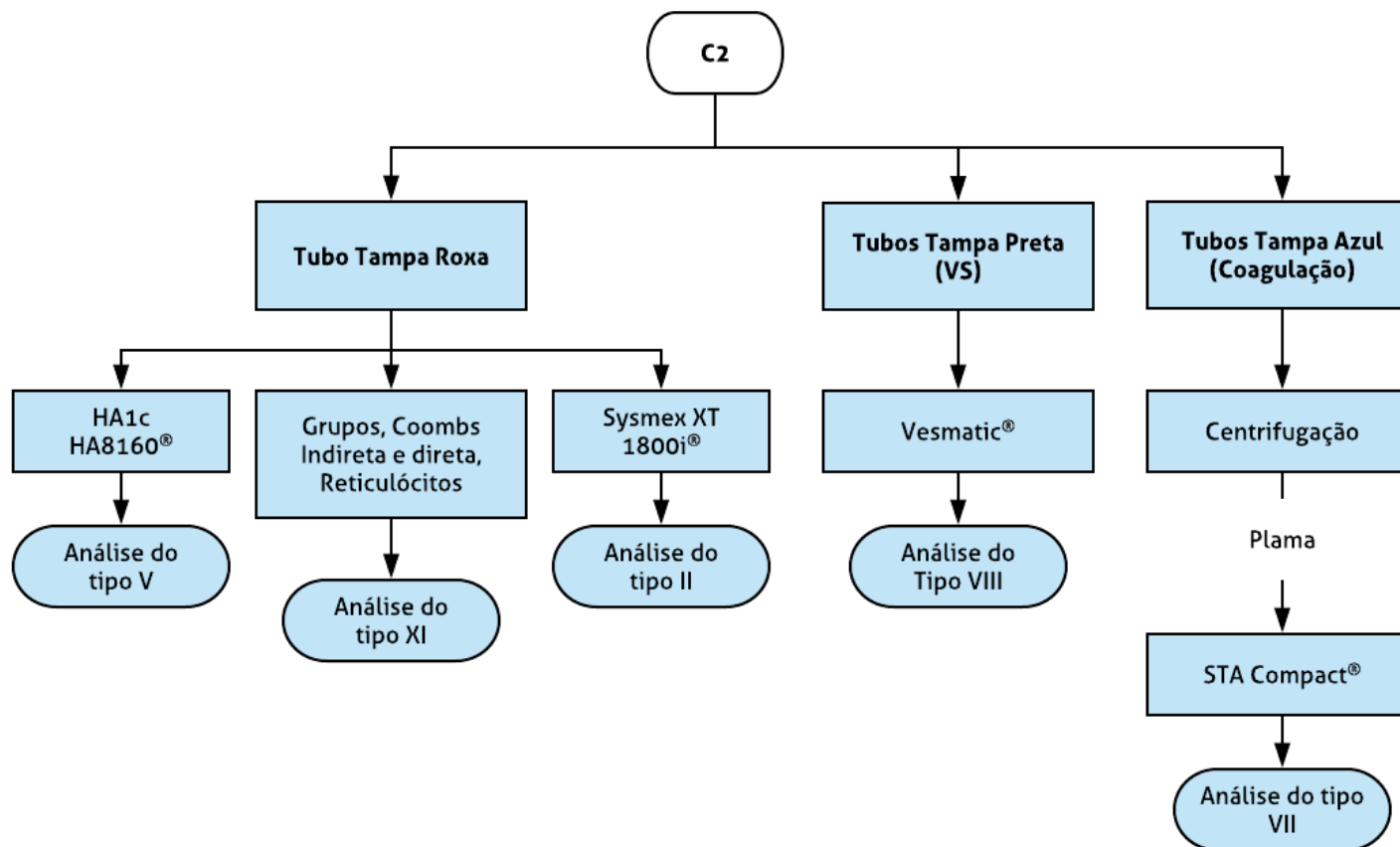
Anexo 3 - Esquematização da fase pré-analítica e posterior separação das diferentes amostras.



