

M

Mestrado em Análises Clínicas

Anemia na Gravidez

Rute Carneiro Ribeiro

Trabalho realizado sob a orientação dos Professores:

Orientadora – Prof. Doutora Alice Santos Silva

Coorientadora – Prof. Doutora Cristina Catarino

Outubro 2022



É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/DISSERTAÇÃO/RELATÓRIO DE ESTÁGIO/RELATÓRIO DE PROJETO (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.), APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Agradecimentos

A elaboração desta monografia, contou com importantes apoios sem os quais não se teria tornado uma realidade e aos quais estarei eternamente grata.

À orientadora desta dissertação o Professora Doutora Alice Santos Silva, por ter aceite o meu pedido, pela orientação prestada e apoio que sempre demonstrou. Aqui lhe exprimo a minha gratidão.

À co-orientadora Professora Doutora Cristina Catarino, pela sua disponibilidade e igualmente pelo seu apoio na elaboração deste trabalho.

À Diretora de Curso Professora Doutora Eugénia Pinto, por toda a disponibilidade e organização deste Mestrado em Análises Clínicas.

A todos os professores do mestrado, pelos conhecimentos e competências que me transmitiram, que culminaram na elaboração desta tese.

Aos colegas do Mestrado pelo companheirismo.

Mas nada teria sido possível, sem uma base familiar coesa, por isso tenho que agradecer aos meus pais por me acompanharem, acreditarem em mim e me transmitirem os melhores valores; à irmã pelo apoio; aos meus sogros que sempre me trataram como uma filha e incentivam diariamente e ao meu cunhado.

O meu maior agradecimento vai para o meu marido! Sem o seu apoio incondicional, incentivo, espírito crítico e amor nada poderia ser realizado, até porque no decorrer do MAC nasceu o nosso filho Álvaro a quem se deve a escolha deste tema.

O meu sincero OBRIGADA!

Resumo

Introdução: a anemia é um problema de saúde pública, que afeta aproximadamente 25% da população mundial e tem um impacto negativo considerável na qualidade de vida de muitas pessoas. A anemia pode ter diferentes causas e alguns sintomas diversos. Por sua vez, a anemia materna é considerada um fator de risco para a gravidez e pode ser causa de anemia em recém-nascidos, além de estar relacionada com elevadas taxas de aborto, restrição de crescimento intrauterino (baixo peso ao nascer), prematuridade, óbito fetal e anemia no primeiro ano de vida. **Objetivos:** compreender as complicações e alterações causadas pela anemia durante a gravidez, no feto e na grávida. **Metodologia:** trata-se de uma pesquisa teórica e exploratória com a técnica de revisão da literatura. **Resultados e discussão:** a anemia na gravidez é geralmente detetada através de análises clínicas, nomeadamente pelo hemograma completo, logo após confirmação de gravidez. Pode ser causada pela deficiência de ferro, folatos, vitamina B12, alterações genéticas, doenças crónicas, entre outras causas. **Conclusão:** verifica-se na gravidez um risco aumentado de mortalidade materna e perinatal, em mulheres com anemia. A anemia durante a gravidez também está associada a um maior risco de baixo peso do bebé, no nascimento e podem verificar-se algumas situações de alterações mentais ou físicas, em crianças nascidas de mães com anemia. A causa mais comum consiste no défice de ferro, sendo as outras causas menos frequentes.

Palavras-chave: anemia, gravidez, feto, diagnóstico, complicações.

ABSTRACT

Introduction: Anemia is a public health problem that affects approximately 25% of the world's population and has a considerable negative impact on the quality of life of many people. Anemia can have different causes and some different symptoms. In turn, maternal anemia is considered a risk factor for pregnancy and can be a cause of anemia in newborns, in addition to being related to high rates of abortion, intrauterine growth restriction (low birth weight), prematurity, fetal death and anemia in the first year of life. **Objectives:** to understand the complications and changes caused by anemia during pregnancy, in the fetus and in the pregnant woman. **Methodology:** this is a theoretical and exploratory research using the literature review technique. **Results and discussion:** anemia in pregnancy is usually detected through clinical analyses, namely through the complete blood count, soon after confirmation of pregnancy. It can be caused by iron deficiency, folates, vitamin B12, genetic alterations, chronic diseases, among other causes. **Conclusion:** there's an increased risk of maternal and perinatal mortality in pregnancy in women with anemia. Anemia during pregnancy is also associated with a higher risk of low birth weight, and there may be some situations of mental or physical changes in children born to mothers with anemia. The most common cause is iron deficiency, the other causes being less frequent.

Keywords: anemia, pregnancy, fetus, diagnosis, complications.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	2
ÍNDICE DE TABELAS	2
INTRODUÇÃO	4
METODOLOGIA	6
1. ANEMIA.....	7
1.2 Etiologia	10
1.3 Sintomas de anemia	12
1.4 Diagnóstico de anemia	13
2. GRAVIDEZ.....	14
2.1 Alterações fisiológicas no hemograma	14
2.2 Sistema hemostático	15
2.3 Resposta inflamatória	16
2.4 Lípidos.....	16
3. ANEMIA NA GRAVIDEZ	19
3.1 Definição de anemia na grávida	19
3.2 Etiologias mais frequentes	20
3.3 Diagnóstico da anemia na gravidez.....	20
3.4 Deficiência em ferro.....	21
3.5 Deficiência em folatos / vitamina B12	26
3.5.1 Metabolismo do Folato e Vitamina B12	28
3.6 Outras causas de anemia.....	29
3.7 Complicações da anemia	31
3.8 Complicações no feto	32
3.9 Tratamento da Anemia na Gravidez	33
3.9.1 Ferro	33
3.9.2 Ácido fólico e Vitamina B12	34
CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Etiologia da Anemia (adaptado Chaparro et al.) (14).	7
Figura 2 - Alterações patológicas na anemia (adaptado Kuhn V et al.) (26).	10
Figura 3 - Ilustração dos principais sintomas da anemia.	12
Figura 4 - Presença de sintomas sugestivos de anemia em participantes anêmicos e não anêmicos, face à população geral (Fonte: Marques F, et al.) (3).	13
Figura 5 - Perfil lipídico durante a gravidez (Adaptado: Mankuta D et al) (46).	17
Figura 6 - Níveis médios de colesterol HDL em gestações seguintes. (Adaptado: Mankuta D et al 46).	18
Figura 7 - % Prevalência de anemia em mulheres em idade reprodutiva (15-49 anos) 2020 (47).	19
Figura 8 - Esfregaço de sangue periférico, anemia com deficiência de ferro. (Fonte: Means RT et al.) (51).	22
Figura 9 - Ilustração da placenta.	24
Figura 10 - Metabolismo do ácido fólico e vitamina B12. (Adaptado Andrès E.) (69).	28
Figura 11 - Ilustração dos efeitos da anemia para feto e mãe.	33

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de hemoglobina.....	8
Tabela 2 – Valores de Hb e Hct na gravidez.	9

Lista de Abreviaturas

AWGP – *Working Group Portugal*

CHGM – Concentração de Hemoglobina Globular Média

CTFF – Capacidade Total de Fixação de Ferro

EPO – Eritropoietina

Fe – Ferro

GV – Glóbulos Vermelhos

Hb – Hemoglobina

Hct – Hematócrito

HDL – (*High Density Lipoprotein*) Lipoproteína de alta densidade

HGM – Hemoglobina Globular Média

LDL – (*Low Density Lipoprotein*) Lipoproteína de baixa densidade

MO – Medula Óssea

O₂ – Oxigénio

OMS – Organização Mundial de Saúde

PLT – Plaquetas

RCF – Restrição de Crescimento Fetal

RCIU – Restrição de Crescimento Intra Uterino

RDW – Amplitude da distribuição dos glóbulos vermelhos

SAM – S-adenosilmetionina

SPOMMF – Sociedade Portuguesa de Obstetrícia e Medicina Materno-Fetal

ST – Saturação Transferrina

THF – 5-metil-tetrahidrofolato

VGM – Volume Globular Médio

INTRODUÇÃO

A anemia é um problema de saúde pública, que tem impacto negativo na qualidade de vida dos doentes. Afeta aproximadamente 25% da população mundial e, embora tenha um impacto global significativo, a sua prevalência varia amplamente, afetando países em desenvolvimento (1) e países desenvolvidos (2), com efeitos graves para a saúde, assim como para o desenvolvimento social e económico. De maneira mais geral, acredita-se que a anemia seja mais prevalente nos países em desenvolvimento, afetando cerca de 1,76 bilhões de pessoas (3, 4, 5, 6).

A anemia consiste numa condição patológica, caracterizada pela redução na concentração de hemoglobina, habitualmente acompanhada de diminuição do número de glóbulos vermelhos que circulam no sangue. A Organização Mundial de Saúde (OMS) define anemia como uma condição clínica em que a concentração de hemoglobina é menor do que o normal, não permitindo o transporte de oxigénio adequado às necessidades fisiológicas do indivíduo, que variam com a idade, sexo, altitude, gravidez e consumo de tabaco (7).

Os valores de hemoglobina considerados para definir anemia são os da OMS, ou seja, quando se verifica uma concentração de hemoglobina total inferior a 12 g/dL em pacientes do sexo feminino e inferior a 13 g/dL em pacientes do sexo masculino (8).

Alguns dos principais sintomas da anemia são: cansaço, palidez da pele e mucosas, cefaleias persistentes, mal-estar, perda de apetite, alterações de memória e dificuldade de concentração, tonturas e alterações da frequência cardíaca (9).

As extensas solicitações metabólicas da gravidez exigem especificidades fisiológicas e mudanças anatómicas. Essas alterações afetam quase todos os sistemas orgânicos, incluindo o cardiovascular, respiratório, renal, gastrointestinal e hematológico. A placenta adiciona outra camada de complexidade. Essas mudanças tornam mais difícil a identificação e compreensão dos sinais e sintomas da anemia, a interpretação de exames laboratoriais e radiológicos. Além disso, as alterações fisiológicas da gravidez podem afetar a farmacocinética e a farmacodinâmica dos medicamentos. A fisiologia pós-parto inclui o retorno à fisiologia pré-gravidez (10).

A anemia materna é um fator de risco para a gravidez, podendo ser causa de anemia neonatal; tem sido associada a altas taxas de aborto espontâneo, restrição de crescimento intrauterino (baixo peso ao nascer), parto prematuro, anemia neonatal e óbito fetal. A anemia pode ser devido a uma variedade de fatores, incluindo infecção aguda, inflamação crónica, hemoglobinopatias e deficiências únicas ou combinadas de nutrientes, como ácido

fólico, vitamina B12 e deficiência de ferro, que são as causas mais comuns de deficiência nutricional (5, 6, 11, 12, 13).

O objetivo desta monografia consiste em compreender as alterações e complicações associadas à anemia na gravidez, no que respeita ao feto e à mulher grávida.

A revisão está dividida em três partes principais - anemia, gravidez e anemia na gravidez.

METODOLOGIA

Nesta Monografia, foi realizada uma pesquisa teórica e exploratória com a técnica de revisão de literatura.

A fim de atingir o objetivo proposto, foram efetuadas pesquisas nas bases de dados online *Medline* via *PubMed* e *B-on* e também no *Google Scholar* sobre a temática da anemia na gravidez.

1. ANEMIA

1.1 Conceito de Anemia

A anemia é um problema de saúde pública, com enorme impacto (negativo) na qualidade de vida dos doentes (3). É uma doença de origem multifatorial, dependente de inúmeros fatores/condições, tais como falta de cuidados de saúde, conhecimento e informação sobre saúde, bem como uma deficiência nutricional, como podemos verificar na figura 1.

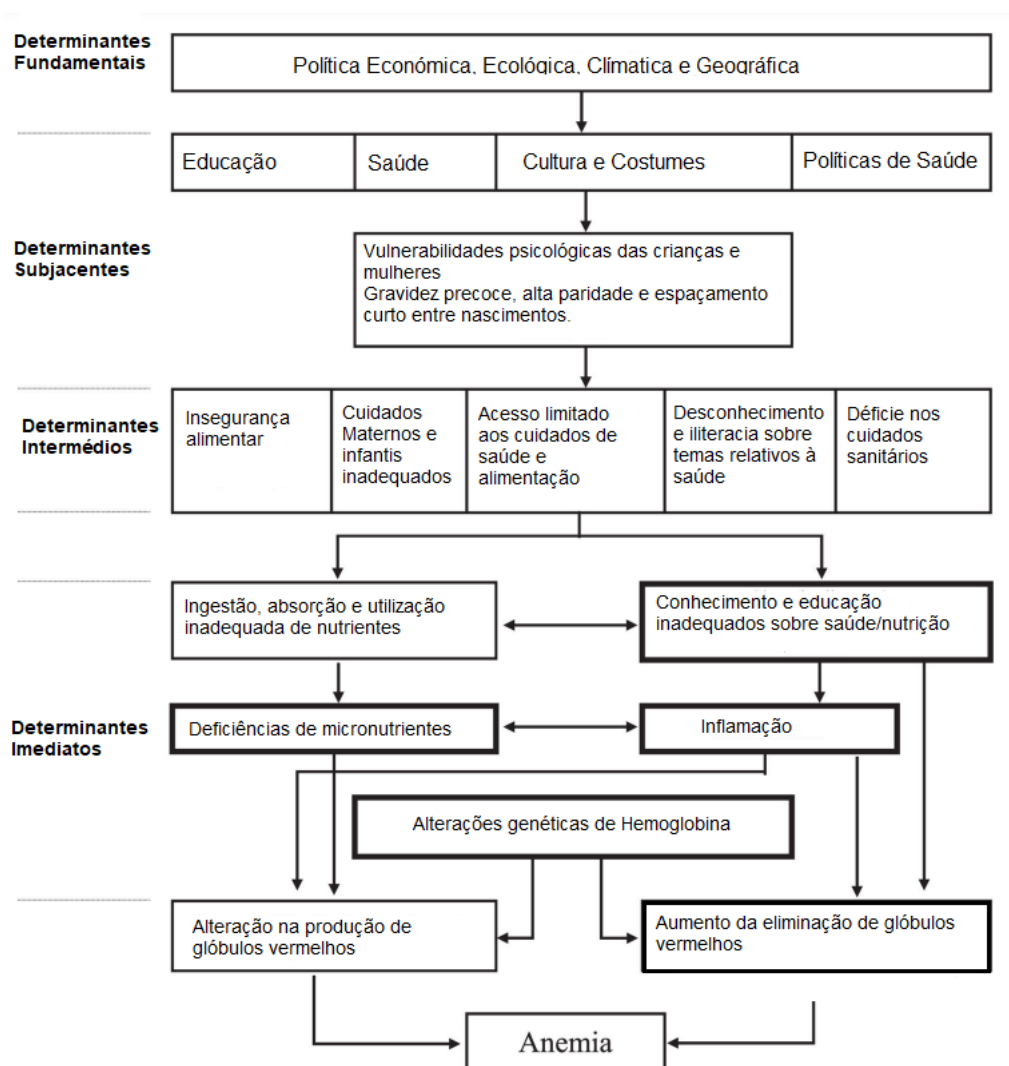


Figura 1 - Etiologia da Anemia (adaptado Chaparro et al.) (14).

Entre 1993 e 2005 a OMS realizou um estudo onde estimou que 1.620 milhões de pessoas sejam afetadas pela anemia, sendo a prevalência de 24,8% na população geral e de

25,4%, considerando apenas as crianças em idade escolar. As crianças em idade pré-escolar eram o grupo etário com maior prevalência de anemia, que se estimou em 47,4% a nível mundial e em 16,7% na Europa (8, 15).

Em países de menor rendimento (baixo nível socioeconómico), a prevalência é superior (14,16), representando em 2005, 89% dos casos de anemia (16); o continente africano era o mais afetado, com 65% (18). Um estudo realizado em 2013 em Portugal Continental, estimou uma prevalência de 19,9% na população adulta (≥ 18 anos), sendo a maior parte (84%) não diagnosticada. Podemos concluir que a anemia em Portugal deverá ser considerada um problema de saúde pública moderado, sendo considerado grave no caso das mulheres grávidas, onde a estimativa de prevalência neste estudo foi de 53,8% (3). A anemia pode ocorrer em qualquer idade, mas principalmente durante o crescimento e desenvolvimento, quando existe maior necessidade de uma dieta rica em ferro e outros nutrientes como a vitamina B12 e ácido fólico (19). Afeta particularmente crianças em idade pré-escolar e mulheres, especialmente durante a gravidez (7).

Segundo a *Anemia Working Group Portugal* (AWGP) (20), em Portugal, a anemia afeta 20% da população adulta, relativamente à gravidez, esta percentagem sobe para 54% correspondendo 41% à anemia ferropénica.

No doente com anemia, a concentração de glóbulos vermelhos (GV) e/ou de hemoglobina (Hb) são inferiores ao normal, sendo insuficientes para assegurar a normal oxigenação dos tecidos (7,8,14).

Segundo a OMS (7) e Newhall, 2020 (22) a definição laboratorial de anemia advém quando os níveis de hemoglobina se encontram abaixo dos níveis de referência. Assim, podemos dizer que existe anemia, quando:

Tabela 1 – Valores de hemoglobina.

Sexo	Valor hemoglobina (Hb)
Mulheres não grávidas maiores de 15 anos	inferior a 120 g/l
Homens maiores de 15 anos	inferior a 130 g/l
Crianças 12 a 14 anos	inferior a 120 g/l

Durante a gravidez, ocorrem alterações homeostáticas que requerem uma alteração das definições de anemia. Segundo a Sociedade Portuguesa de Obstetrícia e Medicina Materno-Infantil (SPOMMI) (22), há anemia durante a gravidez quando ocorre:

Tabela 2 – Valores de Hb e Hct na gravidez.

Idade Gestacional	Valor hemoglobina (Hb)	Valor hematócrito (Hct)
Primeiro e terceiro trimestres	inferior a 110 g/l	inferior a 33 l/l
Segundo trimestre	inferior a 105 g/l	inferior a 0,32 l/l
Pós-parto	Hb inferior a 100 g/l	-

A anemia pode estar relacionada com deficiências nutricionais, nomeadamente em ferro, vitamina B12 ou ácido fólico; a hemorragias, alterações genéticas (talassemias), doença renal, doenças inflamatórias crónicas ou neoplásicas (3, 4, 5).

É fundamental que a anemia seja identificada atempadamente, para que os seus efeitos negativos sejam prevenidos. É também importante esclarecer a sua etiologia, para desenvolver intervenções apropriadas, que abordem a(s) causa(s) de anemia (14).

A anemia é comum em mulheres, especialmente durante a adolescência e na gravidez, sendo a deficiência em ferro a causa mais comum (3).

A anemia é frequentemente assintomática e diagnosticada após a realização de análises clínicas de rotina. Os sintomas mais característicos da anemia estão relacionados com a diminuição da capacidade de transporte de oxigénio pela hemoglobina, nomeadamente, fraqueza, fadiga, dispneia, vertigens, cefaleia, ou ainda sintomas relacionados com outras comorbilidades, subjacentes ao desenvolvimento da anemia (3, 23).

1.2 Etiologia

A anemia é um problema global de saúde, que pode resultar de alterações eritropoiéticas ou nas células eritroides ou, ainda, estar associada a outras patologias (24).

A etiologia das anemias divide-se em duas principais categorias:

- 1) eritropoiese diminuída ou alterada;
- 2) perda ou destruição aumentada de eritrócitos.

Frequentemente, estes dois processos podem estar combinados (25).

Como podemos aferir da figura 2, (A) a eritropoiese pode ser prejudicada devido à falta de substratos essencial para a síntese de Hb (ferro) ou para a divisão celular (vitamina B12 ou ácido fólico), carência de eritropoietina (EPO) ou devido a distúrbios da medula óssea/aplasia. Além disso, diminuir os números de GV circulantes pode ser devido ao aumento da hemólise ou depleção. (B) A hemólise, diminuir a quantidade de GV circulantes. (C) A perda de sangue, por colheita de sangue ou uma lesão traumática, também leva a alterações do volume de GV. (D) O hipersplenismo pode diminuir a quantidade de células circulantes pelo aumento da remoção de GV da circulação.