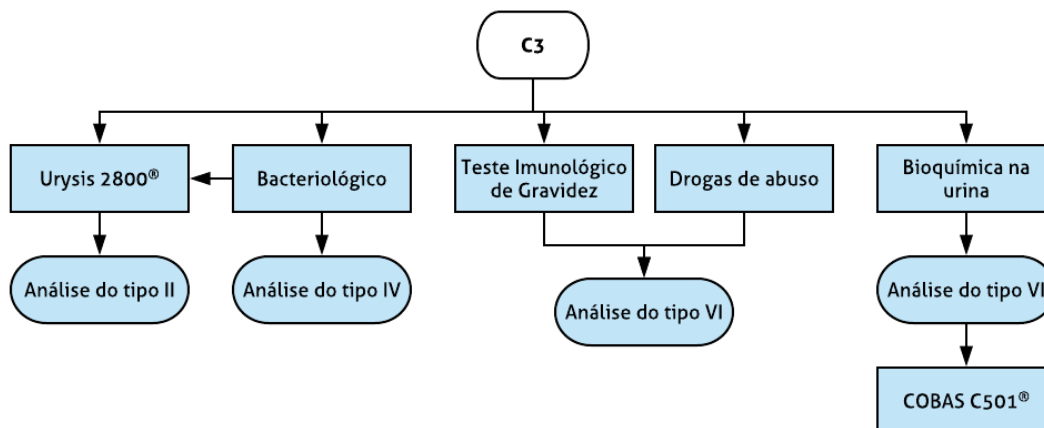
Anexo 3 - Esquematização da fase pré-analítica e posterior separação das diferentes amostras. (continuação)



Anexo 3 - Esquematização da fase pré-analítica e posterior separação das diferentes amostras. (continuação - tubos de tampa vermelha ou amarela).



Anexo 3 - Esquematização da fase pré-analítica e posterior separação das diferentes amostras. (continuação - tubos de tampa roxa, preta ou azul).



Anexo 3 - Esquematização da fase pré-analítica e posterior separação das diferentes amostras. (continuação - urina).

## Anexo 4 - Exemplo de uma folha de colheita

| Folha de Colheita                            |                                                  |                                     |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Nome</b> : ANA BEATRIZ GONÇALVES CUNHA    | <b>Número</b> : 473078                           |                                     |
| <b>Idade</b> : 22 Anos                       | <b>Nº Tubo</b> : <b>VA227</b>                    |                                     |
| <b>Nº Benef.:</b> [REDACTED]                 | <b>Colheita</b> : 06-03-2018                     |                                     |
| <b>Entidade</b> : [REDACTED]                 | <b>NID</b> : [REDACTED]                          |                                     |
| <b>Inf.Clin.</b> : Plq. baixas tirar citrato |                                                  |                                     |
| <b>Análises :</b>                            |                                                  |                                     |
| COLESTEROL TOTAL<br>HEMOGRAMA                | PLAQUETAS<br>CREATININA SERICA<br>TRIGLICÉRIDEOS | COLESTEROL HDL<br>GLICOSE (Glucose) |
| Tubos: EDTA_T.ROXO, SORO_T.VERM.             |                                                  |                                     |
| <b>Informação clínica relevante:</b>         |                                                  |                                     |
| <b>Instruções do Flebotomista:</b>           |                                                  |                                     |

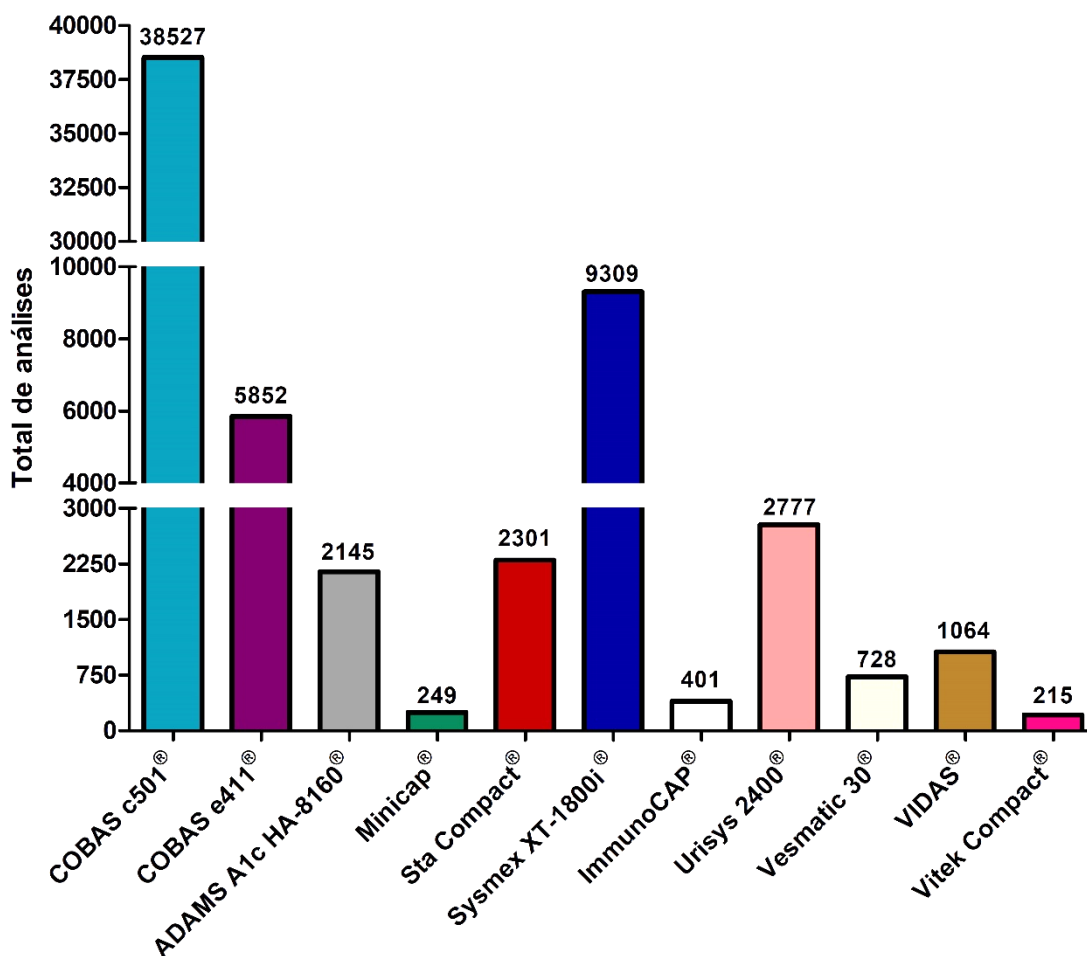
Anexo 4 - Exemplo de uma folha de colheita.