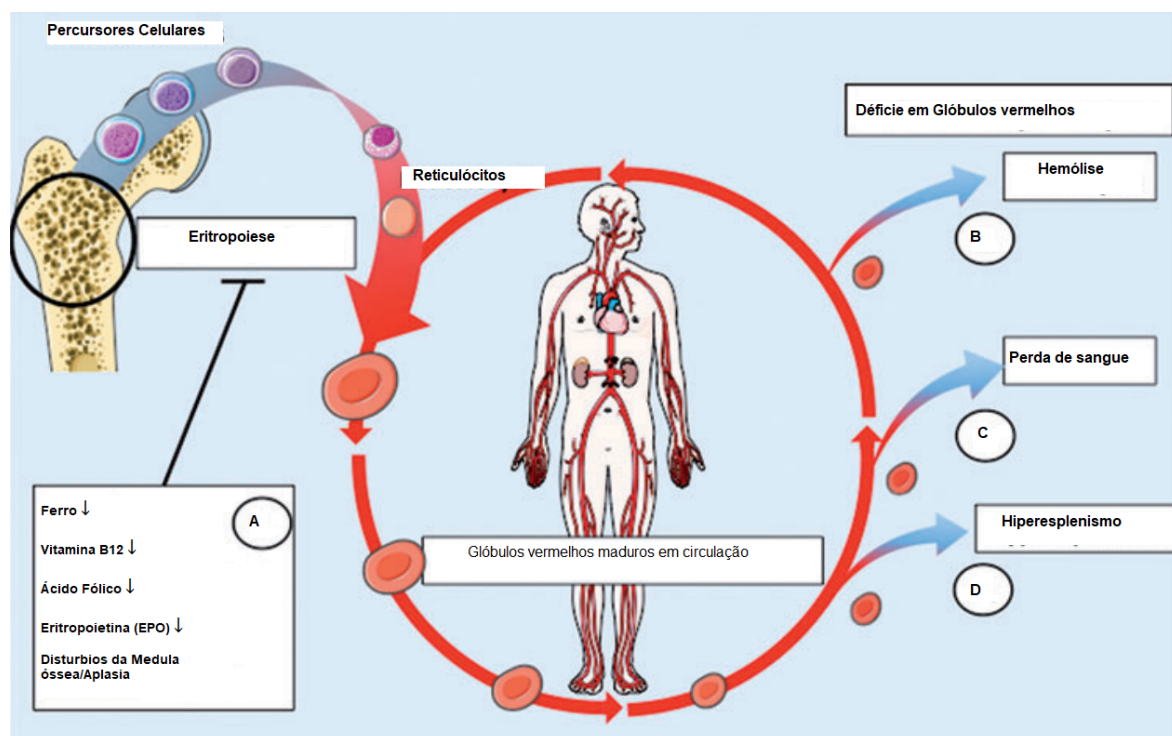


Figura 2 - Alterações patológicas na anemia (adaptado Kuhn V et al.) (26).

A categorização mais utilizada nas anemias baseia-se nos índices hematimétricos. A classificação morfológica, de acordo com os índices hematimétricos, divide as anemias em microcíticas, normocíticas e macrocíticas, segundo o tamanho dos GV (27,28). Laboratorialmente as anemias são classificadas pelos valores quantitativos do eritrograma: valor de eritrócitos, Hct, concentração de Hb, volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média (HGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM). Estes valores possibilitam qualificar as anemias em três grupos: normocrômica/normocítica, hipocrômica/microcítica e normocrômica/macroscítica, conforme o grau de hemoglobinizacão e volume dos GV (29,30).

A anemia microcítica é um tipo de anemia onde o GV apresenta um tamanho inferior ao normal (micocitose), ou seja, o VGM está abaixo de 80 fl. Estas alteraçōes estāo relacionadas com anemia por deficiēncia de ferro, anemia sideroblástica e talassemias. Os GV apresentam uma palidez central, principalmente na anemia por deficiēncia de ferro e anemia de doença crônica (29,30).

Na anemia macrocítica o volume dos GV estā aumentado, apresentando um valor de VGM superior a 95 fl. Encontra-se subdividida em megaloblástica ou nāo megaloblástica. As anemias megaloblásticas apresentam um distúrbio hematológico, levando á síntese defeituosa do DNA, maioritariamente por déficit de vitamina B12 ou folato, por anomalias herdadas ou adquiridas que afetem o metabolismo da vitamina B12 ou folato, ou ainda por défices enzimáticos que condicionem a síntese do DNA. A anemia nāo megaloblástica pode ser é causada por uma insuficiēncia hepática ou alcoolismo crônico (29,30).

A anemia normocítica é uma anemia em que existe diminuiçāo Hb e Hct, mas apresenta um VGM com valores normais (80 a 95 fL). Pode ser subdividida em hemolítica e nāo hemolítica. A hemolítica normocítica pode ocorrer intravascular e extravascularmente existindo várias causas. Serāo necessários outros exames laboratoriais para o seu diagnóstico (29,30).

1.3 Sintomas de anemia

Sendo a anemia uma doença multifatorial, são diversos os seus sintomas (figura 3) (21,29,31).

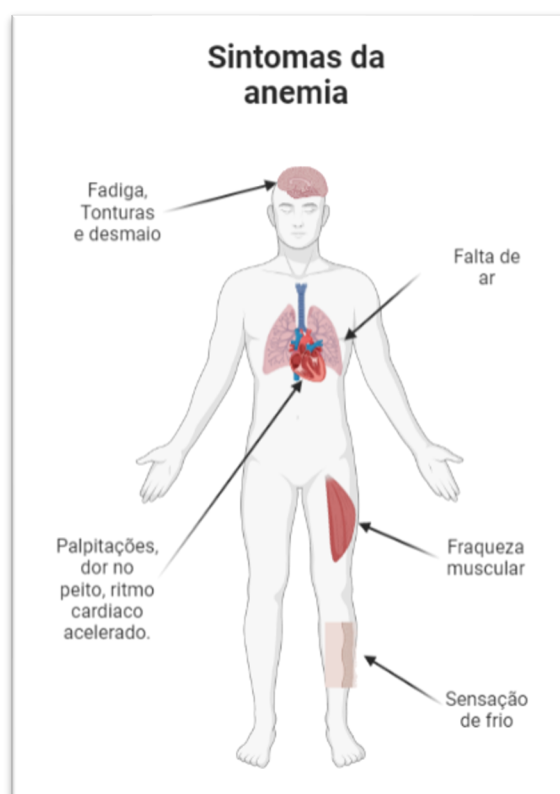


Figura 3 - Ilustração dos principais sintomas da anemia.

Existem determinados sintomas que já estão acoplados a determinadas anemias, nomeadamente, coiloníquia (unhas em colher) na deficiência de ferro, icterícia na anemia hemolítica e megaloblástica, úlceras de perna na anemia de células falciformes e em outras anemias hemolíticas crônicas, deformidades ósseas na talassemia maior e em outras anemias congénitas graves (32). Apesar destes sinais e sintomas, o mais comum é a anemia ser uma doença assintomática. A consequência imediata é o comprometimento do transporte de oxigénio (O_2) para os tecidos, sendo os sinais e sintomas mais comuns a astenia, a fadiga, o cansaço, a redução da tolerância aos esforços, a ocorrência de palpitações, taquicardia, tonturas, dispneia de esforço, cefaleias, vertigens e dor torácica (figura 4) (21, 29, 31). Podem também ocorrer mudanças subtis do comportamento. Os sintomas pioram quanto menor a Hb.

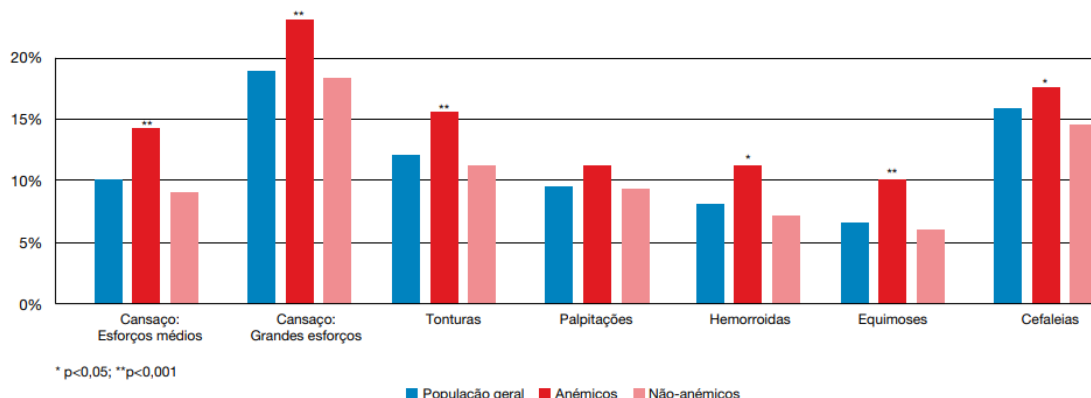


Figura 4 - Presença de sintomas sugestivos de anemia em participantes anêmicos e não anêmicos, face à população geral (Fonte: Marques F, et al.) (3).

1.4 Diagnóstico de anemia

Para o diagnóstico de anemia é importante um exame físico do doente, a sua história clínica e estudos analíticos básicos e mais específicos, para identificação da causa da anemia. Para iniciar o seu tratamento é essencial ter um diagnóstico preciso. O conhecimento dos sinais e sintomas e o tempo de duração dos mesmos, a existência de patologias, o tipo de dieta, medicamentos e suplementos utilizados, história familiar de anemia, são fundamentais para o diagnóstico e esclarecimento da etiologia da anemia (31).

Para o diagnóstico laboratorial de anemia é importante um estudo hematológico básico, incluindo o hemograma [Htc, Hb, VGM, HGM, CMHG, RDW (Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos)], reticulócitos e parâmetros do metabolismo do ferro (Saturação da transferrina (ST), Ferro (Fe), Capacidade Total de Fixação de Ferro (CTFF) e ferritina) e uma observação cuidada do esfregaço de sangue periférico (33). Os resultados obtidos com este estudo básico, orientarão a definição dos estudos analíticos específicos, para avaliação da causa da anemia.

2. GRAVIDEZ

Fisiologicamente, na gravidez ocorre um aumento de cerca de 35% da massa eritrocitária e aumento de 40 a 50% do volume plasmático.

Tal condiciona hemodiluição e diminuição fisiológica da concentração hemoglobina e hematócrito. Para além disso, assiste-se a um aumento progressivo das necessidades de ferro durante o 2º e 3º trimestres de gravidez, propiciado pelo desenvolvimento fetoplacentar e tecidual materno. Como tal, a anemia ferropénica é a causa mais frequente de anemia gestacional (10, 34, 35).

2.1 Alterações fisiológicas no hemograma

Durante a gravidez ocorrem algumas mudanças fisiológicas, com o objetivo de favorecer o desenvolvimento do feto e preparar a mãe para o parto. O metabolismo normal pode ser influenciado por algumas dessas mudanças. Observam-se também alterações anatómicas, para que o feto seja adequadamente nutrido e acomodado no organismo da mãe. Estas mudanças iniciam-se logo após a concepção, decorrem ao longo da gravidez e desaparecem depois do parto, deixando apenas alguns efeitos muito residuais (36).

Ao longo da gravidez, o volume plasmático aumenta progressivamente. Sendo que, a maior parte desse aumento ocorre nas primeiras 34 semanas da gestação e é proporcional ao peso de nascimento do bebé. Como a expansão do volume plasmático é maior do que o aumento da massa de GV, há uma queda na concentração de Hb, Hct e contagem de GV, levando a uma anemia relativa devido à hemodiluição que atinge o seu máximo por volta das 30-32 semanas de gravidez. A diminuição por diluição da hemoglobina é um processo fisiológico comum na gravidez (37, 38). Isso é vantajoso para a mãe e o feto em resposta ao aumento das taxas metabólicas da gravidez, e mais importante, serve como um tampão protetor para minimizar as perdas de grandes volumes de sangue durante o parto (10).

Relativamente aos leucócitos, a alteração mais significativa ocorre no número de neutrófilos (39). O número de neutrófilos, aumenta bastante durante a gestação, de 5 a $7 \times 10^9/l$ para médias entre 8 a $16 \times 10^9/l$, especialmente no primeiro e segundo trimestres. Durante o parto e o pós-parto imediato, estes valores podem atingir até 20 a $30 \times 10^9/l$, regularizando-se pelo sexto dia de puerpério. Desta forma, o número absoluto dos leucócitos parece contribuir para a leucocitose neutrofílica normal da gestação (42).

A gravidez leva também a um aumento de duas a três vezes nas necessidades de ferro. Esse ferro é utilizado, não só para a produção de Hb, mas também para a produção de certas enzimas no feto. Verifica-se também uma necessidade de dez a vinte vezes nas necessidades de ácido fólico e de duas vezes na necessidade de vitamina B12 (36).

2.2 Sistema hemostático

As concentrações dos fatores de coagulação vão mudando ao longo de toda a gravidez. A soma de todos essas alterações levam a aproximadamente o dobro da atividade de coagulação, quando comparado com o estado de não gravidez sendo, portanto, um estado de hipercoagulabilidade (40, 41, 42).

A contagem das plaquetas (PLT) tende a diminuir progressivamente durante o período da gravidez, tanto pelo efeito de “diluição”, como pelo aumento do seu consumo uteroplacentário, mas na maioria das vezes mantém-se dentro de limites normais (36, 40).

As alterações no sistema de coagulação, que ocorrem durante a gravidez, permitem produzir um estado hipercoagulável fisiológico (de preparação para o parto). As concentrações de determinados fatores de coagulação, particularmente VIII, IX e X, aumentam durante a gravidez. A concentração de anticoagulantes endógenos, como a antitrombina e a proteína S, diminuem durante a gestação. Assim, a gravidez altera o equilíbrio do sistema de coagulação da mulher, aumentando a predisposição da grávida e da puérpera para desenvolver trombose venosa. Este risco verifica-se a partir do primeiro trimestre de gravidez e até, pelo menos, 12 semanas após o parto (37).

A fase da gravidez requer uma forte hemostasia para prevenir hemorragia durante a invasão do trofoblasto extraviloso do endométrio, modificação das artérias e processos pós-parto. No entanto, pode ocorrer uma hemorragia decidual durante toda a gravidez devido a alterações nas artérias, causando parto prematuro espontâneo ou morte fetal. Pode também promover alterações na formação placentária, levando a restrição de crescimento intrauterino (RCIU), assim como situações de pré-eclampsia. A reprodução humana está associada a riscos significativos de hemorragia durante a implantação e o desenvolvimento da circulação uteroplacentária primitiva, bem como modificações do suprimento sanguíneo materno através da remodelação das artérias e arteríolas. O estado pró-coagulante que decorre durante a gravidez parece ser uma resposta fisiológica no sentido de prevenir hemorragias associadas ao parto, inclusivamente no descolamento e expulsão da placenta (34, 43).

2.3 Resposta inflamatória

A gravidez é conhecida por aumentar o stress oxidativo, associado a alterações inflamatórias que decorrem durante a gravidez e que resulta na produção aumentada de espécies reativas de oxigénio. Na gravidez é a placenta que regula esta condição. O stress oxidativo observado na gravidez pode levar a danos nos tecidos, no entanto, pode ser equilibrado pelo aumento da síntese de antioxidantes. Quando o stress oxidativo supera a defesa antioxidante na placenta, as sequelas podem propagar-se para os tecidos distais (44).

2.4 Lípidos

Durante a gravidez verifica-se um aumento do colesterol sérico total e dos níveis dos triglicerídeos. O aumento dos níveis de triglicerídeos ocorre principalmente como resultado do aumento da sua síntese pelo fígado. Os níveis de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL) também aumentam. Os níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL) aumentam na primeira metade da gravidez e diminuem depois no terceiro trimestre, mas as concentrações são 15% mais altas do que os níveis em não grávidas (45).

Estas alterações no metabolismo lipídico permitem atender às necessidades acrescidas do feto em desenvolvimento, especialmente em colesterol. O aumento dos níveis de triglicerídeos proporciona necessidades energéticas da mãe, enquanto a glicose é poupada para o feto. Verifica-se também que o aumento do colesterol LDL é importante para o desenvolvimento da placenta (45).

Por sua vez, a dislipidemia pode estar presente mesmo em grávidas sem excesso de peso. No entanto, um consumo a longo prazo de uma dieta rica em gordura pode levar a um significativo aumento da transferência de lipídios para o feto. Várias pesquisas mostram que o desenvolvimento fetal é suscetível ao excesso de lipídios, que aumentam o risco de outras doenças e que as alterações de lipídios no sangue durante a gravidez, possuem riscos conhecidos para as mães e recém-nascidos (10).

Os níveis de lipídios maternos são aumentados sob o efeito da resistência à insulina e estrogênio. Numa primeira fase da gravidez, a síntese lipídica é favorecida e a gordura armazenada aumenta. No entanto, durante o terceiro trimestre, a gordura armazenada será utilizada pela mãe para produção de energia, pois os ácidos gordos e o glicerol servem como combustível nutritivo para a mãe, enquanto a glicose e os aminoácidos são preferencialmente utilizados pelo feto (figura 5) (10, 46).

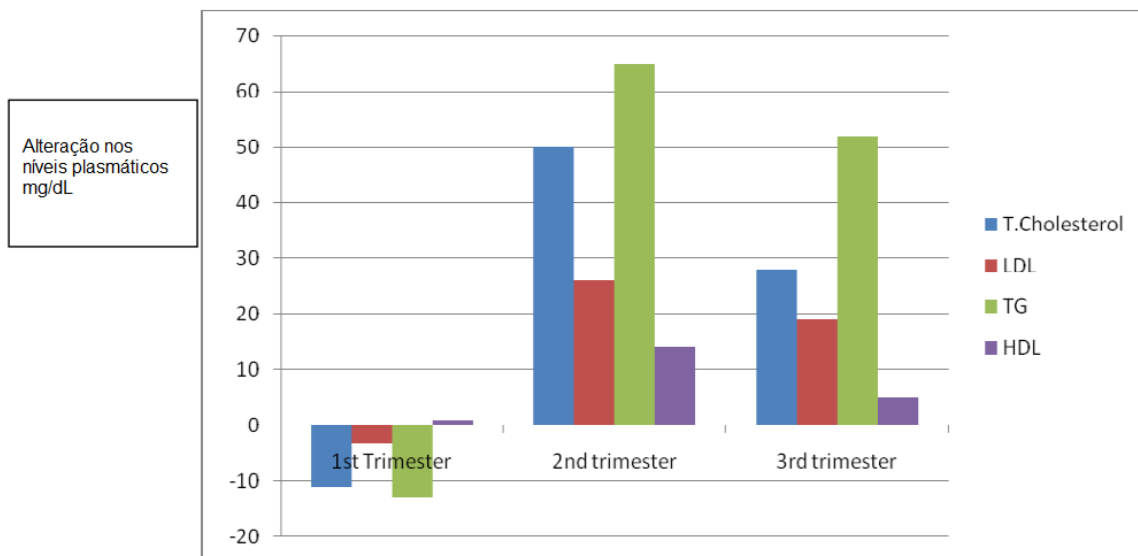


Figura 5 - Perfil lipídico durante a gravidez (Adaptado: Mankuta D et al) (46).

As necessidades fisiológicas de lipídios existem, no entanto, durante a fase de gestação e a dislipidemia patológica pode afetar adversamente os fetos e recém-nascidos. Não há cura para esta alteração da gravidez, mas o impacto dos hábitos maternos e do excesso de peso são importantes e influenciam as características clínicas dos recém-nascidos, bem como as gestações seguintes (figura 6) (46).

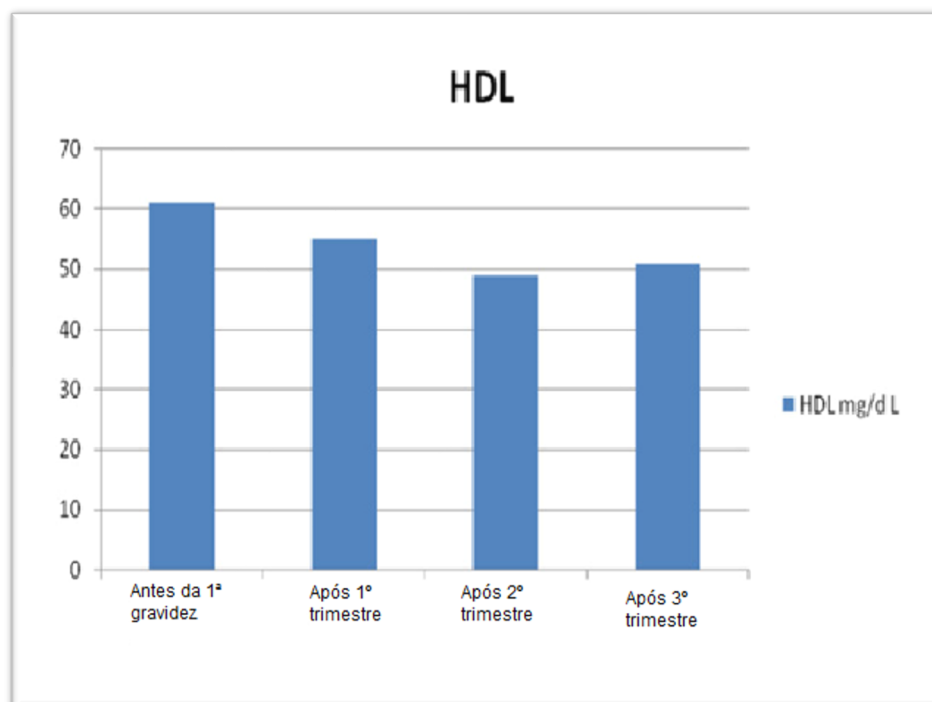


Figura 6 - Níveis médios de colesterol HDL em gestações seguintes. (Adaptado: Mankuta D et al 46).

Além do estado metabólico, vários órgãos secretores de hormonas, como a hipófise e a tireoide sofrem mudanças drásticas. O estrogênio induz hiperplasia e hipertrofia, resultando numa glândula pituitária aumentada com níveis de prolactina, posteriormente aumentando também. Além disso, há um aumento da progesterona e estrogênio. A hormona de crescimento placentário é aumentada na gravidez, estimulando a libertação de fatores de crescimento semelhantes à insulina, que contribuem para as características de acromegalia de algumas mulheres durante a gravidez (10).

A prevalência de anemia na gravidez varia em diferentes partes do mundo e, de acordo com a OMS 35-75% (média de 56%) das mulheres grávidas em países em desenvolvimento sofrem de anemia (figura 7) (47). Antes e ao longo da gravidez é importante diagnosticar a anemia por deficiência de ferro, que poderá ainda agravar-se, devido a perdas de sangue no momento do parto (48).

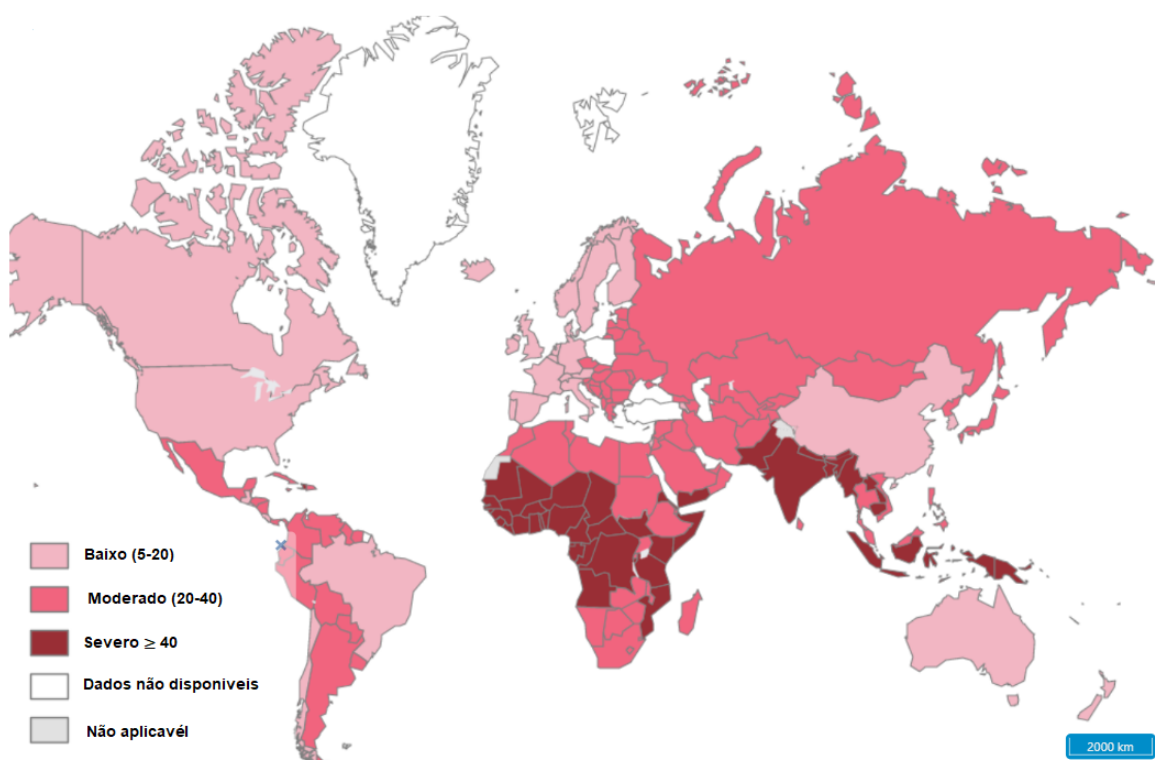


Figura 7 - % Prevalência de anemia em mulheres em idade reprodutiva (15-49 anos) 2020 (47).

3. ANEMIA NA GRAVIDEZ

3.1 Definição de anemia na grávida

A 65ª Assembleia Mundial da Saúde estabeleceu uma redução de 50% na prevalência de anemia entre mulheres em idade reprodutiva até 2025; no entanto, estamos longe de o atingir (49), uma vez que os últimos relatórios referem que em 2016, 40,05% das mulheres grávidas em todo o mundo tiveram anemia durante a gravidez, tendo o Sudeste Asiático a maior prevalência (48,15%) (49). Estes dados têm um enorme impacto na saúde pública.

A anemia materna é considerada um fator de risco para a gravidez e pode ser causa de anemia em recém-nascidos, além de estar relacionada com elevadas taxas de aborto, restrição de crescimento intrauterino (baixo peso ao nascer), prematuridade, óbito fetal e anemia no primeiro ano de vida. A origem da anemia pode ser devido a vários fatores, relacionados ou não com a gravidez, e que incluem infeções agudas, inflamação crónica, hemoglobinopatias e deficiência única ou combinada de nutrientes eritropoéticos, como

ácido fólico, vitamina B12 e ferro; a deficiência em ferro é a causa mais comum de anemia nutricional (11).

Na maioria dos casos, é possível identificar a causa da anemia e tratá-la corretamente durante a gravidez, para melhor desenvolvimento da gestação, melhorando o aporte nutricional ao bebê (38).

3.2 Etiologias mais frequentes

A prevalência mundial da anemia é uma das mais graves questões globais de saúde pública. Na verdade, envolve um maior risco de morbidade e mortalidade, e pode ser também a base da incapacidade da mulher grávida para reagir a uma hemorragia perinatal ou pós-parto, com agravamento e, eventualmente, consequências graves para o estado de saúde da mulher.

Como já se referiu, as causas mais comuns de anemia são défices nutritivos, incluindo deficiências de ferro, ácido fólico, vitaminas A e B12; doenças como a malária, ancilostomíase (infecção intestinal) e esquistossomose (infecção adquirida transcutaneamente ao nadar ou entrar em contato com águas contaminadas), infecção por HIV, hemoglobinopatias hereditárias e talassemias. Dependendo da gravidade e duração da anemia e do período de gestação em que ocorre anemia, as complicações podem ser diferentes e podem incluir baixo peso ao nascimento e parto prematuro. O tratamento atempado da anemia permite prevenir o seu agravamento, e, portanto, um risco aumentado de mortalidade e morbidade materno-fetal (22).

3.3 Diagnóstico da anemia na gravidez

A deteção de anemia no início da gravidez pode reduzir a morbidade e mortalidade materna e infantil. A palidez das conjuntivas, lábios, mucosa oral, pregas palmares são possíveis achados em pacientes com anemia. Um exame físico pode indicar a presença de anemia e da sua gravidade; o exame físico é, pois, importante para o diagnóstico desta doença, especialmente em países em desenvolvimento onde os testes analíticos nem sempre estão disponíveis. Após confirmação da gravidez, para diagnóstico de anemia é importante o exame físico, sintomatologia, história familiar e clínica, e o estudo analítico. (37). Em caso de anemia deve alargar-se o estudo analítico para avaliação da causa da anemia, e respetivo tratamento.

3.4 Deficiência em ferro

O ferro é essencial para a função de todas as células, pela função que desempenha no transporte de oxigênio, transporte de elétrons e na atividade de diversas enzimas. Células com altas taxas metabólicas requerem mais ferro e correm maior risco de disfunção durante a deficiência de ferro. As necessidades de ferro durante a gravidez aumentam drasticamente, para o melhor desenvolvimento do feto. Assim, a gravidez é uma condição de risco de desenvolvimento ou agravamento de deficiência em ferro, que pode ser difícil de diagnosticar devido às limitações dos biomarcadores frequentemente utilizados, como as concentrações de Hb e ferritina. A ferritina sérica é o parâmetro mais vantajoso para avaliar as reservas de ferro. Considera-se déficit de ferro, caso a ferritina apresente valores inferiores a 30 ng/mL. Contudo, existem situações de infecção/inflamação, que podem alterar os valores, havendo uma suspeita deverá ser doseada a proteína C reativa (22, 30, 34, 50).

A deficiência de ferro está associada a eventos adversos na gravidez, incluindo aumento do risco materno de doença, de prematuridade e restrição de crescimento intrauterino. O desenvolvimento cerebral do feto pode também ser afetado pela deficiência materna em ferro; a hipertensão, o tabagismo, ou a intolerância à glicose podem também favorecer efeitos adversos. A baixa ingestão de ferro durante o período gestacional tem sido associada a um maior risco de autismo, esquizofrenia e estrutura cerebral anormal. Os recém-nascidos com deficiência de ferro têm memória de reconhecimento comprometida e velocidade de processamento mais lenta, que persistem depois do nascimento, mesmo após tratamento com suplementos de ferro (34).

Uma gravidez normal consome 500-800 mg de ferro da mãe. A gravidez está associada a uma anemia fisiológica, relacionada com a expansão do volume plasmático materno e com um aumento de GV. A deficiência de ferro é um fator limitante para essa expansão da massa eritrocitária e pode contribuir para o aparecimento de complicações durante a gestação. A anemia por deficiência de ferro é a mais comum, principalmente nos países mais desenvolvidos, onde as contribuições de outros distúrbios produtores de anemia, como malária ou hemoglobinopatias, são menos significativos (51). As diferenças são pequenas no primeiro trimestre (0,1 mg/dL Hb), aumentando gradualmente no segundo (0,1-0,4 mg/dL Hb) e terceiro trimestres (0,3-0,9 mg/dL Hb) e no período pós-parto (1 mg/dL Hb superior) (52).

O último trimestre da gravidez é o período de maior ganho de peso e armazenamento de ferro no feto. Por esse motivo, os recém-nascidos prematuros ou com baixo peso ao nascimento, têm quantidades menores de ferro acumulado, em comparação com recém-

nascidos de termo. Após o nascimento, ocorre uma elevada taxa de crescimento, num recém-nascido de termo e as reservas adquiridas durante a gravidez serão usadas durante os primeiros 4-6 meses de vida do bebê. O peso dos bebês ao nascimento é um importante fator para a sua sobrevivência, apresentando o recém-nascido com baixo peso ao nascimento um maior risco de adoecer ou morrer no primeiro ano de vida (41, 53).

Embora a anemia por deficiência em ferro nas grávidas seja mais prevalente em países com menos recursos, nos países desenvolvidos a prevalência também é relevante. O esfregaço sanguíneo auxilia no diagnóstico (Figura 8). Verifica-se que um grande número de mulheres de países com menos recursos iniciam a gravidez já com anemia por deficiência de ferro e/ou reservas de ferro esgotadas. Nestes países, a anemia é a responsável por cerca de 20-40% de morte materna (51).

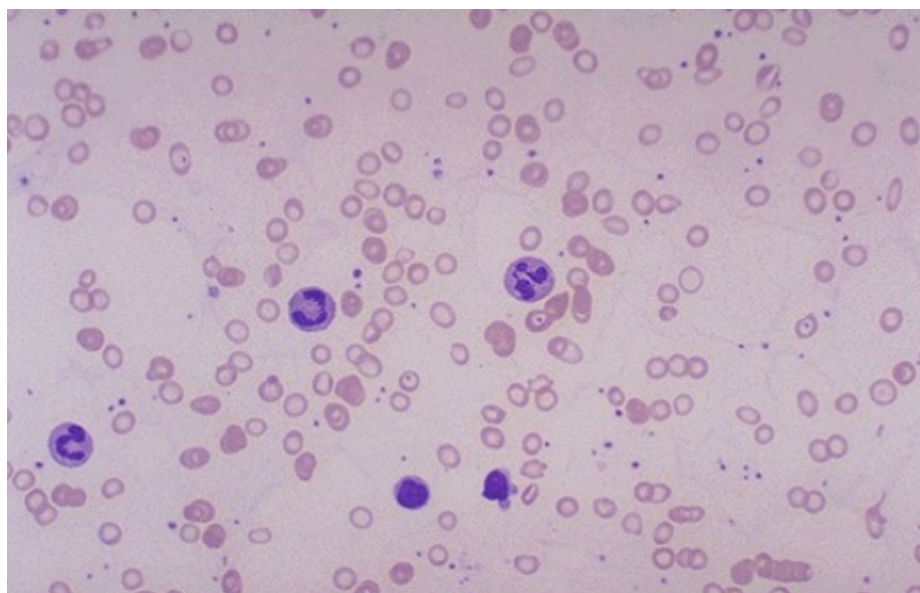


Figura 8 - Esfregaço de sangue periférico, anemia com deficiência de ferro. (Fonte: Means RT et al.) (51).

A deficiência de ferro é responsável por 75% dos casos de anemia na gravidez. Isso deve-se ao fato de que a dieta na gravidez é insuficiente para suprir as necessidades de ferro para o desenvolvimento fetal. As causas mais comuns da anemia por deficiência de ferro incluem uma inadequada ingestão dietética (especialmente em jovens adolescentes), uma ou mais gravidezes anteriores e perda recorrente (de ferro) de sangue (menstrual) (54).

A gravidez aumenta as necessidades maternas de ferro por três razões. O volume de plasma e de GV maternos aumentam durante a gravidez. Cada grama extra de hemoglobina que a mãe sintetiza requer uma adição de 3,46 miligramas de ferro elementar.

Além disso, o feto requer ferro para as suas próprias necessidades metabólicas, para a síntese de hemoglobina, bem como para armazenamento de ferro, constituindo reservas de ferro endógeno, que serão utilizadas nos primeiros seis meses de vida pós-nascimento. A placenta é um órgão metabolicamente ativo, que tem capacidade para armazenar ferro nas células reticulo-endoteliais residentes, para fornecer um amortecedor contra períodos de baixo suprimento materno de ferro (34).

A deficiência de ferro pode existir sem anemia, quando as reservas de ferro são residuais, designando-se esta situação como deficiência latente em ferro. Num estudo com mulheres não anêmicas no primeiro trimestre de gravidez, verificou-se que 42% tinham deficiência de ferro não existindo anemia (50, 51, 52).

Na fase inicial de eritropoiese com deficiência latente em ferro, a concentração de Hb começa a diminuir gradualmente, mas os GV permanecem morfológicamente normais. Se a ingestão de ferro for suficiente para manter a síntese de Hb e as perdas de ferro, existirá um estado estável de eritropoiese com deficiência latente em ferro. Caso contrário, ocorrerá um declínio na concentração de Hb, de 1-2 mg/dL (que ainda poderá assegurar um valor de Hb normal) (51).

A placenta é elo entre a mãe e o feto, suportando o crescimento e desenvolvimento fetal, realizando o transporte de gases, nutrientes e resíduos. Esta pode responder a estímulos ambientais por forma de alterações na estrutura e função, influenciando o fluxo sanguíneo, o transporte de nutrientes e o metabolismo hormonal para melhorar o ambiente intrauterino. A disfunção placentária pode, portanto, alterar o desenvolvimento do feto, bem como a saúde materna (53, 54).

A placenta apresenta uma forma discóide, onde o sangue materno entra em contato direto com o córion fetal e a sua composição advém de tecidos maternos e fetais. A parte materna é a decídua basal, que contém células do estroma, glândulas, leucócitos e vasos sanguíneos, já a parte fetal está estruturada em vilosidades coriônicas, sendo altamente ramificadas que consistem em uma camada externa de trofoblasto sincicializado e citotrofoblastos mononucleares que circundam um núcleo interno contendo fibroblastos, macrófagos e vasos sanguíneos (Figura 9) (53).

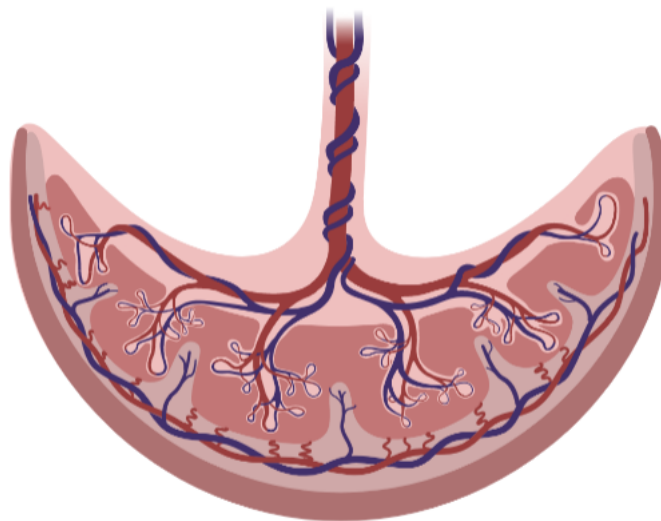


Figura 9 - Ilustração da placenta.

O crescimento e desenvolvimento fetal são dependentes do aporte de ferro através da placenta, sendo o transporte placentário de ferro controlado principalmente pelo sincitiotrofoblasto. Desta forma, este órgão desempenha um papel crucial no fluxo de ferro durante a gravidez (53).

Na gravidez, a hepcidina fetal desempenha um papel decisivo no controlo do transporte de ferro, através da placenta, do plasma materno para a circulação fetal. A hepcidina controla a absorção de ferro e a sua libertação das reservas hepáticas e macrofágicas, ligando-se à ferroportina e promovendo a sua degradação; desta forma, inibe a libertação do ferro dos hepatócitos, enterócitos e macrófagos, e, conseqüentemente, reduz o ferro disponível para a eritropoiese. É importante referir, que os níveis de hepcidina aumentam em situações de inflamação, e reduzem em casos de hipóxia, eritropoiese aumentada e défice de ferro (55).

No caso da deficiência de ferro na gravidez, podem surgir dúvidas sobre se qualquer efeito negativo é uma consequência geral da anemia ou se é específico da deficiência de ferro. A intervenção para evitar estas complicações, deve fazer parte dos objetivos de saúde pública (50).

As principais razões para prevenir a deficiência em ferro durante a gravidez, são: proteger a saúde da mãe, assegurar uma gravidez normal e promover o melhor desenvolvimento fetal. De facto, há evidências científicas de que a deficiência de ferro no primeiro e segundo trimestres de gravidez está associada a um aumento da morbilidade materna e do risco de uma gravidez com complicações, restrição de crescimento intrauterino (bebés de baixo peso ao nascimento), e prematuridade. Ensaios controlados randomizados de

suplementação de ferro de mulheres grávidas com deficiência em ferro mostraram que a terapia com ferro reduz estes efeitos adversos (34).

No entanto, há ainda alguma controvérsia sobre se a suplementação materna de ferro durante a gravidez pode reverter/prevenir os efeitos adversos descritos. Duas revisões sistemáticas recentes não encontraram evidências de que a suplementação de ferro durante a gravidez melhorasse o neuro desenvolvimento do feto; a frequência específica de deficiência de ferro nas populações estudadas pode ter contribuído para a ausência de um efeito estatisticamente significativo: os benefícios podem ter sido confinados aos pacientes que possuíam deficiência de ferro ou tinham reservas marginais de ferro no momento do tratamento. Do ponto de vista do recém-nascido, de anemia/estado de ferro, a evidência parece mais clara: estudos feitos ao longo de 60 anos, têm apoiado o conceito de que a deficiência de ferro materna não reduz a oferta de ferro ao feto. Verifica-se que o feto é o principal recetor de ferro e dos nutrientes necessários para a síntese de Hb (55, 56).

O ferro é essencial para o fornecimento de oxigénio materno-placentária-fetal, para dar apoio ao aumento das necessidades de consumo de oxigénio na gravidez (34, 55). As concentrações maternas de Hb suportam as solicitações de oxigénio dos três componentes da unidade. Além do fornecimento de O₂, o ferro catalisa a geração de ATP quando a taxa de consumo de O₂ fetal é muito alta, impulsionada em grande parte pelo desenvolvimento de órgãos fetais. Destes, o cérebro consome a grande parte do O₂ fetal. As elevadas taxas de consumo de O₂ fetal verificam-se devido ao desenvolvimento estrutural dos neurónios e células da glia. Este consumo elevado de oxigénio excede em muito a taxa de consumo de oxigénio do cérebro de outras espécies de mamíferos. O cérebro fetal desenvolve-se evoluindo de uma estrutura bilobada lisa às 24 semanas de gestação para um complexo sulcado e estrutura giratória no termo da gestação, que se parece muito com um cérebro adulto maduro (13, 34, 50, 57).

Tradicionalmente, a avaliação da concentração de hemoglobina tem sido usada em pacientes de todas as idades para rastrear os níveis de ferro, uma vez que grande parte das anemias, em todo o mundo, é devida à deficiência de ferro. A ampla disponibilidade, facilidade e baixo custo da avaliação da concentração de hemoglobina, são vantagens, particularmente em áreas com poucos recursos. Valores normais para a concentração de Hb estão publicados e são de fácil acesso para o diagnóstico de anemia. No entanto, o valor da concentração de hemoglobina, por si só não permite detetar estadios iniciais de deficiência de ferro (34, 48, 58).

Se a anemia for corrigida, a mulher chegará ao parto com maior capacidade para responder a uma perda sanguínea exacerbada, bem como evitar os riscos de uma transfusão sanguínea (62).

Particularmente no segundo e terceiro trimestre, a anemia, tem sido relacionada a um aumento do risco de restrição do crescimento fetal (RCF) e parto pré-termo, podendo ser explicado por uma resposta a um estado de hipoxia. As evidências atuais insinuam também alguma relação entre os valores de Hb na gestação e o índice de Apgar ao nascimento, com valores compatíveis com anemia a estarem associados a índices de Apgar mais baixos, com aumento do risco de asfixia durante e após o parto e deficiências a longo prazo (35).