## Anexo 5 - Exemplo das etiquetas



Anexo 5 - Etiquetas autocolantes com códigos de barras alfanuméricos para identificação de produtos biológicos.

## Anexo 6 - Total de análises em cada aparelho



Anexo 6 - Representação gráfica do número total de amostras realizadas no laboratório durante o estágio, nos diferentes aparelhos.

## Anexo 7 - Declaração de autorização utilização de dados pessoais

### Declaração de autorização da utilização de dados pessoais

Autorizo pelo presente documento a recolha, processamento e utilização dos dados do meu boletim analítico no contexto da sua utilização no Relatório de Estágio da aluna Ana Beatriz Gonçalves da Cunha, número 201305220 do Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

Assinatura da/o utente

Ana Helder Soares Gonçalves

Assinatura da aluna

Ana Beatriz Gonçalves da Cunha

Vila das Aves, 25 de junho de 2018

## **Referências**

- McPherson R A, Pincus M R. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22nd ed: Elsevier. 2012
- Burtis C, Ashwood E. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th ed: Elsevier/Saunders. 2008.
- Manual de Utilizador. Cobas 6000. Roche Diagnostics. 2016
- Manual de Utilizador. Minicap. Thermo Fisher Scientific. 2015
- Manual de Utilizador. ADAMS A1c HA-8180. Menarini Diagnostics. 2000
- Hoffbrand A V, Moss P A H. Hoffbrand's Essential Haematology. 7th ed: John Wiley & Sons. 2016.
- Manual de Utilizador. Sysmex XT1800i. Sysmex Company. 2006
- Manual de Utilizador. Ves-Matic 30 Plus. Menarini Diagnostics. 2002
- Manual de Utilizador. Sta Compact. Stago. 2015
- Hoffbrand A V, Pettit J E, Vyas P. Color atlas of clinical hematology. 4th: Elsevier Ltd. 2002
- Bain B J. Blood Cells - A Practical Guide. 5th ed: Blackwell Publishing. 2015
- Parslow T G. Medical Immunology. McGraw-Hill Medical Publishing. 2001
- Manual de Utilizador. Cobas e411. Roche Diagnostics. 2014
- Manual de Utilizador. VIDAS. bioMérieux SA. 2018
- Folheto Informativo. VIDAS Toxo IgG II. VIDAS. bioMérieux SA. 2015
- Manual de Utilizador. ImmunoCap. Thermo Fisher Scientific. 2007
- Murray P R, Rosenthal K S, Pfaller M A. Review of Medical Microbiology. 5th ed: Elsevier. 2005
- Fogazzi G B, Ponticelli C, Ritz E. The Urinary Sediment - An integrated view. 2nd ed: Masson S.p.A. 2002
- Manual de Utilizador. Urisys 2400. Roche Diagnostics. 2006
- Manual de Utilizador. Vitek 2 Compact. bioMérieux SA. 2008