É importante salientar que a deficiência de ferro, provoca um comprometimento sistêmico com repercussões na imunidade e na resistência às infecções (60).

3.5 Deficiência em folatos / vitamina B12

Os folatos são vitaminas hidrossolúveis do complexo B que estão naturalmente presentes nos alimentos como formas reduzidas, principalmente como 5-metiltetrahidrofolato (5-metilTHF) ou cadeias de glutamato. É um micronutriente essencial para a duplicação celular, uma vez que participa na síntese de purinas e timidilato, bem como da conversão de homocisteína a metionina (61, 63). A forma sintética, ácido fólico, é totalmente oxidada e mais estável; é frequentemente usado em alimentos fortificados ou como suplementos. Os folatos são necessários para o crescimento fetal e desenvolvimento placentário, uma vez que intervêm na proliferação celular e em processos que são essenciais durante a gravidez. Por estas razões as necessidades maternas durante a gravidez (400 µg/dia) são mais elevadas que as necessidades dos adultos (240 µg por dia). A deficiência em folatos tem sido associada a partos prematuros (menos de 37 semanas de gestação), sendo um problema de saúde pública, afetando 5% a 20%. A deficiente ingestão de folatos pela grávida e a diminuição da biodisponibilidade dos folatos, tem sido associada à redução do seu transporte para o feto (22, 64, 65).

As vitaminas e minerais são componentes cruciais de uma dieta, sendo necessários em quantidades moderadas para sustentar quase todas as atividades metabólicas, como sinalização celular, motilidade, proliferação, diferenciação e morte celular, que governam o desenvolvimento do tecido, função e homeostase. No início da vida, essas chaves biológicas possuem funções que permitem que o feto cresça e evolua. As vitaminas e minerais contribuem para uma gravidez saudável em cada estadio do contato materno,

placentário e fetal. Os defeitos do tubo neural são anomalias congênitas do cérebro e medula espinhal, causados por um defeito no tubo neural durante o desenvolvimento embrionário. Estas são as alterações mais conhecidas, associadas à nutrição pré-gravidez com baixos níveis de ácido fólico, que podem induzir efeitos adversos, como maior risco de mortalidade, morbidade, incapacidade e problemas psicológicos (62, 64).

O ácido fólico não é o único nutriente que, quando está em déficit, tem sido associado a um risco elevado de alterações do tubo neural. A insuficiência de Vitamina B12 tem sido também associada a consequências adversas em mães e bebês, incluindo defeitos de crescimento, abortos, pré-eclâmpsia e baixo peso ao nascimento. Dada a sua função crítica na mielinização neural, desenvolvimento e crescimento do cérebro, os níveis adequados de vitamina B12 pré-concepcional, bem como durante o período gestacional devem ser doseados. Os defeitos encontrados no tubo neural podem verificar-se com maior frequência em bebês cujas mães possuíam deficiência de vitamina B12 (22).

Embora o ácido fólico seja importante durante toda a vida de um indivíduo, é especialmente importante durante a fase de embriogénese. A gestação é um período em que as necessidades de ácido fólico estão aumentadas, para assegurar a exigência de duplicação celular imediata e desenvolvimento dos tecidos da mãe, do feto e da placenta. Sustentar valores de ácido fólico suficientes ao longo do período gestacional é essencial para o bem-estar da mãe, e para o embrião em desenvolvimento. A deficiência de ácido fólico na gravidez tem sido associada a resultados adversos, incluindo alterações do tubo neural, atrasos no desenvolvimento fetal, parto prematuro, baixo peso ao nascimento e deficiência de ácido fólico no recém-nascido (66).

Os níveis significativamente reduzidos de ácido fólico e de vitamina B12 aumentam a probabilidade de ocorrerem consequências para o bebé. Assim, recomenda-se um consumo regular de alimentos ricos em ácido fólico e vitamina B12, durante toda a gravidez, bem como uma suplementação regular, para que se mantenham níveis adequados de ácido fólico e vitamina B12 (67, 68).

Devido ao papel fundamental destas vitaminas (folatos e vitamina B12) no metabolismo, a deficiência, excesso ou desequilíbrio no seu fornecimento durante a gravidez pode criar um ambiente intrauterino adverso e, conseqüentemente, induzir a programação fetal por meio de mecanismos epigenéticos. Alguns estudos (65, 66, 67, 68) observaram um menor crescimento fetal associado a valores elevados de folato/vitamina B12. No entanto, mais estudos são necessários para confirmar estes dados.

A transferência destes nutrientes da mãe para o feto ocorre apenas através da placenta. Estes nutrientes são também importantes como co-fatores de um metabolismo de carbono,

essencial para o crescimento celular e metabolismo. A exposição à metformina e deficiência de folato e vitamina B12, durante a gravidez, levam a alterações no crescimento placentário e saúde fetal (67).

3.5.1 Metabolismo do Folato e Vitamina B12

O folato é absorvido na forma de 5-metil-tetrahidrofolato (THF). A metionina sintetase depende de vitamina B12 e converte o 5-metil-THF em THF. O mesmo processo gera metionina a partir da homocisteína, e esta metionina converte-se em S-adenosilmetionina (SAM; também necessária para a metilação do ADN). O THF produzido é convertido em 5,10-metileno-THF. Um grupo metilo é doado do metileno-THF ao carbono 5 do uridilato para formar o timidilato. Como consequência da cedência do grupo metilo, o metileno-THF torna-se dihidrofolato. O dihidrofolato é reduzido pela reductase para regenerar o tetraidrofolato (Figura 10) (68).

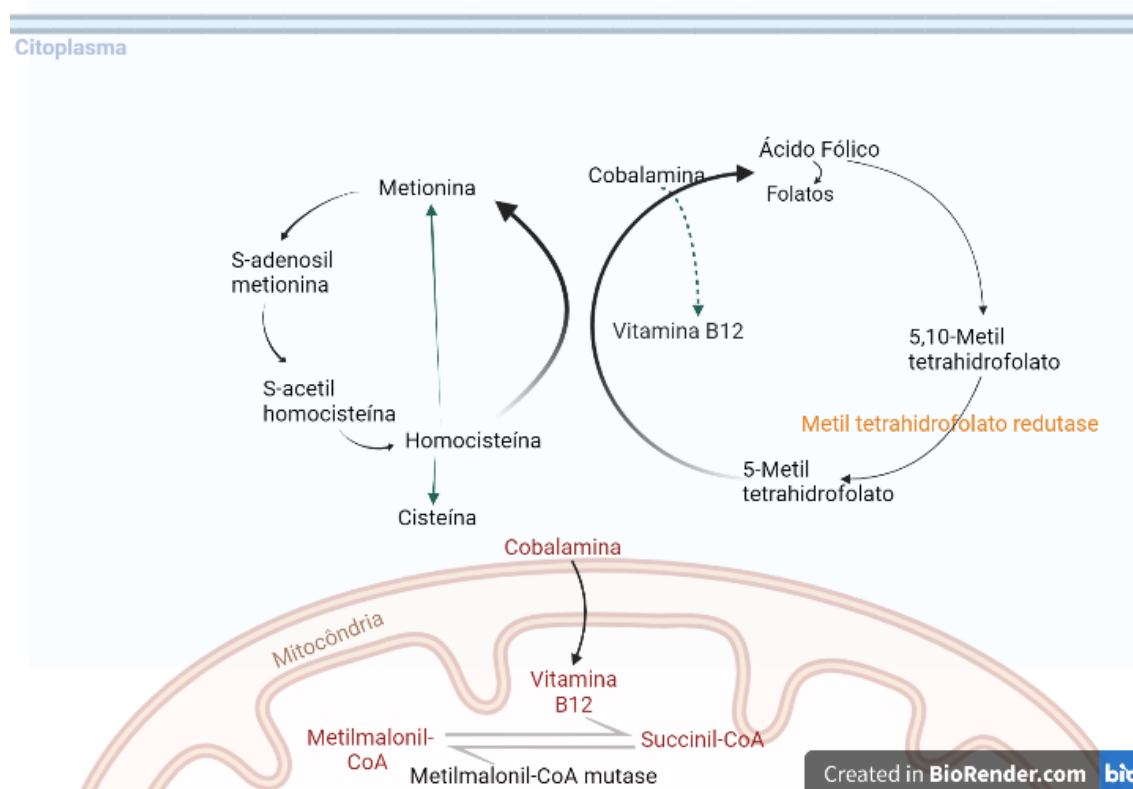


Figura 10 - Metabolismo do ácido fólico e vitamina B12. (Adaptado Andr  s E.) (68).

3.6 Outras causas de anemia

Em pacientes que possuem anemia microcítica (com redução do VGM) e estudos normais de ferro, pode-se considerar-se a possibilidade de tratar-se de uma talassemia. A talassemia é habitualmente hereditária e associada a história familiar; é mais prevalente em pacientes provenientes de países da bacia do Mediterrâneo, Índia, sudeste asiático ou China. As talassemias têm um fenótipo altamente variável, desde pacientes assintomáticos até dependentes de transfusão. O Índice de Mehtzer (VGM:GV/I) pode ser usado como uma ferramenta para diferenciar entre deficiência de ferro e talassemia (< 13 é sugestivo de talassemia e > 14 é sugestivo de deficiência de ferro). Para diagnosticar com precisão a talassemia, é necessário o estudo do esfregaço de sangue periférico, estudo do perfil da hemoglobina (eletroforese ou HPCL) e, em caso de elevada probabilidade de talassemia, a análise de DNA (44, 70).

As talassemias constituem um grupo heterogêneo de anemias hereditárias caracterizadas por defeitos na síntese de uma ou mais unidades de globina da molécula de hemoglobina. As características deste grupo de distúrbios incluem desequilíbrio na proporção da cadeia α/β , eritropoiese ineficaz, anemia hemolítica crônica e sobrecarga de ferro. Os distúrbios talassêmicos foram historicamente agrupados na região do Mediterrâneo e no Médio Oriente, África e leste e sudeste da Ásia. Os padrões migratórios modernos alteraram a epidemiologia da talassemia para incluir o Norte da Europa e Europa Ocidental, América do Norte e Austrália. O espectro da talassemia é clinicamente dividido em duas categorias principais com base nas necessidades de transfusão de sangue: pacientes com talassemia dependente de transfusão (apresentação na primeira infância, com anemia grave que requer terapia de transfusão regular ao longo da vida para sobrevivência) e pacientes com talassemia não dependente de transfusão (apresentação mais tarde, na infância ou na idade adulta, com sintomas leves ou anemia moderada, requerendo apenas ocasionais transfusões em certos ambientes clínicos). A infecção é uma das principais causas de mortalidade em pacientes com talassemia. Os fatores associados ao aumento do risco de complicações infecciosas incluem a esplenectomia, politransfusões com sobrecarga de ferro (70).

A anemia falciforme é outro tipo de anemia que pode estar presente na gravidez e que pode associar alguns efeitos negativos para a mãe e para o feto. A associação entre anemia falciforme e tromboembolismo venoso (TEV) já foi relatada em estudos prévios. Um conjunto convincente de dados demonstrou também uma associação entre anemia

falciforme e doença renal, que se acredita ser resultado da diminuição da tensão de oxigénio e acidose na medula renal, com episódios de vaso-oclusão por falciformação de GVs. Estas complicações renais podem ser associadas com hematúria, diminuição da concentração urinária, hiperfiltração, albuminúria e doença renal terminal (71).

O traço falciforme é o estado de portador da doença falciforme que resulta de uma mutação na cadeia β -globina da hemoglobina. Embora não associado a qualquer impacto na expectativa de vida, foi estabelecido que o traço falciforme esteja associado a um risco aumentado de tromboembolismo venoso (e em particular, a embolia pulmonar) e doença renal crónica. Desconhece-se em grande parte que efeito a curto ou longo prazo, se houver, a gravidez tem sobre o risco ou resultados desses distúrbios. Além disso, a anemia falciforme tem sido associada a uma variedade de efeitos adversos na gravidez, que vão desde complicações maternas, como risco elevado de bacteriúria a situações potencialmente fatais, como pré-eclâmpsia e prematuridade (71).

Devido ao diagnóstico precoce e à melhoria dos cuidados pediátricos, mais mulheres com anemia falciforme estão a atingir a idade reprodutiva, direcionando a atenção para a melhoria dos cuidados de saúde reprodutiva e resultados para as gestantes. A conscientização da necessidade de procurar atendimento médico, para cuidados de uma equipa multidisciplinar no início da gravidez e a necessidade de aconselhamento reprodutivo é necessário nestas pacientes. Um painel de especialistas nestas anemias recomenda que se deve incluir educação sobre gravidez, resultados e riscos genéticos, no acompanhamento destas mulheres. Tal como na população em geral, as gravidezes não planeadas em adolescentes e adultos jovens não são incomuns nestas pacientes, pelo que os prestadores de cuidados pediátricos, bem como os prestadores de cuidados de adultos, devem ter conhecimento sobre questões relacionadas com a gravidez e com esta doença para melhor preparar as suas pacientes para a gravidez e, possivelmente, melhorar os resultados da gravidez (72).

A gravidez em mulheres com anemia falciforme está associada ao aumento da morbilidade e mortalidade materna e fetal. Os resultados variam amplamente devido às limitações metodológicas dos estudos clínicos, mas, em geral, os distúrbios hipertensivos da gravidez, tromboembolismo, baixo crescimento fetal e mortalidade materna e perinatal estão aumentados globalmente. Poucas intervenções terapêuticas foram exploradas além da terapia transfusional profilática e seletiva (61).

Como se referiu, o controlo das gestantes é melhor realizado com uma abordagem multidisciplinar, numa equipa que inclua um especialista em anemia falciforme e um obstetra familiarizado com gestações de alto risco. As mulheres com anemia falciforme

devem possuir planos de cuidados individualizados que descrevem o controlo da dor aguda e diretrizes para terapia transfusional. Os recém-nascidos requerem uma monitorização cuidadosa, pois poderão possuir síndrome de abstinência neonatal e doença hemolítica do recém-nascido. Idealmente, todas as mulheres jovens com anemia devem ter acompanhamento pré-concepcional e participar em programas de promoção da saúde. As pesquisas que levam a uma melhor gestão da gravidez, focada na diminuição de resultados maternos e neonatais adversos, está ainda aquém das expectativas. As colaborações internacionais devem ser consideradas para melhorar o recrutamento de participantes e promover a conclusão oportuna de ensaios clínicos. Devem ser exploradas intervenções terapêuticas adicionais fora da terapia de transfusão (72).

3.7 Complicações da anemia

A suplementação precoce de ferro e a manutenção da concentração normal de Hb (10-12 g/dl) ao longo da gestação associam-se a menos partos prematuros e menos bebés de baixo peso ao nascimento. A revisão de estudos epidemiológicos mostra que as mulheres de países em desenvolvimento, quando engravidam, apresentam valores mais baixos de reservas de ferro e de concentrações de Hb, em comparação com mulheres que vivem em países desenvolvidos. Consequentemente, o risco de eventos adversos nestes países é superior (35).

A deficiência latente de ferro e a anemia por deficiência de ferro não tratadas, especialmente no terceiro trimestre de gravidez, pode levar a alterações no pós-parto, como redução da capacidade física, instabilidade emocional e stress (73).

Embora um dos principais alvos da OMS seja a prevenção e o tratamento da anemia na gravidez, este ainda é um problema subavaliado em países em desenvolvimento, como já referido anteriormente, com efeitos adversos diferentes (dependendo da gravidade), duração da anemia e fase da gestação. Neste âmbito, há vários estudos, embora controversos, sobre a associação de anemia leve com efeitos adversos materno-fetais; segundo alguns, uma anemia crónica leve pode não ter implicações, decorrendo a gravidez normalmente, com parto sem quaisquer eventos adversos; no entanto, há evidências crescentes de que a anemia por deficiência em ferro, folatos e vitamina B12 pode interferir em diferentes processos fisiológicos, incluindo o processo de mielinização (7, 14, 15, 20, 73, 74, 75, 76, 77).

Todos os casos de anemia ligeira, moderada ou grave devem ser tratados durante a gravidez, de forma a evitar o seu agravamento, prevenindo complicações na mãe e no filho (35).

3.8 Complicações no feto

Modelos pré-clínicos de deficiência de ferro fetal confirmam que os processos dependentes de ferro, como neurotransmissão de monoaminas, crescimento neuronal e diferenciação, mielinização e expressão genética ficam comprometidos no processo de gestação e a longo prazo na idade adulta, pelas situações de anemia (77).

Quando existe uma deficiência de ferro materno, o ferro é priorizado para o feto. No entanto, no caso de a deficiência ser moderada ou grave, toda a unidade materno-placentária-fetal pode sofrer consequências significativas a curto e a longo prazo para o feto. Estas consequências podem também ocorrer quando as mães, apesar de terem um status de ferro normal, apresentam condições gestacionais que comprometem a transferência de ferro para o feto, tais como hipertensão, tabagismo, diabetes *mellitus* e gemelaridade. Nestas situações de deficiência materna em ferro, seja devido à deficiência de ferro da mãe ou devido a condições gestacionais que comprometam a transferência de ferro, são vários os riscos para o feto. O risco imediato é o de ocorrerem alterações no desenvolvimento do cérebro do feto; uma baixa ingestão materna de ferro no terceiro trimestre pode resultar numa estrutura cerebral neonatal alterada, com alterações na massa cinzenta, que permite a formação de uma arquitetura dendrítica menos complexa. A deficiência em ferro pode também comprometer a memória de reconhecimento, no feto, que é mediada em grande parte pelo hipocampo, que é altamente metabólico e possui uma estrutura em rápido desenvolvimento durante o período fetal tardio e neonatal precoce, tornando-o mais vulnerável à falta de um substrato crítico que suporte o metabolismo energético. Outro risco é o de alterações no desenvolvimento do cérebro a longo prazo; a deficiência de ferro fetal/neonatal está associada à disfunção neurocognitiva a longo prazo, onde um baixo nível de ferro neonatal reduz a memória de reconhecimento e desempenho aos 3,5 a 4 anos de idade, mesmo que os bebés já não tenham deficiência de ferro. Um outro risco é o de a deficiência de ferro pós-natal na primeira infância induzir sequelas do neuro desenvolvimento, que podem permanecer (47, 59, 77).

A anemia na gestação tem sido associada a complicações tanto na mãe como no feto. Podem ocorrer alterações no desenvolvimento fetal, no crescimento intra-uterino, partos prematuros. De facto, o baixo peso ao nascimento e o parto prematuro têm sido largamente

associados à anemia na gravidez. Existem muitos estudos que demonstram a associação de partos prematuros em mães gravemente anêmicas. Além disso, uma questão importante é o aumento do risco de restrições de crescimento, a deficiência mental e o desenvolvimento motor em prematuros. O parto prematuro é também considerado uma das principais causas de morte em recém-nascidos (figura 11). (59, 72, 77).

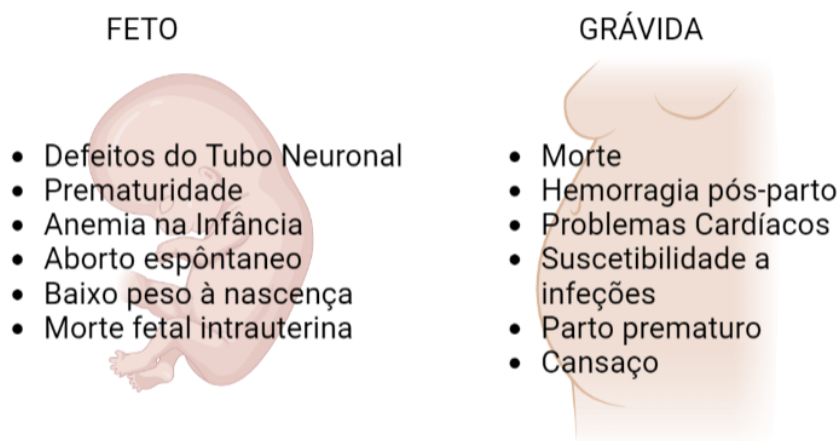


Figura 11 - Ilustração dos efeitos da anemia para feto e mãe.

3.9 Tratamento da Anemia na Gravidez

3.9.1 Ferro

Para manter as reservas de ferro maternas em níveis normais e amplificar as reservas neonatais é fundamental o tratamento da anemia por déficit de ferro. A dieta diária inclui cerca de 15 mg de ferro elementar por dia, e devido ao aumento das necessidades fisiológicas durante a gestação é recomendada uma ingestão de 30-60 mg por dia no segundo e terceiro trimestre, através do aumento do consumo de alimentos ricos em ferro, bem como a utilização de suplementos. No entanto, a suplementação de ferro pode causar efeitos secundários, como dor gástrica e/ou obstipação e as grávidas devem ser alertadas e informadas das soluções (7, 16, 63).

A terapêutica por via oral é usualmente a primeira linha de intervenção. Segundo a norma 030/2013 da DGS, a terapêutica com ferro oral deve ser iniciada perante níveis de ferritina

inferiores a 70 ng/ml, devendo ser avaliada a prescrição de ferro endovenoso na mulher, caso não responda ao tratamento, ou seja, intolerante (33).

Segundo a SPOMMF (22), a grávida com anemia por deficiência em ferro, deve ingerir 150 a 200mg de ferro elementar, por via oral, 1 a 3 vezes por dia. Para validação do tratamento deverá existir aumento dos reticulócitos em 5 a 10 dias e aumento da Hb em 1-2g/dL após 2-4 semanas. A suplementação deve continuar após 3 meses da normalização da Hb e no mínimo 6 semanas após o parto (22, 60, 73).

3.9.2 Ácido fólico e Vitamina B12

A suplementação antes e até à 12^a semana de gestação com 400 µg/dia de ácido fólico é uma medida adotada para a prevenção dos defeitos do tubo neural, sendo esta dose também suficiente para prevenir a deficiência materna. (22, 33).

Quando existe deficiência de ácido fólico, deve-se ingerir 5 mg/dia, por via oral, durante 4 meses. Pode ser utilizada a administração parentérica, na mesma dose nas situações de má absorção (22).

No que respeita à deficiência de vitamina B12, deve-se ingerir 1000 µg/dia, por via oral, ou 1000 µg/semana, via intramuscular, durante 8 semanas, seguida de 1000 µg/mês (22, 69).

CONCLUSÃO

É emergente realizar um acompanhamento e planeamento a todas as grávidas, por forma a minimizar problemas na gestação, quer na mãe quer no feto.

Pesquisas futuras são necessárias para confirmar ainda de que forma algumas destas complicações, provocadas pela anemia na gravidez, trazem efeitos adversos para a mãe e para o filho nos anos seguintes e de que forma se deve atuar de imediato, para reduzir esses mesmos efeitos.

Através da realização desta revisão da literatura, foi possível cumprir os objetivos inicialmente propostos. Como limitação, podemos referir a existências de poucos estudos sobre o tema, nomeadamente em Portugal, pelo que são necessários mais estudos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yip R, Ramakrishnan U. Experiences and challenges in developing countries. *J Nutr*. 2002 Apr;132(4 Suppl):827S-30S.
2. Ramakrishnan U, Yip R. Experiences and challenges in industrialized countries: control of iron deficiency in industrialized countries. *J Nutr* 2002 Apr;132(4 Suppl):820S-4S.
3. Marques F, Fonseca C, Robalo Nunes A, Belo A, Brilhante D, Cortez J. Contextualizando a Elevada Prevalência de Anemia na População Portuguesa: Percepção, Caracterização e Preditores: Um Sub-Estudo do EMPIRE. 2016.
4. Roy NBA, Pavord S. The management of anaemia and haematinic deficiencies in pregnancy and post-partum. *Transfus Med*. 2018 Apr;28(2):107-116.
5. Válka J, Čermák J. Differential diagnosis of anemia. *Vnitr Lek*. 2018 Summer;64(5):468-475. English.
6. Owais A, Merritt C, Lee C, Bhutta ZA. Anemia among Women of Reproductive Age: An Overview of Global Burden, Trends, Determinants, and Drivers of Progress in Low- and Middle-Income Countries. *Nutrients*. 2021 Aug 10;13(8):2745.
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION - the Global Prevalence of Anaemia in 2011. WHO Report. (2015) 1–48.
8. Benoist B ME, Ines Egli, Mary Cogswell. Worldwide Prevalence of anaemia 1993-2005; 2008: Disponível em : http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657_eng.pdf.
9. Elmugabil A, Rayis DA, Abdelmageed RE, Adam I, Gasim GI. High level of hemoglobin, white blood cells and obesity among Sudanese women in early pregnancy: a cross-sectional study. *Future Sci OA*. 2017 Apr 4;3(2):FSO182.
10. Kazma JM, van den Anker J, Allegaert K, Dallmann A, Ahmadzia HK. Anatomical and physiological alterations of pregnancy. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2020;47(4):271–85.
11. de Sá SA, Willner E, Duraes Pereira TA, de Souza VR, Teles Boaventura G, Blondet de Azeredo V. Anemia in pregnancy: Impact on weight and in the development of anemia in newborn. *Nutr Hosp*. 2015;32(5):2071–9.
12. Breymann C. Iron Deficiency Anemia in Pregnancy. *Semin Hematol*. 2015 Oct;52(4):339-47.
13. Breymann C, Honegger C, Hösli I, Surbek D. Diagnosis and treatment of iron-deficiency anaemia in pregnancy and postpartum. *Arch Gynecol Obstet*. 2017

- Dec;296(6):1229-1234. doi: 10.1007/s00404-017-4526-2. Epub 2017 Sep 22. PMID: 28940095.
14. Chaparro CM, Suchdev PS. Anemia epidemiology, pathophysiology, and etiology in low- and middle-income countries. *Ann N Y Acad Sci.* 2019;(nyas.14092).
 15. WORLD HEALTH ORGANIZATION - Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005, WHO Global Database on Anaemia. World Health Organization. (2008).
 16. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Naghavi M, Wulf SK, Johns N, Lozano R, Regan M, Weatherall D, Chou DP, Eisele TP, Flaxman SR, Pullan RL, Brooker SJ, Murray CJ. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood.* 2014 Jan 30;123(5):615-24.
 17. Kassebaum NJ; GBD 2013 Anemia Collaborators. The Global Burden of Anemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2016 Apr;30(2):247-308.
 18. Milman N. Anemia--still a major health problem in many parts of the world! *Ann Hematol.* 2011 Apr;90(4):369-77.
 19. Saydam BK, Genc RE, Sarac F, Turfan EC. Prevalence of anemia and related factors among women in Turkey. *Pak J Med Sci.* 2017 Mar-Apr;33(2):433-438.
 20. Anemia Working Group Portugal — Associação Portuguesa para o Estudo da Anemia (2022). Disponível em: <https://awgp.pt/anemia-na-gravidez/>. Consultado a 21/07/2022.
 21. Newhall DA, Oliver R, Lugthart S. Anaemia: A disease or symptom. *Neth J Med.* 2020 Apr;78(3):104-110.
 22. <https://www.spommf.pt/wp-content/uploads/2019/07/Norma-Anemia-na-Gravidez-e-no-Puerpe%CC%81rio.pdf> Consultado em 27 de Setembro de 2022.
 23. Lanier, J. B., Park, J. J., & Callahan, R. C. (2018). Anemia in older adults. *American Family Physician*, 98(7), 437–442.
 24. Cappellini, M. D., Musallam, K. M., & Taher, A. T. (2020). Iron deficiency anaemia revisited. *Journal of Internal Medicine*, 287(2), 153–170.
 25. Finkelstein JL, Layden AJ, Stover PJ. Vitamin B-12 and perinatal health. *Adv Nutr.* 2015;6(5):552–63.
 26. Kuhn V, Diederich L, Keller TCS 4th, Kramer CM, Lückstädt W, Panknin C, Suvorava T, Isakson BE, Kelm M, Cortese-Krott MM. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Antioxid Redox Signal.* 2017 May 1;26(13):718-742.
 27. Tefferi A. Anemia in adults: a contemporary approach to diagnosis. *Mayo Clin Proc.* 2003 Oct;78(10):1274-80.

28. Tefferi A, Hanson CA, Inwards DJ. How to interpret and pursue an abnormal complete blood cell count in adults. *Mayo Clin Proc.* 2005 Jul;80(7):923-36.
29. Sacher RA, McPherson RA. *Widmann's Clinical Interpretation of Laboratory Tests.* 11 ed. Washington: Manole; 2002.
30. Tandon R, Jain A, Malhotra P. Management of Iron Deficiency Anemia in Pregnancy in India. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2018 Apr;34(2):204-215.
31. U S Department of Health Human Services, National Institutes of Health, National Heart Lung Institute, And. Your guide to anemia. North Charleston, SC, USA: Createspace Independent Publishing Platform; 2012. Disponível em: https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/public/blood/anemia-inbrief_yg.pdf. Consultado a 19 de Julho de 2022
32. Hoffbrand A.V. MPAH, Tettit J.E. *Fundamentos em Hematologia.* 5ª ed. Artmed, editor. São Paulo 2006.
33. <http://nocs.pt/wp-content/uploads/2016/04/i021152.pdf> Consultado a 19 de Julho de 2022.
34. Clode N. *Patologia Hematológica na Gravidez. Medicina Materno-Fetal* 5ª Edição ed: LIDEL; 2017. p. 477-80.
35. Di Renzo GC, Spano F, Giardina I, Brillo E, Clerici G, Roura LC. Iron deficiency anemia in pregnancy. *Womens Health (Lond).* 2015 Nov;11(6):891-900.
36. Soma-Pillay P, Nelson-Piercy C, Tolppanen H, Mebazaa A. Physiological changes in pregnancy. *Cardiovasc J Afr.* 2016 Mar-Apr;27(2):89-94.
37. Surbek D, Vial Y, Girard T, Breymann C, Bencaiova GA, Baud D, Hornung R, Taleghani BM, Hösli I. Patient blood management (PBM) in pregnancy and childbirth: literature review and expert opinion. *Arch Gynecol Obstet.* 2020 Feb;301(2):627-641.
38. Bernstein IM, Ziegler W, Badger GJ. Plasma volume expansion in early pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2001 May;97(5 Pt 1):669-72.
39. Shimaoka Y, Hidaka Y, Tada H, Nakamura T, Mitsuda N, Morimoto Y, Murata Y, Amino N. Changes in cytokine production during and after normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2000 Sep;44(3):143-7.
40. Katz D, Beilin Y. Disorders of coagulation in pregnancy. *Br J Anaesth.* 2015 Dec;115 Suppl 2:ii75-88.
41. Schümann K, Solomons NW. Perspective: What Makes It So Difficult to Mitigate Worldwide Anemia Prevalence? *Adv Nutr.* 2017 May 15;8(3):401-408.

42. Souza, Ariani I., B. Filho, Malaquias e Ferreira, Luiz O. C. Alterações hematológicas e gravidez. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* [online]. 2002, v. 24, n. 1 pp. 29-36.
43. Chiarello DI, Abad C, Rojas D, Toledo F, Vázquez CM, Mate A, Sobrevia L, Marín R. Oxidative stress: Normal pregnancy versus preeclampsia. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020 Feb 1;1866(2):165354.
44. Cañarte-Alcivar JA, Lucas-Parrales EN, Guerrero-Madroñero MY, Moreira-Vinces RY. Anemia en el adulto mayor. *P del C*. 2018;3(7):162.
45. Nascimento IB do, Sales WB, Fleig R, Silva GD da, Silva JC. Excess weight and dyslipidemia and their complications during pregnancy: a systematic review. *Rev Bras Saúde Materno Infant*. 2016;16(2):93–101.
46. Mankuta D, Elami-Suzin M, Elhayani A, Vinker S. Lipid profile in consecutive pregnancies. *Lipids Health Dis (Internet)*. 2010;9(1):58.)
47. Organização Mundial da Saúde. Prevalência de anemia em gestantes. Genebra, Suíça: Organização Mundial da Saúde; 2020. Acedido em 27/09/2022. [https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/prevalence-of-anaemia-in-pregnant-women-\(-\)](https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/prevalence-of-anaemia-in-pregnant-women-(-)) Consultado em 27 de setembro de 2022.
48. Sharma S, Kaur SP, Lata G. Anemia in Pregnancy is Still a Public Health Problem: A Single Center Study with Review of Literature. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2020 Jan;36(1):129-134.
49. Global nutrition monitoring framework: operational guidance for tracking progress in meeting targets for 2025. Consultado em 27 de setembro de 2022. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241513609>
50. Means RT. Iron Deficiency and Iron Deficiency Anemia: Implications and Impact in Pregnancy, Fetal Development, and Early Childhood Parameters. *Nutrients*. 2020 Feb 11;12(2):447.
51. Auerbach M, Abernathy J, Juul S, Short V, Derman R. Prevalence of iron deficiency in first trimester, nonanemic pregnant women. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2021 Mar;34(6):1002-1005.
52. DeLoughery TG. Iron Deficiency Anemia. *Med Clin North Am*. 2017 Mar;101(2):319-332.
53. Roberts H, Bourque SL, Renaud SJ. Maternal iron homeostasis: effect on placental development and function. *Reproduction*. 2020 Oct;160(4):R65-R78.

54. Sangkhae V, Fisher AL, Wong S, Koenig MD, Tussing-Humphreys L, Chu A, Lelić M, Ganz T, Nemeth E. Effects of maternal iron status on placental and fetal iron homeostasis. *J Clin Invest*. 2020 Feb 3;130(2):625-640.
55. Janbek J, Sarki M, Specht IO, Heitmann BL. A systematic literature review of the relation between iron status/anemia in pregnancy and offspring neurodevelopment. *Eur J Clin Nutr*. 2019 Dec;73(12):1561-1578.
56. Jayasinghe C, Polson R, van Woerden HC, Wilson P. The effect of universal maternal antenatal iron supplementation on neurodevelopment in offspring: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pediatr*. 2018 May 4;18(1):150.
57. Ugwu NI, Uneke CJ. Iron deficiency anemia in pregnancy in Nigeria-A systematic review. *Niger J Clin Pract*. 2020 Jul;23(7):889-896.
58. António MACEDO et al, Suplementação de rotina com ferro na gravidez, *Acta Med Port*. 2010; 23(5):785-792
59. Casanova R, Chuang A, Goepfert A, Hueppchen N, Weiss P, Beckmann C, et al. Beckmann and Ling's *Obstetrics and Gynecology*. 8th ed. Wolters Kluwer business.2018. 201-203 p.
60. Iron Deficiency Anaemia: assessment, prevention, and control. A guide programme managers. 2001. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/iron-children-6to23--archived-iron-deficiency-anaemia-assessment-prevention-and-control> Consultado a 19/07/2022.
61. Obeid R, Holzgreve W, Pietrzik K. Is 5-methyltetrahydrofolate an alternative to folic acid for the prevention of neural tube defects? *J Perinat Med*. 2013 Sep 1;41(5):469-83.
62. Townsley DM. Hematologic complications of pregnancy. *Semin Hematol*. 2013 Jul;50(3):222-31.
63. Visentin M, Diop-Bove N, Zhao R, Goldman ID. The intestinal absorption of folates. *Annu Rev Physiol*. 2014;76:251-74.
64. Castaño E, Caviedes L, Hirsch S, Llanos M, Iñiguez G, Ronco AM. Folate Transporters in Placentas from Preterm Newborns and Their Relation to Cord Blood Folate and Vitamin B12 Levels. *PLoS One*. 2017 Jan 19;12(1):e0170389.
65. Kucha W, Seifu D, Tirsit A, Yigeremu M, Abebe M, Hailu D, Tsehay D, Genet S. Folate, Vitamin B12, and Homocysteine Levels in Women With Neural Tube Defect-Affected Pregnancy in Addis Ababa, Ethiopia. *Front Nutr*. 2022 Apr 8;9:873900.
66. Owen MD, Baker BC, Scott EM, Forbes K. Interaction between Metformin, Folate and Vitamin B12 and the Potential Impact on Fetal Growth and Long-Term Metabolic Health in Diabetic Pregnancies. *Int J Mol Sci*. 2021 May 28;22(11):5759.

67. Andrès E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE, Noblet-Dick M, Maloisel F, Schlienger JL, Blicklé JF. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ*. 2004 Aug 3;171(3):251-9
68. Langan RC, Goodbred AJ. Vitamin B12 Deficiency: Recognition and Management. *Am Fam Physician*. 2017 Sep 15;96(6):384-389.
69. Saliba AN, Atoui A, Labban M, Hamade H, Bou-Fakhredin R, Mufarrij A, Taher AT. Thalassemia in the emergency department: special considerations for a rare disease. *Ann Hematol*. 2020 Sep;99(9):1967-1977.
70. Wilson S, Ellsworth P, Key NS. Pregnancy in sickle cell trait: what we do and don't know. *Br J Haematol*. 2020 Aug;190(3):328-335.
71. Smith-Whitley K. Complications in pregnant women with sickle cell disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2019 Dec 6;2019(1):359-366.
72. Montenegro CAB, Dos Santos FC, De Rezende-Filho J. Anemia e gravidez. *Rev Hosp Univ Pedro Ernesto*. 2015;14(2).
73. Casella EB, Valente M, de Navarro JM, Kok F. Vitamin B12 deficiency in infancy as a cause of developmental regression. *Brain Dev*. 2005 Dec;27(8):592-4.
74. Hasbaoui BE, Mebrouk N, Saghir S, Yajouri AE, Abilkassem R, Agadr A. Vitamin B12 deficiency: case report and review of literature. *Pan Afr Med J*. 2021 Mar 4;38:237.
75. Achebe MM, Gafter-Gvili A. How I treat anemia in pregnancy: iron, cobalamin, and folate. *Blood*. 2017 Feb 23;129(8):940-949.
76. Santander Ballestín S, Giménez Campos MI, Ballestín Ballestín J, Luesma Bartolomé MJ. Is Supplementation with Micronutrients Still Necessary during Pregnancy? A Review. *Nutrients*. 2021 Sep 8;13(9):3134.
77. Georgieff MK. Iron deficiency in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2020 Oct;223(4):516-524.



RELATÓRIO DE ESTÁGIO PROFISSIONAL

Discente:

Rute Carneiro Ribeiro

MAC – Mestrado em Análises Clínicas

Coordenação:

Dra Sónia Magalhães – Especialista em Análises Clínicas

Outubro 2022

Relatório elaborado no âmbito da unidade curricular de Estágio do Mestrado em Análises Clínicas, realizada sob a orientação de Sónia Marta Santos Magalhães, Diretora Técnica do Laboratório do Hospital Agostinho Ribeiro e da Professora Doutora Eugénia Pinto, Diretora do Curso de Mestrado em Análises Clínicas Da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

AGRADECIMENTOS

Para além dos agradecimentos iniciais da Monografia não poderia deixar de agradecer a Dra Sónia Magalhães por todos os ensinamentos, paciência e ajuda no decorrer do estágio.

Também quero deixar o meu agradecimento as profissionais que trabalham no Hospital Agostinho Ribeiro (HAR), nomeadamente à Dra Odete e a Administrativa Alzira pelo carinho e disponibilidade.

Muito obrigada!

RESUMO

Os testes complementares de diagnóstico e nomeadamente as Análises Clínicas, são ferramentas essenciais que auxiliam o clínico no diagnóstico, prognóstico e na tomada de decisões terapêuticas adequadas.

Um laboratório de Análises Clínicas deve, com os meios à sua disposição, executar os testes laboratoriais sempre com base em elevados padrões de qualidade, de modo a reduzir ao mínimo a probabilidade de erros e fornecer resultados com a maior confiança possível. É fundamental o controlo rigoroso de cada uma das fases de processamento das amostras (pré-analítica, analítica e pós-analítica).

O laboratório é um sistema complexo que engloba várias atividades, vários profissionais, o que exige um sistema de qualidade rigoroso em todos os níveis do seu funcionamento.

Neste relatório irei descrever o funcionamento do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Agostinho Ribeiro (HAR) nas suas 4 principais valências, desde a recolha dos produtos biológicos, processamento de amostras e emissão do respetivo boletim analítico.

LISTA DE ABREVIATURAS

AEQ – Avaliação Externa de Qualidade
ALT – Aspartato Transaminase
APTT – Tempo de Trombolastina Parcial Ativado
AST – Alanina transaminase
BIL – Bilirrubina
CID – Coagulação Intravascular Disseminada
CQ – Controlo de Qualidade
CQI – Controlo de Qualidade Interno
ESBLs – beta-lactamases de espectro estendido
GB – Glóbulos Brancos/Leucócitos
GLU – Glicose
GV – Glóbulos Vermelhos
HAR – Hospital Agostinho Ribeiro
HbA1c – Hemoglobina Glicosilada
INR – Índice Internacional de Ratio
INSA – Instituto Ricardo Jorge
ITUs – Infecções do Trato Urinário
LCR – Líquido cefalo-raquidiano
LDH – Lactato Desidrogenase
NEQAS - UK National External Quality Assessment Scheme
OMS – Organização Mundial de Saúde
PNAEQ - Programa da Avaliação Externa da Qualidade
RIQAS – Randox Internacional Quality Assessment Scheme
rpm – 4000 rotações por minuto
TAO – Terapêutica Anticoagulantes Orais
TP – Tempo de Protrombina
UBC – Urobilinogenio
OMS – Organização Mundial de Saúde

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Lista de Abreviaturas	v
Caracterização do hospital	5
Introdução	7
Processamento Operativo	7
Controlo de Qualidade	9
Patologia Clínica	11
Hemostase	12
Tempo de Protrombina (TP).....	13
Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (APTT)	14
Hipocoagulados	14
Calibração	16
Controlo de Qualidade	16
Determinação do grupo sanguíneo (prova direta ou celular)	16
Microbiologia	18
Processamento dos produtos	19
Meios de Cultura	20
Urina	21
Hemoculturas	26
Pús de ferida	27
Expetoração	27
Exsudados Nasais, Faríngeos e Orofaríngeos	28
Exsudado Vaginal e Uretral.....	28

Pesquisa de Streptococcus beta hemolíticos do grupo B em Exsudado Vaginal e Retais	29
Fezes.....	29
Exame parasitológico de fezes	29
Estudo morfológico das bactérias	30
Coloração de Gram	30
Provas complementares de identificação	30
Prova da Catalase.....	30
Prova da Coagulase.....	31
Equipamento Vitek 2 Compact	31
Hematologia	32
Técnicas manuais	32
Esfregaço de sangue periférico	32
Velocidade de Sedimentação (VS)	35
Equipamento VES-MATIC CUBE 30	35
Impedância elétrica.....	36
Citometria de fluxo	36
Bioquímica e Imunologia	37
Bioquímica.....	37
Equipamentos.....	37
Aution Max™	37
Cobas Integra 800.....	39
Manutenção	39
Hemoglobina Glicosilada	41
Urina de 24 Horas (24H)	42
Provas específicas.....	42
Prova de Tolerância Oral à Glicose (PTOG).....	42

Pesquisa de sangue oculto nas fezes.....	43
Imunologia.....	43
Equipamento Cobas e 411.....	43
Provas Serológicas.....	44
VDRL/TPHA.....	44
Teste de gravidez.....	45
Teste de despiste de drogas de abuso.....	45
Calibração.....	45
Controlo de Qualidade.....	46
Considerações finais.....	47
Bibliografia.....	49
ANEXOS.....	51

Índice de Figuras

Figura 1 - Controlo RIQAS - Hemoglobina.....	10
Figura 2 - Cascata da Coagulação [Fonte – Zhao Y et al.(4)].....	13
Figura 3 - Card para determinação de ABO e Rh.....	18
Figura 4 - Colónias <i>Escherichia coli</i> no meio de UTI da Biogerm.....	23
Figura 5 - Isolados no decorrer do Estágio.....	25
Figura 6 - Placas de UTI para envio CERBA e Eppendorf para congelar.....	26
Figura 7 - Esfregaço Sanguíneo.....	34
Figura 8 - Esfregaço Sanguíneo.....	34
Figura 9 - Esfregaço Sanguíneo.....	35
Figura 10 - Cristais Fosfato Triplo.....	38
Figura 11 - Cristais de Ácido Úrico.....	38
Figura 12 - Cristais de Oxalato de Cálcio.....	39
Figura 13 - Manutenção solicitada pelo equipamento.....	40
Figura 14 - Ação corretiva solicitada.....	40

Figura 15 - Limpeza filtros.	41
Figura 16 - Controlo Qualidade do PC AHBS1	46

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Estado e descrição dos diferentes meios de cultura.....	20
Tabela 2 - Cartas de identificação e antibiogramas utilizados pelo Vitek 2 Compact	31
Tabela 3 - Classificação da morfologia dos GV.....	33
Tabela 4 - Classificação da morfologia dos Glóbulos Brancos.....	33
Tabela 5 - Classificação da morfologia das Plaquetas	33

CARACTERIZAÇÃO DO HOSPITAL

A Santa Casa da Misericórdia de Felgueiras já administrava um hospital, sito no edifício conhecido por “Hospital Velho”, quando em 1912 recebeu uma doação por parte daquele que viria a ser o maior benemérito da Misericórdia e talvez mesmo do concelho de Felgueiras, Agostinho Cândido de Sousa Ribeiro. Agostinho Ribeiro, homem que emigrou e fez fortuna no Brasil, e, uma vez regressado à sua terra Natal, soube fazer bom uso da sua fortuna ao reparti-la pelas casas de caridade.

Foi, por escritura de 13 de outubro de 1912, que a Misericórdia passou a administrar o Hospital Agostinho Ribeiro (HAR) até 1974, altura em que o mesmo foi nacionalizado, mantendo-se a Misericórdia apenas como proprietária.

A intenção de doar o hospital, construído com expensas próprias (30 contos de reis) e que podia recolher regularmente 40 doentes, 20 do sexo masculino e 20 do sexo feminino, foi comunicada à Mesa Administrativa, em sessão extraordinária ocorrida em 26 de abril de 1912, pelo próprio Agostinho Ribeiro.

O hospital tinha como finalidade: tratar gratuitamente os pobres, pela seguinte ordem: os irmãos, os do concelho, os de fora, socorrer os irmãos pobres no domicílio; venerar, no hospital, a padroeira; praticar, para com os irmãos falecidos, os atos de religião determinados nos estatutos e recolher e tratar no hospital quaisquer pessoas que não fossem pobres, de acordo com os regulamentos

A Câmara Municipal, para homenagear Agostinho Ribeiro, deliberou, por unanimidade, em reunião de 26 de setembro de 1912, escolher para feriado municipal o dia da inauguração do hospital, ou seja, o dia 12 de outubro. Este deverá ter vigorado até 1957, data da tomada de conhecimento do Decreto 41 152, de 12 de junho, que autoriza a considerar feriado concelhio o dia 29 de junho.

O HAR fica situado em Felgueiras que é uma cidade portuguesa no distrito do Porto com 115,74 km² de área e 55 855 habitantes, subdividido em 20 freguesias.

O laboratório do Hospital Agostinho Ribeiro, situa-se no piso 0 do edifício, conta com 2 salas de colheitas, uma sala de espera, uma receção e um espaço aberto onde decorre a atividade laboratorial.

Além do laboratório central, existem três extensões (Lixa, Fervença e Barrosas) de forma a servir o maior número de utentes, nomeadamente aqueles com maiores dificuldades de acesso a serviços centrais.

Trata-se de um laboratório certificado pela DGS (Direção Geral de Saúde).

INTRODUÇÃO

O presente estágio decorreu no âmbito do “Estágio de Práticas Profissionais”, cujo intuito fundamental é integrar uma equipa laboratorial de trabalho, permitindo assim consolidar os conhecimentos adquiridos ao longo do mestrado e adquirir novos conhecimentos através de toda a equipa Hospitalar, o que permite ter a perceção da realidade de um laboratório e como tal consciencializar a importância das Análises Clínicas como meio complementar de diagnóstico e de monitorização terapêutica.

Pretende-se com este relatório descrever a rotina laboratorial do Serviço de Patologia Clínica, o qual teve início a 3 de janeiro e findou a 3 de junho. O estágio foi orientado pela Dra Sónia Magalhães.

Assim sendo os principais objetivos do estágio visam: conhecer o funcionamento do Serviço de Patologia; aplicar todos os conhecimentos teóricos; adquirir agilidade na realização das tarefas e capacidade de resolver problemas aplicando os conhecimentos teóricos à prática laboratorial; compreender a importância do controlo de qualidade; proceder à colheita, armazenamento e separação das amostras de sangue para as diferentes determinações; bem como usar os equipamentos automatizados; validação das análises e interpretação de resultados. Reconhecer a importância da implementação de um sistema de gestão da qualidade no laboratório de análises clínicas.

PROCESSAMENTO OPERATIVO

O laboratório possui manuais, onde se encontra registado os procedimentos dos métodos laboratoriais. No decorrer de todo o processamento das amostras podem ocorrer erros, que devem ser evitados para não colocar em causa a fiabilidade dos resultados, ou a vida do doente.

A qualidade dos exames laboratoriais implica necessariamente a sua **padronização**, desde a solicitação médica até à entrega do boletim analítico. Para entender o sistema de realização de um exame laboratorial, devemos ter em atenção que o mesmo envolve uma série de processos, cada um com potenciais fontes de erros. Assim, a padronização no laboratório clínico tem a finalidade de prevenir, detetar, identificar e corrigir erros ou

variações que possam ocorrer em todas as fases de realização do teste, de forma a assegurar a qualidade dos resultados.

Todo o processo analítico é composto por diferentes e sucessivas etapas, denominadas por: fase pré-analítica, fase analítica e fase pós-analítica.

A fase **pré-analítica** engloba todos os passos prévios à análise das amostras, o que inclui a análise da prescrição médica com a identificação dos parâmetros a serem determinados, a preparação adequada do utente, passando pela colheita dos produtos biológicos apropriados com a sua correta identificação, transporte e triagem, até que ocorra o seu processamento analítico. Esta fase tem particular importância, uma vez que influencia todos os processos subsequentes.

Por exemplo, a incorreta identificação da amostra, leva a que o utente seja novamente chamado; quando existe uma demora na colheita ou quando o garrote permanece demasiado tempo no braço, poderá existir hemólise que afetará parâmetros como o Potássio, Bilirrubinas, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e lactato desidrogenase (LDH).

A **fase analítica** consiste no processamento da amostra, utilizando determinadas técnicas de acordo com certas metodologias, com vista à obtenção de um resultado, o qual sofrerá uma validação técnica por um processo pós-analítico.

A análise das amostras pode ser efetuada em equipamentos automatizados e/ou por técnicas manuais. Os equipamentos são preparados diariamente, no que respeita a reagentes, calibradores e controlos. A sua manutenção é realizada de acordo com a periodicidade estabelecida pela casa comercial e direção técnica do laboratório.

Com o aparecimento da automatização, os erros da fase analítica têm vindo a diminuir de forma radical. A automatização é vantajosa, não só em termos de aumento da precisão e da exatidão dos resultados, mas também na rapidez de entrega dos resultados analíticos.

A **fase pós-analítica** consiste na interpretação e validação técnica e biopatológica dos resultados gerados na fase anterior e emissão do boletim clínico por um patologista ou farmacêutico especialista.

O Laboratório é responsável pela entrega atempada dos resultados, devendo estabelecer um tempo médio para cada tipo de análise. Sempre que se deteta um erro, procede-se à

implementação de medidas corretivas e preventivas de modo a evitar a recorrência do erro.

Para permitir que haja um controlo diário do estado de realização dos exames pedidos, o responsável por cada área verifica as listas de trabalho ao longo do dia.

Para a fase pós-analítica, no laboratório do HAR, foram definidos uma série de procedimentos de forma a uniformizar todo o processo e diminuir a possibilidade de erro. Esses procedimentos são: “entrega de resultados” e “tratamento de reclamações”

Tal como para a fase pré-analítica e analítica são definidos anualmente vários indicadores da qualidade relativos a esta fase.

CONTROLO DE QUALIDADE

O Controlo de Qualidade (CQ) é definido como sendo o conjunto de técnicas e atividades operacionais usadas para cumprir os requisitos da qualidade.

Controlo de Qualidade Interno (C.Q.I) – Conjunto de ações que visam garantir a qualidade e a reprodutibilidade dos processos e resultados produzidos, através da monitorização contínua com o auxílio dos controlos diários aos parâmetros testados.

Avaliação Externa da Qualidade (A.E.Q) – Existem diversos programas de Avaliação Externa da Qualidade (Nacionais e Internacionais), os quais se apresentam como uma ferramenta crucial que beneficia os laboratórios através de uma avaliação imparcial.

No caso concreto do Hospital Agostinho Ribeiro o Laboratório encontra-se inscrito no Programa da Avaliação Externa da Qualidade (PNAEQ) do Instituto Ricardo Jorge (INSA), no UK National External Quality Assessment Scheme (NEQAS), e no Randox Internacional Quality Assessment Scheme (RIQAS) permitindo que todo o material enviado (controlo) fique sujeito às mesmas fontes de erro que as amostras, podendo avaliar as metodologias usadas e o nível técnico. Desta forma o laboratório é orientado continuamente, proporcionando uma maior confiança nos seus resultados. Na figura 1 podemos observar relatório do programa RIQAS relativo ao parâmetro Hemoglobina, cuja amostra foi previamente executada no equipamento e o resultado comunicado. Avaliamos, deste modo equipamento e tratamento da amostra.

Sem controlo de qualidade não podemos garantir a credibilidade dos resultados durante a rotina diária. Assim sendo, num laboratório de Patologia Clínica, o CQ e a AEQ são importantes para evitar resultados inválidos.

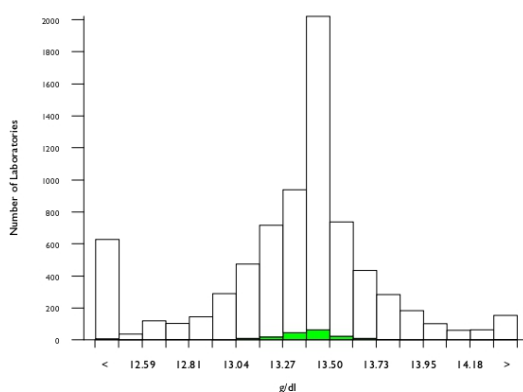
Haemoglobin, g/dl

	N	Mean	CV%	U _m	SDPA	Exc.
□ All Methods	6748	13.389	2.3	0.00	0.35	724
■ Sysmex XT series	167	13.394	1.1	0.01	0.35	17

▲ Your Result	13.400	SDI	0.02
		RMSDI	-0.10
■ Mean for Comparison	13.394	TS	120
		RMTS	117
		%DEV	0.0
		RM%DEV	-0.3

Acceptable limits derived from Biological Variation N/A

Acceptable limits of performance for RIQAS 4.30%



Method	N	Mean	CV%	U _m
Sysmex XN Series	1420	13.447	1.2	0.01
Sysmex XN-L Series (330/350/450/550)	516	13.285	1.1	0.01
Abbott Cell-Dyn Ruby	351	13.655	1.9	0.02
Beckman Coulter DxH 600/800/900 Series	334	13.140	1.2	0.01
Mindray BC 1000/2000/3000 series	293	13.374	3.0	0.03
Sysmex XP Series	280	13.209	1.9	0.02
Mindray BC-6000/6200/6600/6800/6800Plus	291	13.504	1.3	0.01
Sysmex XS series	270	13.372	1.2	0.01
Siemens/Bayer Advia 120/2120	279	13.505	1.7	0.02
Nilhon Kohden Celltac Alpha	240	13.557	2.7	0.03
Sysmex XT series	167	13.394	1.1	0.01
Mindray BC 5100/5180/5300/5380/5390	159	13.381	2.0	0.03
Manual Methods	148	11.943	2.9	0.04
Calculated from HCT	138	11.815	2.6	0.03
ABX Micros/Minos/ABC VET	124	13.269	2.6	0.04
Mindray BC 5000/5150/5140/5130/5120	127	13.376	1.4	0.02
Sysmex KX 21	118	13.225	1.8	0.03
Horiba ABX Pentra 60/80/XLR	97	13.393	1.4	0.02
Nilhon Kohden Celltac E/Es	81	13.594	1.9	0.04
Mindray BC 10/20/30	79	13.619	2.2	0.04
Boule Medonic/ Swelab 3-part diff	78	13.469	1.9	0.04

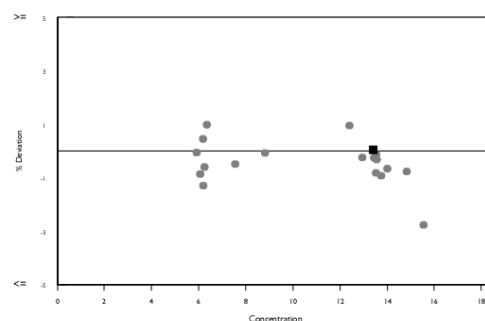
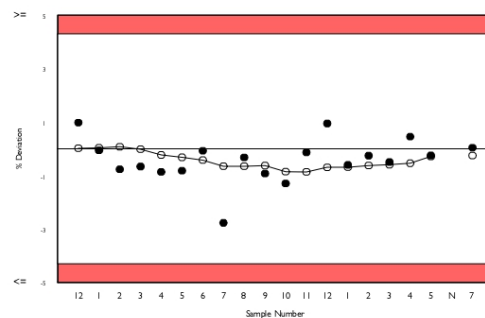
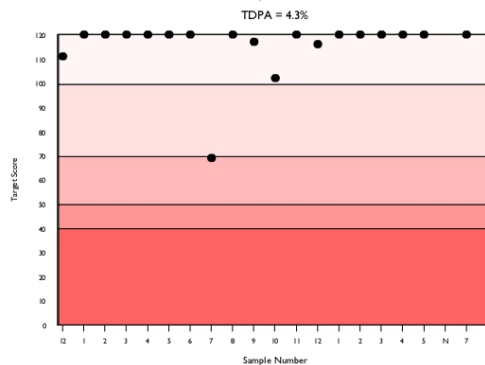
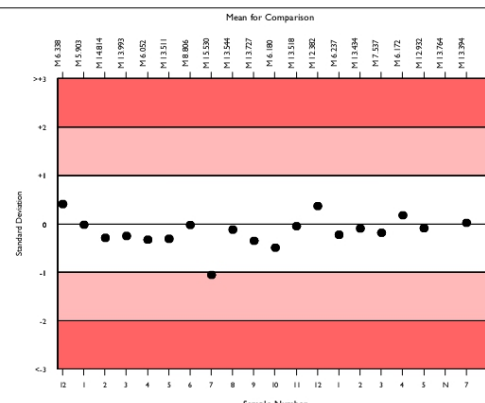


Figura 1 - Controlo RIQAS - Hemoglobina

PATOLOGIA CLÍNICA

A Patologia Clínica está informatizada para um melhor e mais adequado acesso à informação dos utentes, sendo o programa utilizado o APPOLO, da empresa CONFIDENTIA. Existem dois postos administrativos para o registo e receção das amostras.

Antes de iniciar as colheitas, faz-se o registo dos pedidos das análises, atribuindo a cada utente um número e um código de barras. Deste modo, quando a amostra é introduzida nos EQUIPAMENTOS, este faz a leitura do código de barras identificando os pedidos a fazer, sendo posteriormente enviados os resultados para a ficha individual de cada utente, onde se procede à respetiva validação.

As colheitas são realizadas através do sistema de vácuo Vacuette® utilizando agulha ou butterfly (quando estamos perante veias com acesso difícil ou com volémia reduzida).

As colheitas de produtos biológicos (sangue, urinas, fezes, exsudados, etc.) iniciam-se às 8h, sendo em média 100 por dia.

Depois de procedermos à colheita do produto biológico, os tubos de EDTA (colhido para tubos de vácuo contendo no seu interior EDTA K³) são homogeneizados nos agitadores.

As amostras de Plasma Heparinizado (contendo no seu interior heparina de lítio), Soro (colhido para tubos de vácuo sem anticoagulante) e Citrato (colhido para tubos de vácuo contendo no seu interior Citrato de sódio) dão entrada no Serviço e são centrifugadas a 4000 rotações por minuto (rpm) tubos de soro, 2500 rpm tubos de citrato, durante 10 minutos. Após a centrifugação, as amostras sanguíneas são distribuídas pelos equipamentos.

No caso, de outro tipo de amostras como Hemoculturas e Expetorações a colheita é realizada pelo Serviço de Enfermagem do HAR. Fluidos Biológicos, Líquido Pleural, Líquido Ascítico, Líquido Cefalo-Raquidiano (LCR) são colhidos pelos Clínicos juntamente com o Serviço de Enfermagem, por se tratar de um método mais invasivo. Posteriormente são enviados ao laboratório para serem registados e distribuídos.

HEMOSTASE

A coagulação sanguínea é uma resposta do organismo a uma lesão com objetivo de alcançar a hemostase. As reações que constituem a resposta são a vasoconstrição dos vasos sanguíneos com o objetivo de diminuir o fluxo sanguíneo na área lesada, a constituição do tampão plaquetário e de uma rede de fibrina insolúvel, através dos mecanismos da coagulação (1-3).

A hemostase é todo o conjunto de reações locais que terminam no controlo da hemorragia, a partir de um vaso que se encontra lesionado, e é regulada por diversos mecanismos que incluem duas fases principais: hemostase primária (tem como finalidade impedir que ocorram grandes perdas de sangue e contempla três acontecimentos que vão desde a adesão plaquetária, passando pela secreção e culminando na agregação plaquetária) e a hemostase secundária (coagulação sanguínea) (1-3).

A coagulação (Figura 2), é um processo que consiste na formação de uma rede de fibrina insolúvel que aprisiona os elementos figurados do sangue e reforça o tampão plaquetário para interromper a hemorragia. A formação do coágulo processa-se segundo um conjunto de reações enzimáticas em cascata, onde as proteínas são ativadas por proteólise limitada, a partir da via intrínseca (APTT) e extrínseca (TP) de coagulação (1-3).

Os fatores necessários para a ativação da via intrínseca encontram-se em circulação; enquanto a via extrínseca é ativada após lesão tecidual. Após ocorrer ativação do fator X ambas as vias convergem para uma só, designando-se esta terceira via por via comum que conduz à formação de trombina (1-3).

Na área da coagulação os parâmetros determinados no laboratório do HAR são o Tempo de Protrombina e o Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (APTT).

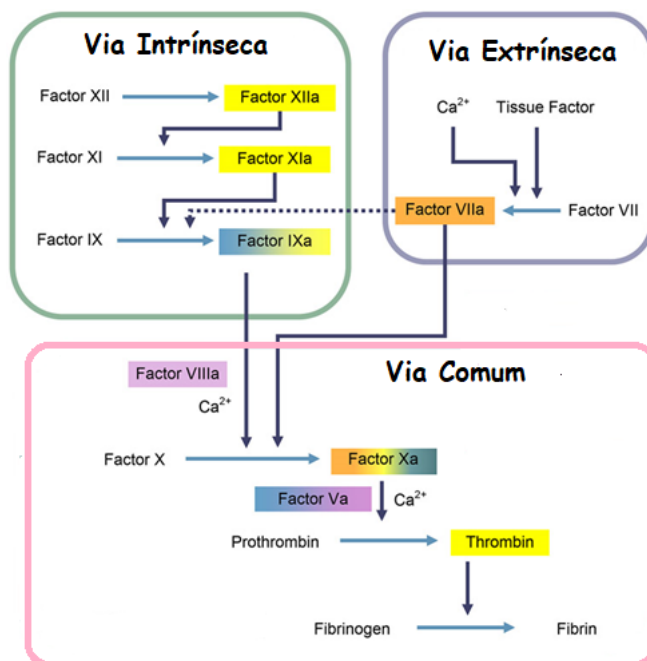


Figura 2 - Cascata da Coagulação [Fonte – Zhao Y et al.(4)]

Tempo de Protrombina (TP)

Este teste mede o tempo em segundos que uma amostra de plasma citratado, pobre em plaquetas, demora a formar a rede de fibrina, colocando a amostra em contacto com uma suspensão de tromboplastina tecidular e fosfolípidos exógenos, sendo o processo iniciado pela adição de cálcio (1, 2, 4).

É a prova de escolha para a investigação da via extrínseca e comum da coagulação sanguínea. O extrato de tecido (tromboplastina extrínseca) ao lado dos fatores VII (extrínseca), II, V, e X (comum), na presença de íões de cálcio, age sobre a protrombina para formar a trombina, que leva à formação de coágulo de fibrina. Esta prova é indicada rotineiramente, no pré-operatório, bem como no controlo da TAO (Terapêutica com Anticoagulantes orais). Valores aumentados indicam: Deficiência dos fatores da via; Deficiência de vitamina K; Doença hepática grave, Síndrome nefrótica, CID (Coagulação Intravascular Disseminada), transfusões sanguíneas maciças (1, 2, 4).

Os valores de TP estão padronizados com o INR (Índice Internacional de Ratio), que permite comparar metodologias diferentes para a determinação do TP. A Organização Mundial de Saúde (OMS) formou o INR para padronizar mundialmente o resultado obtido

durante o teste. O INR corresponde ao TP corrigido a padrões mundiais. A variação normal de INR é de 2,0 – 4,0 (1, 2, 3).

$$INR = \left[\frac{TP \text{ (paciente)}}{TP \text{ (normal)}} \right]^{ISI \text{ (índice de Sensibilidade Internacional)}}$$

Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (APTT)

É um teste de rastreio que avalia a via intrínseca e a via comum da cascata da coagulação. A via intrínseca inclui os fatores VIII, IX, XI e XII e a via comum inclui os fatores fibrinogénio, II, V e X. Utiliza-se na deteção de anticorpos lúpicos e para a monitorização laboratorial da terapêutica com heparina, e para screening na avaliação das alterações da via intrínseca da coagulação (1-3).

Quando este teste apresenta um valor prolongado, pode ser devido a inúmeros fatores entre os quais défice dos fatores XII, XI, X, IX, VIII, VII, V, II, Fibrinogénio; tratamento anticoagulante com heparina não fracionada (HNF); presença de um inibidor (seja inibidor específico, seja anticoagulante lúpico); CID; doença hepática e transfusões sanguíneas maciças (1-3).

Um APTT alargado associa-se a um aumento do risco hemorrágico (hemofilias por défice de fatores VIII, IX e XI) e a um aumento do risco trombótico.

Hipocoagulados

A TAO é o tratamento que permite, através da administração de fármacos (por exemplo: Varfarina (*Varfine*®) e Acenocumarol (*Sintrom*®)), diminuir a capacidade de coagulação do sangue, isto é, estes anticoagulantes atuam através do bloqueio (ao nível do hepatócito), da carboxilação das proteínas vitamina K dependentes (fator II, VII, IX e X), resultando na produção de proteínas imunologicamente semelhantes aos fatores em défice. Estes fármacos acarretam algumas complicações nomeadamente hemorrágicas e tromboembólicas, consequência muitas vezes de um efeito anticoagulante excessivo e de

insuficiente efeito do anticoagulante, respetivamente, quando não se mantém a faixa terapêutica (2).

Neste Serviço, o controlo de hipocoagulados faz-se pela determinação do tempo de protrombina (INR), em que a amostra de sangue é colhida por punção venosa. A colheita por punção venosa faz-se para tubos de vácuo *VACUETTE®* reservados para estudos da coagulação e estes possuem um anticoagulante, o citrato de sódio solução tamponada de citrato trissódico desidratado/monohidrato de ácido cítrico a 3,2% (0,109 mol/l) ou a 3,8% (0,129 mol/l). Este anticoagulante é um agente quelante dos iões cálcio, e deste modo impede a ativação do mecanismo da coagulação. Após a colheita, os tubos são centrifugados a 2500 rpm durante 15 minutos. De seguida, os tubos são colocados no equipamento *STA SATELLITE* que determina de forma automática o valor de INR (4,6).

A proporção de mistura é de 1 parte de solução de citrato para 9 partes de sangue. A marca na etiqueta do tubo indica o volume nominal de enchimento $\pm 10\%$, refletindo a faixa de tolerância para garantir o volume de enchimento correto e evitar erros associados ao enchimento inadequado de o tubo que pode prolongar artificialmente os resultados de APTT e PT. Os tubos de coleta de sangue de citrato de sódio para coagulação *VACUETTE® 9NC* estão disponíveis com tecnologia de parede dupla (tubos sanduíche – plástico dentro de plástico) para resultados analíticos confiáveis. O tubo externo é feito de tereftalato de polietileno preservando o vácuo e garantindo uma longa vida útil, enquanto o tubo interno é feito de polipropileno impedindo a solução de citrato da evaporação. O polipropileno é ideal para parâmetros de coagulação sensíveis, devido à sua característica não reativas (4).

Para além do volume correto, importante também, logo após a colheita é a inversão suave do tubo de forma a promover a mistura de sangue com o anticoagulante e desta forma prevenir a ativação da cascata da coagulação com consequente consumo de fatores, o que poderia falsear os resultados obtidos (4).

O equipamento no setor utilizado é o *STA SATELLITE* e o método a Coagulometria.

Calibração

No STA SATELLITE a calibração é automática quando se introduz um novo lote. Os dados de calibração são lidos por código de barras.

A calibração é um conjunto de operações que estabelece, sob determinadas condições específicas, a relação entre os valores fornecidos pelos equipamentos e os valores apresentados por um parâmetro de referência.

No Sector é realizada quando se muda de lote ou mesmo quando os valores obtidos se encontram fora dos limites aceitáveis, de modo a garantir a fiabilidade dos resultados obtidos.

A calibração determina os limites de linearidade e sensibilidade de cada um dos testes, tendo como objetivo garantir a fiabilidade e rastreabilidade dos resultados obtidos.

Controlo de Qualidade

O Controlo de Qualidade realizado neste sector tem como função verificar a precisão e exatidão dos parâmetros analisados de modo a obter resultados fiáveis.

Desta forma, o controlo de qualidade interno é realizado diariamente, passando plasmas de controlo nos aparelhos que efetuam análises sobre a hemóstase, isto é, no aparelho *STA SATELLITE*, todos os dias realiza-se o controlo interno com o plasma de controlo normal utilizando o reagente *STA – COAG Control N* e plasma de controlo patológico utilizando o reagente *STA – COAG Control P* (6).

A AEQ é realizada pela Randox (RIQAS) que envia uma amostra de plasma mensalmente para a avaliação dos seguintes parâmetros: PT (% , segundos e INR) e APTT (em segundos e ratio).

Determinação do grupo sanguíneo (prova direta ou celular)

O mecanismo de identificação dos grupos sanguíneos baseia-se no facto de que os indivíduos têm anticorpos (aglutininas) contra os antígenos (aglutinogénios) que não possuem. Os principais antígenos eritrocitários e seus anticorpos correspondentes mais

utilizados nas avaliações de imuno-hematologia de rotina são o sistema ABO e o Rhesus (Rh) porque têm maior probabilidade do que os outros grupos de provocar reação transfusional (5).

Esta determinação permite a identificação de antígenos à superfície dos eritrócitos, usando como reativos anti-soros conhecidos, isto é, anticorpos purificados (anti-A, anti-B, anti-AB e anti-D). Para esta determinação o card utilizado é o "Diaclon ABO/Rh for patients". Este card contém no gel, anticorpos monoclonais anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D e anti-CDE. A última microcoluna contém um controlo negativo. Através deste card é possível detectar a presença ou ausência dos antígenos A e B nos eritrócitos e também dos Ag anti-D, anti-C e anti-E (5).

Este kit baseia-se na aglutinação dos eritrócitos, com recurso ao equipamento ID-Centrifuge 24S.

Para a determinação do grupo sanguíneo é necessário fazer uma diluição em solução salina de baixa força iónica do concentrado de eritrócitos, recolhido com EDTA. Assim, num tubo de vidro são adicionados 500 µL de ID-Diluent 2 e 50 µL do concentrado de eritrócitos. Após homogeneização, são colocados 10 µL da suspensão em cada microtúbulo. As cartas são centrifugadas no equipamento ID-Centrifuge 24 S, com uma rotação pré-definida a 910 rpm por 10 min.

A aglutinação ocorre quando os antígenos dos glóbulos vermelhos reagem com os anticorpos correspondentes, presentes na coluna de gel inserida em cada microtúbulo. A coluna de gel atua como um filtro, pois impede que os glóbulos vermelhos aglutinados passem através da coluna de gel durante a centrifugação da carta. A coluna de gel separa glóbulos vermelhos aglutinados de glóbulos vermelhos não aglutinados com base no tamanho. Os glóbulos vermelhos aglutinados ficam no topo do gel enquanto os que não aglutinam ficam no fundo. Se existir aglutinação significa que está presente o antígeno que lhe é específico (5).

No caso do fator Rh, se ocorrer aglutinação o indivíduo é caracterizado como Rh positivo, possuindo o antígeno D, e se não ocorrer aglutinação o indivíduo não possui este antígeno e, por isso, é Rh negativo.



Figura 3 - Card para determinação de ABO e Rh

MICROBIOLOGIA

A Microbiologia tem origem em três vocábulos gregos, *mikros* (pequeno), *bios* (vida) e *logos* (ciência). É a ciência que estuda os microrganismos, isto é, seres vivos de dimensões microscópicas. Atualmente, a Microbiologia conta com várias sub-ciências, tais como, Bacteriologia, Virologia, Micologia e Parasitologia. Ao nível de laboratório faz-se a pesquisa e identificação de microrganismos responsáveis por uma patologia infecciosa, recorrendo às áreas referidas (7).

A microbiologia tem um papel importante no diagnóstico e controlo de doenças infecciosas. A maioria dos testes de diagnóstico utilizados baseiam-se na capacidade de crescimento dos microrganismos nos diversos meios de cultura utilizados.

São solicitadas, em vários tipos de amostras biológicas, a pesquisa e identificação de agentes patogénicos (ex: bactérias, fungos) e testes de suscetibilidade aos antimicrobianos para orientação do tratamento (7).

As técnicas utilizadas para o diagnóstico etiológico das infeções dependem em grande parte das características bioquímicas dos microrganismos que se pretende identificar.

Assim, o diagnóstico é feito mediante o exame cultural e o exame microscópico da amostra biológica. O exame cultural permite isolar as espécies bacterianas presentes na amostra e que podem ser responsáveis pela infeção.

A única automatização desta secção consiste no equipamento VITEK® 2 Compact, que, após todo o processo referido acima, é utilizado para a identificação de patógenos e realização de antibiogramas, de modo a testar a sensibilidade destes aos antibióticos. Para se efetuar o estudo microbiológico adequado é fundamental conhecer a flora saprófita do local de origem do respetivo produto biológico, bem como quais os microrganismos habitualmente responsáveis por infeções e diferenciar culturas puras e quantitativamente significativas de culturas mistas, resultado de contaminação, ou não valorizáveis, devido a outros fatores. É, também, muito importante existir uma colheita, transporte e armazenamento corretos da amostra para, assim, se obter resultados de confiança (8).

No serviço existe, o *VITEK 2 COMPACT* (destinado à identificação de bactérias e fungos, mas também para o Teste de Sensibilidade a Antibióticos – TSA), uma estufa e uma câmara de bio-segurança nível 2).

Processamento dos produtos

Neste sector são analisados vários produtos (Sangue, Urina, Expetoração, Líquido Pleural, Líquido Ascítico, Fezes, Lavado Brônquico, Exsudado vaginal/rectal, entre outros), estes são colhidos e tratados de acordo com as normas pré-estabelecidas pelo laboratório.

Após a receção e triagem dos produtos, estes são manuseados na câmara de bio-segurança, de maneira a manter as condições de assepsia, sendo posteriormente semeados nos meios adequados. De seguida, os meios são incubados na estufa a uma temperatura de $\pm 37^{\circ}\text{C}$ em aerobiose ou microaerofilia, durante 24/48/72 horas.

Dependendo do produto biológico, que dá entrada no laboratório, as amostras são inoculadas nos diferentes meios de cultura (o mais apropriado para o tipo de microrganismo esperado) nas devidas condições de assepsia numa câmara de fluxo laminar tipo II. São também preparadas lâminas para serem observadas ao microscópio, após coradas pelo método de Gram.

Meios de Cultura

Os meios de cultura mais usados encontram-se em anexo, eles podem ser classificados quanto ao seu estado e utilização (9,10).

O estudo microscópico das características morfológicas e coloração é insuficiente para a obtenção de uma identificação fiável do agente patogénico. Para completar a análise microbiológica é necessário realizar a cultura dos produtos biológicos de forma a verificar se ocorre crescimento de microrganismos, bem como analisar as propriedades fisiológicas e bioquímicas.

Um meio de cultura é um substrato nutritivo capaz de proporcionar o crescimento dos microrganismos fora do seu ambiente natural. Para além das necessidades nutricionais é importante proporcionar condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento, tais como a temperatura de incubação, pH, pressão osmótica, humidade e atmosfera (aeróbia, microaerófila ou anaeróbia) (9,10).

No laboratório do HAR utilizam-se diferentes meios de cultura, consoante o tipo de amostra, e que se encontram descritos seguidamente: UTI, GS, PVX, VCAT, CAN, CAMP, MSA, MRSA, McK, HEKT e Selenito (9,10).

Tabela 1 - Estado e descrição dos diferentes meios de cultura

Estado	Descrição
<i>Físico</i>	Líquidos, sólidos (1,5% agar) e semi-sólidos (0,5% agar).
<i>Químico</i>	Pode ser designado meios de cultura quimicamente definidos (quando a composição química do meio é conhecida) ou quimicamente complexos (quando não se conhece a composição química exata)
Utilização	Descrição
<i>Seletivos</i>	Quando existe pelo menos um componente que inibe o crescimento dos microrganismos indesejados, sem diminuir o crescimento do microrganismo pretendido (MacConkey);
<i>Diferenciais</i>	Podem crescer vários tipos de microrganismos, no entanto, permitem a visualização das atividades metabólicas das bactérias (MacConkey);
<i>Enriquecidos</i>	Contêm substâncias nutritivas essenciais a bactérias mais exigentes (ex: Gelose sangue e Gelose chocolate)
<i>Não seletivos</i>	Cresce todo o tipo de flora microbiana.
<i>Cromogénios</i>	Aquando crescimento as colónias adquirem uma cor específica (Gelose MRSA)

Anexo I – Composição dos meios de cultura (8,9).

Urina

As amostras de urina de doentes com suspeita de infeção do trato urinário, constituem o tipo mais numeroso de todas as amostras recebidas no laboratório de bacteriologia do HAR. O esquema para o seu exame de rotina, foi cuidadosamente estabelecido, de forma a obter a informação necessária, com a maior economia em trabalho e recursos e no mais breve espaço de tempo possível.

Assim deste modo, esta análise inicia-se com a colheita da amostra. Esta reveste-se de enorme importância uma vez que todo o resultado fornecido pelo laboratório de microbiologia é consequência da qualidade da amostra recebida. A colheita e o transporte inadequado podem ocasionar falhas no isolamento do agente etiológico e favorecer o desenvolvimento da flora contaminante, induzindo a um tratamento não apropriado.

Para a realização da colheita deve-se colher a primeira urina da manhã, mas só o 2º jato, devendo rejeitar o 1º. O tempo de entrega do resultado depende se existe ou não infeção patológica, pois caso exista devemos realizar um antibiograma (7, 11).

A urina é um líquido biológico estéril, mas a sua passagem através da uretra durante a micção arrasta os microrganismos que a colonizam, podendo induzir a erros na interpretação da urocultura, daí valorizar apenas o crescimento predominante (10^5), e em cultura pura pois pode tratar-se de uma contaminação (7).

Embora a maior parte do trato urinário seja isenta de flora comensal, e na ausência de infeção a urina da bexiga não contenha quaisquer bactérias, a amostra colhida por emissão espontânea está sujeita a contaminação por bactérias comensais, do orifício uretral e anal sobretudo na mulher, mesmo quando se tomam as maiores precauções para evitar a contaminação (12,13).

Esse fato torna por vezes mais complicada a interpretação das culturas e a decisão de partir para um isolamento e posterior identificação e antibiogramas. Esta decisão é sempre feita em consciência e tendo em conta que os comensais contaminantes incluem bactérias como *Escherichia coli* ou *Klebsiella pneumoniae*, microorganismos que

habitualmente infetam o trato urinário. Assim, a simples verificação de que existem na amostra bactérias de uma destas espécies (entre outras), não prova que tenham origem em infeção do trato urinário. A simples positividade, em termos qualitativos, da cultura de urina obtida por micção, não é diagnóstico de infeção. Como prova de infeção das vias urinárias, é necessário verificar que se encontra, na urina recente, o agente potencialmente patogénico, em número superior ao que, presumivelmente, resultaria de simples contaminação por bactérias do meato uretal e suas vizinhanças. Deste modo só consideramos uma bacteriúria significativa, a partir de 10^5 (as culturas quantitativas são usadas para discriminar entre colonização, contaminação e infeção) (11-13).

Nestes casos, a cultura obtida, representa, habitualmente, uma única espécie patogénica. Depois de ter em conta todos estes critérios e se concluir pela infeção, procede-se à identificação através das cartas disponíveis para o Vitek 2 Compact. As cartas de antibiograma são escolhidas em função da bactéria em causa.

Depois de obtidos os resultados das sensibilidades e resistências aos diversos antibióticos estes ainda são selecionados antes de serem colocados no boletim analítico, em função do local onde provém a infeção, de acordo com a idade e outros fatores determinantes.

Aquando da chegada ao laboratório, a amostra é semeada no meio de UTI da Biogerm®, com ansa calibrada de 1 microlitro e pelo método de diluição. As placas são incubadas a 37°C durante 24h em aerobiose (10).

Após o período de incubação verifica-se a placa, avaliando se existiu crescimento. Em caso positivo contam-se as UFC/ml e verifica-se o aspeto, dado que alguns patogénicos tem um aspeto característico. Na figura 4 podemos verificar colónias de *Escherichia coli*.

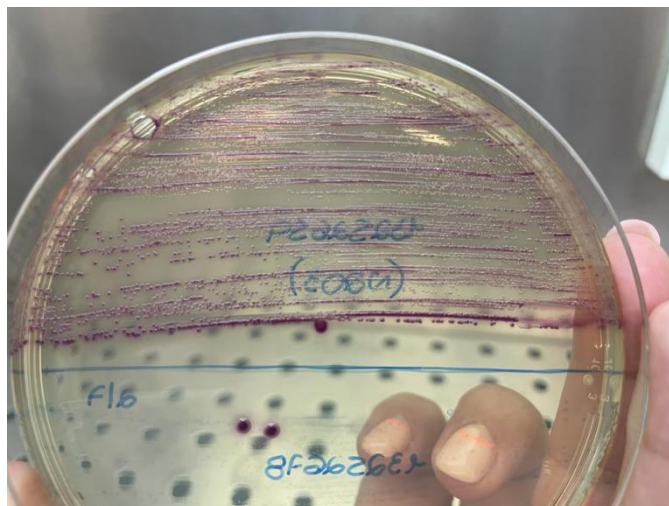


Figura 4 - Colônias *Escherichia coli* no meio de UTI da Biogerm.

As infecções do trato urinário (ITUs) afetam 150 milhões de pessoas todos os anos. Embora homens e mulheres possam ser infetados, as ITUs são tradicionalmente consideradas uma doença das mulheres. A maior prevalência de ITU no sexo feminino resulta de fatores anatómicos nas mulheres, como menor comprimento uretral, menor distância do ânus ao meato uretral e permissividade dos ambientes vaginal e perineal à colonização microbiana. Já os homens apresentam maior morbidade e mortalidade do que as mulheres sugerindo que diferenças não anatómicas podem estar presentes nessas infecções mais graves (11-13).

Outro facto que ajuda a evitar a infeção urinária, no homem, além da longa uretra, é a presença de substâncias bactericidas nos fluidos prostáticos. Também nos deparamos com muitas infeções urinárias nas crianças, pois é a infeção mais frequente neste grupo etário, logo após as infeções respiratórias.

Nos primeiros seis meses de vida, a infeção urinária ocorre mais nos meninos devido a um maior número de malformações congénitas do trato urinário. Depois do primeiro ano de vida, o predomínio das infeções urinárias ocorre nas meninas. Na gestação, a infeção urinária reveste-se de grande interesse devido à sua elevada incidência durante este período. Normalmente na gravidez, a urina é mais rica em nutrientes (açúcar e aminoácidos), o que propicia um meio de cultura mais rico, facilitando o crescimento bacteriano. Também ocorre, normalmente na gravidez, uma dilatação do trato urinário, criando condições de estase urinária que favorecem o desenvolvimento bacteriano e a

instalação da infecção urinária. O aumento do útero, ao ocupar mais espaço, pode obstruir parcialmente o ureter e criar condições de estase urinária (11).

Os sintomas mais frequentes de infecção do trato urinário são a urgência e frequência das micções, às quais se associa mal-estar e dor. A infecção mais comum é a cistite, devida a infecção da bexiga por alguma bactéria uropatogénica, que na maioria dos casos é uma *Enterobacteriaceae*, principalmente *Escherichia coli*. Em doentes internados e com fatores de risco como algaliação permanente, cálculos urinários e outras patologias, outros agentes etiológicos também podem originar infecções tais como *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, fungos, etc. É de salientar que a maioria das infecções urinárias ocorre pela invasão de alguma bactéria da flora bacteriana intestinal no trato urinário (7).

As infecções bacterianas mais graves são a pielite e a pielonefrite, cujos sintomas incluem, geralmente, dor na região lombar e febre.

O acesso dos microrganismos ao trato urinário dá-se por via ascendentes, ou seja, pela uretra, podendo instalar-se na própria uretra e próstata, avançando para a bexiga e com mais dificuldade para o rim. Estas infecções urinárias do trato inferior são de tratamento fácil, porém podem surgir recidivas com possibilidade de evolução para quadros clínicos mais complexos com atingimento renal.

Difícilmente as bactérias podem penetrar no trato urinário pela via sanguínea, ocorrendo apenas quando existe infecção generalizada ou em indivíduos imunocomprometidos. A intensidade da infecção urinária depende das defesas do paciente, da virulência do microrganismo e da capacidade deste aderir à parede do trato urinário.

A contaminação do trato urinário pode ser facilitada por fatores como: obstrução urinária, corpos estranhos, fístulas genito-urinárias e do trato digestivo, doenças sexualmente transmissíveis e infecções ginecológicas (12,13).

Segundo a figura 5, podemos verificar que, existe uma prevalência de infecções por *Enterobacterales*, nomeadamente *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

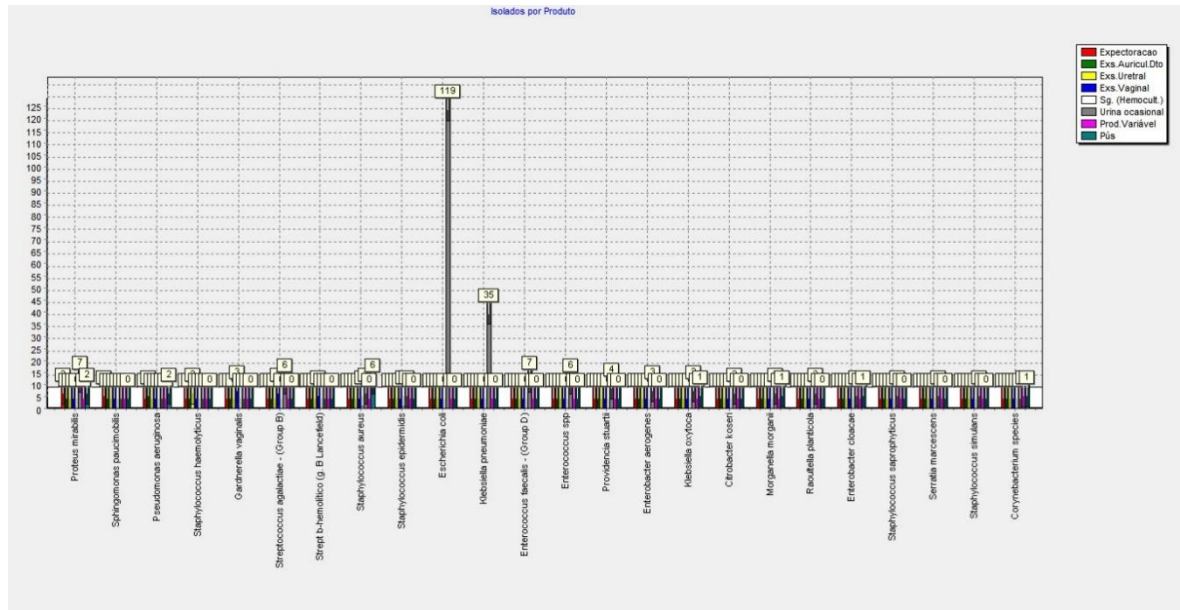


Figura 5 - Isolados no decorrer do Estágio

Para sobreviver aos efeitos dos antibióticos, as bactérias estão constantemente a desenvolver defesas. Exemplo disso são algumas *Enterobacterales* conseguirem produzir enzimas denominadas beta-lactamases de espectro estendido (ESBL's). As ESBL's levam à destruição (inativação) de diversos antibióticos frequentemente utilizados, incluindo penicilinas e cefalosporinas, tornando-os ineficazes (14).

Após verificação do antibiograma no VITEK, caso tenhamos um resultado com produção de KPC, o procedimento é re-isolar a bactéria no meio UTI para posteriormente se enviar à CERBA para confirmação.

Recolhe-se uma amostra do crescimento da placa a enviar, para se realizar uma suspensão no eppendorf e se congelar, como exemplificado na figura 6.



Figura 6 - Placas de UTI para envio CERBA e Eppendorf para congelar.

Se a CERBA confirmar que estamos perante uma bactéria KPC temos de enviar para o INSA, como indica a Norma 004/2013 atualizada em 13/11/2015 – Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos (15).

Na rotina laboratorial surgem por vezes doentes com sintomas de infeção do trato urinário, cujas urinas apresentam no estudo do sedimento muitos leucócitos polimorfonucleares, mas sem proliferação bacteriana significativa, nas culturas de rotina. Tal facto, pode ocorrer quando o doente fez antibioterapia antes da colheita, ou quando se trate de uma infeção causada por microrganismo que não se desenvolvem nos meios de cultura usados nos ensaios de rotina. Em tais casos, tenta-se obter mais informações junto do doente e não se exclui a hipótese de tuberculose genito-urinária ou infeção gonocócica.

A leucocitúria e piúria podem estar presentes em variadas patologias, como a desidratação grave, traumatismos uretrais, litíase urinária, estados febris, inflamações do trato urinário causados por agentes químicos, acidose renal, glomerulite pós estreptocócica, nefrites, infeções genitais, etc.

Como tal, não existe um padrão definido de leucocitúria/piúria que possa ser considerado diagnóstico de infeção urinária (13).

Hemoculturas

Como o sangue é um produto biológico estéril, o isolamento de um microrganismo a partir de uma hemocultura é geralmente o agente etiológico da infeção.

Num adulto faz-se duas hemoculturas ou mais dependendo da patologia suspeita o que permite diagnosticar 90% das bacteriemias. Nos lactentes e crianças faz-se geralmente uma hemocultura. A colheita é realizada pelo Serviço de Enfermagem, após o pico febril. Consoante o tipo de microrganismo a pesquisar utiliza-se um frasco Hemoline difásicos e semeamos por inundação.

As hemoculturas incubam 7 dias na estufa e devem ser verificadas a cada 24 horas.

Quando existe produção de gás são inoculadas pela técnica de estrias por esgotamento na Gelose de sangue ou na Gelose de Chocolate. Após 24 horas de incubação em atmosfera de aerofilia realiza-se a identificação de acordo com o microrganismo e antibiograma.

Pús de ferida

São diversas as situações clínicas e os respetivos microrganismos responsáveis por infeções localizadas que conduzem à formação de pús.

Deve-se colher duas zaragatoas, uma para a realização de um Gram e outra para a sementeira.

A inoculação deste produto é efetuada na Gelose de sangue, Gelose de Chocolate, Manitol Salt Agar (MSA) e Gelose de MacConkey, pela técnica de estrias por esgotamento.

Todas as placas são incubadas a cerca de 37°C durante 24 horas, sendo que a placa de Gelose de Chocolate é incubada em atmosfera de CO₂.

Ao fim do período de incubação, e na presença de colónias suspeitas procede-se à identificação e testes de sensibilidade aos antibióticos (8).

Expetoração¹

O diagnóstico de infeções do trato respiratório inferior é verificado pelo exame destes produtos. Este diagnóstico é frequentemente dificultado pela contaminação destas amostras pela flora comensal da orofaringe, exigindo experiência na visualização.

Inicialmente têm de ser submetidos a uma observação macroscópica e microscópica (Gram). De seguida, são inoculados em Gelose de sangue, Gelose de Chocolate (em atmosfera de CO₂), pela técnica de estrias por esgotamento (8).

¹Amostras com muita saliva devem ser rejeitadas

Exsudados Nasais, Faríngeos e Orofaríngeos

Uma das principais causas de infeções associadas a cuidados de saúde (IACS) são os *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA). Trata-se de uma bactéria multirresistente aos antibióticos, sendo de extrema importância a sua deteção.

É realizada a pesquisa de MRSA em doentes re-internados e/ou anteriormente infetados ou colonizados. Quando positivo procede-se ao isolamento do doente para evitar o contágio.

Colheita de duas zaragatoas.

Quando a amostra é de um **Exsudado nasal** uma das zaragatoas é para Gram e outra para a sementeira em Gelose Sangue, Gelose Chocolate e MSA.

Quando a amostra é de um **Exsudado orofaríngeo e faríngeo** realizamos a sementeira em Gelose Sangue e no Todd Hewitt.

Todas as placas são incubadas a cerca de 37°C durante 24 horas, sendo que a placa de Gelose de Chocolate é incubada em atmosfera de CO₂.

Ao fim do período de incubação, e na presença de colónias suspeitas procede-se à identificação e testes de sensibilidade aos antibióticos (8).

Exsudado Vaginal e Uretral

Existem vários microrganismos causadores de patologias associadas ao aparelho genital. Os patogénicos mais usuais são a *Candida spp*, a *Gardnerella vaginalis*, a *Trichomonas vaginalis*, a *Neisseria gonorrhoeae*, Clamídia, o *Ureaplasma*, o *Mycoplasma* e o *Staphylococcus aureus*.

No caso das vaginites o agente etiológico mais frequente é um fungo, nomeadamente a *Candida albicans* (8).

Pesquisa de Streptococcus beta hemolíticos do grupo B em Exsudado Vaginal e Retais

Numa mulher grávida o *Streptococcus agalactiae* pode ser transmitido ao recém-nascido, e causar-lhe sepsis e meningite. O rastreio da presença deste microrganismo é pertinente, na gravidez, de forma a iniciar-se a profilaxia antibiótica.

Para identificação destes agentes, inocula-se a Zaragatoa no meio de enriquecimento líquido de Todd Hewitt durante 24 horas entre +/- 37°C.

Findas as 24 horas, repica-se para uma Gelose do meio cromogénio Strep B (Não deverá ser exposto a Luz) e incuba-se 24 horas a +/- 37°C.

Na ausência de colónias características incuba-se 48 horas.

Na presença de colónias características a confirmação é realizada realizando a Carta de Identificação do VITEK (8).

Fezes

O trato gastrointestinal apresenta uma vasta flora comensal, que dificulta a deteção de determinados agentes bacterianos infecciosos, responsáveis pela maior parte das gastroenterites tanto em adultos como em crianças.

Para a identificação dos agentes patogénicos utilizamos os meios de MSA, Candida ID, Campylosel, Hektoen e Selenito (8).

Exame parasitológico de fezes

O exame parasitológico de fezes constitui um método muito importante para a deteção de ovos e larvas de helmintas e cistos de protozoários.

É realizado um exame a fresco para a sua pesquisa através do kit da Biorepair – Sistemas de Concentração pelo Método Baillenger (16).

Estudo morfológico das bactérias

Coloração de Gram

Esta coloração permite distinguir as bactérias Gram positivas das Gram negativas. As bactérias Gram positivas coram de roxo e as Gram negativas coram de vermelho. O diferente comportamento das bactérias em relação à coloração de Gram deve-se ao facto dos dois grupos bacterianos apresentarem parede celular química e estruturalmente distinta.

Devido à sua constituição da sua parede, mais rica em lípidos, as bactérias Gram positivas coram o citoplasma de roxo, não se deixando descorar pelo álcool-acetona. Já a parede das bactérias Gram negativas, menos ricas em lípidos é permeável ao álcool-acetona, permitindo a posterior coloração do citoplasma pela fucsina diluída.

Para a realização desta coloração são necessários três corantes, o cristal violeta, o lugol e a fucsina diluída.

A execução desta técnica é necessário um esfregaço fixo e uniforme devidamente seco e fixo à chama.

Após a coloração, o esfregaço é visualizado ao microscópio ótico com a objetiva de imersão (8).

Provas complementares de identificação

Prova da Catalase

Tem como princípio activo o desdobramento do peróxido de hidrogénio em água e oxigénio por parte da enzima catalase. É indispensável na identificação de cocos Gram positivos, permitindo diferenciar *Staphylococcus* de *Streptococcus*.

Os *Streptococcus* são catalase negativa e os *Staphylococcus* são catalase positiva.

Para evitar falsos-positivos as colónias não devem ser recolhidas de culturas de gelose de sangue, pois os eritrócitos são ricos em catalase.

No HAR utiliza-se o Kit da Biomérieux ID Color Catalase (ID-ASE) (16).

Prova da Coagulase

Distingue espécies patogénicas de *Staphylococcus* de espécies não patogénicas, sendo um bom indicador da patogenicidade do *S.aureus*.

Para a realização desta prova, o Sector dispõe do Kit da Bio-RAD Pastorex Staph-Plus (16). O *S.aureus* produz a enzima coagulase que coagula o plasma.

Equipamento Vitek 2 Compact

O aparelho *Vitek 2 Compact* é um sistema destinado à identificação de bactérias e fungos e à realização de antibiogramas de bactérias com importância clínica.

Este aparelho possui duas zonas distintas: a estação de enchimento (aqui uma bomba de vácuo extrai o ar que se encontra dentro da câmara; de seguida, o aparelho liberta o vácuo e a pressão de ar que repõe o vácuo força as amostras a fluir para dentro das cartas e inoculá-las) e a estação de introdução/remoção de cassetes (local onde as cartas são guardadas a uma temperatura adequada, e lidas de hora em hora por sensores fotométricos sensíveis às alterações de cor e turvação das amostras) (8).

O método deste sistema é a colorimetria, que consiste na medição da intensidade da luz dispersa a 30°, sendo esta diretamente proporcional ao desenvolvimento das bactérias (8).

De acordo com a suspeita de um determinado agente bacteriano, este sistema possui um leque alargado de cartas que auxiliam na identificação do agente infeccioso e da sua sensibilidade aos antibióticos como o descrito na tabela 2 (8).

Tabela 2 - Cartas de identificação e antibiogramas utilizados pelo Vitek 2 Compact

Vitek 2 Compact			
Cartas de identificação	GN	Cartas de identificação de bactérias Gram negativos.	
	GP	Cartas de identificação de bactérias Gram positivos.	
Antibiogramas	AST-P648	Cartas de determinação da sensibilidade de <i>Staphylococcus spp.</i>	
	AST-P586	Cartas de determinação da sensibilidade de <i>Enterococcus spp.</i> e <i>Streptococcus agalactiae</i> .	
	AST-N203	Cartas de determinação da sensibilidade de Gram Negativos.	
	AST-N373	Cartas de determinação da sensibilidade dos microrganismos não fermentadores (ex. <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Acinetobacter spp.</i>)	

HEMATOLOGIA

Hematologia é o ramo da medicina que tem como função o estudo do sangue, seus distúrbios e doenças. A palavra é composta pelos radicais gregos: *Haima* (de *haimatos*) "sangue" e *lógos* "estudo, tratado, discurso".

O sangue é constituído por elementos celulares (40%) e por plasma (60%). Dentro dos elementos celulares encontramos os eritrócitos, glóbulos brancos e plaquetas (17).

A avaliação qualitativa e quantitativa destes componentes sanguíneos permite-nos obter um hemograma. A determinação destes parâmetros, assim como a contagem de reticulócitos e avaliação de esfregaços sanguíneos permite-nos diagnosticar possíveis patologias relacionadas com o sangue ajudando o clínico a prescrever o melhor tratamento para cada paciente.

O CQI é realizado utilizando o e-checkTM (XE) em três níveis, L1, L2 e L3 diariamente. (22)



Anexo II – Parâmetros que constituem um Hemograma.

Técnicas manuais

Esfregaço de sangue periférico

Um esfregaço sanguíneo define-se como uma extensão de sangue periférico, sobre uma lâmina de vidro, efetuada a partir de uma gota. Um esfregaço deve ser fino, regular, com margens paralelas e afastadas dos bordos da lâmina e possuir uma extremidade arredondada ou em cauda (18,19).

A observação do esfregaço sanguíneo é essencial na avaliação da doença hematológica. Os resultados de um hemograma, obtidos automaticamente, geralmente, induzem a um diagnóstico específico. Todavia, muitas doenças apresentam uma contagem celular normal, com morfologia anormal. Assim, um bom esfregaço sanguíneo e uma análise morfológica bem feita dependem da qualidade da preparação e coloração do esfregaço,

assim como da experiência do observador, sendo capaz de reconhecer e distinguir os tipos celulares normais e patológicos (18,19).

Assim, um esfregaço sanguíneo permite a visualização, quantificação e valorização microscópica das diferentes células sanguíneas, possibilitando o estudo da morfologia eritrocitária (tabela 1), a determinação da fórmula leucocitária, o estudo da morfologia leucocitária (tabela 2), a contagem semi-quantitativa das plaquetas (tabela 3) e ainda a pesquisa de parasitas.

Tabela 3 - Classificação da morfologia dos GV.

Glóbulos Vermelhos	
Cor	Normocromia, Hipocromia, Anisocromia, Policromatofilia.
Forma	Acantócitos, Células em alvo, Drepanócitos, Eliptócitos, Esferócitos, Estomatócitos, Equinócito, Ovalócitos, Poiquilócitos, ...
Tamanho	Normocitose, Microcitose, Macrocitose, Anisocitose.
Inclusões eritrócitárias	Corpos de Heinz, Corpos de Howell-Jolly, Pontuado basófilo, Corpos de Pappenheimer, Parasitas.

Tabela 4 - Classificação da morfologia dos Glóbulos Brancos.

Leucócitos	
Granulócitos	Neutrófilo, Basófilo, Eosinófilo
Agranulócitos	Monócito, Linfócito

Tabela 5 - Classificação da morfologia das Plaquetas

Forma	Anisocitose, Normocíticas, Microcíticas, Trombócitos
--------------	--

Para a coloração do esfregaço recorre-se à técnica de Wright. Esta técnica utiliza corantes do tipo Romanovsky, que consistem em soluções metanólicas de eosinatos, de azul de metileno e derivados, que têm por objetivo corar os componentes nucleares e

citoplasmáticos das células. O metanol funciona como um fixador das células e como um solvente do corante. A eosina constitui o componente ácido e, portanto, irá reagir com os componentes básicos das células. O azul de metileno e derivados constituem o componente básico e têm afinidade para as estruturas ácidas das células. O tampão altera o pH da mistura e faz com que as terminações básicas das células captem o azul de metileno e as terminações ácidas captem a eosina.

Relativamente às plaquetas, estas aparecem como pequenos corpúsculos devendo ser observados quanto ao número, tamanho e forma.

Os leucócitos devem apresentar-se facilmente identificáveis ao longo da extensão, estar intactos e distribuídos de forma homogênea.

No entanto, há uma certa segregação, em função do tamanho e densidade dos diferentes leucócitos, os elementos mais pequenos (linfócitos) predominam no centro e os mais volumosos (granulócitos e monócitos) na margem e na cauda da extensão. O resultado deve ser apresentado, em percentagem e em valor absoluto. Devem ainda observar-se quanto a alterações morfológicas e à presença e quantificação de formas atípicas. A presença de precursores eritroides e leucocitários e ainda células habitualmente ausentes do sangue periférico devem ser referidos

figuras 7,

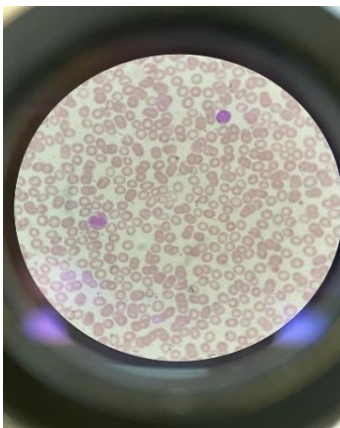


Figura 7 - Esfregaço Sanguíneo

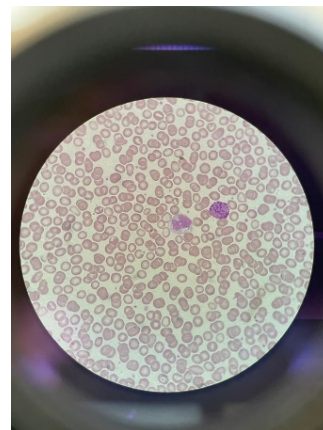


Figura 8 - Esfregaço Sanguíneo

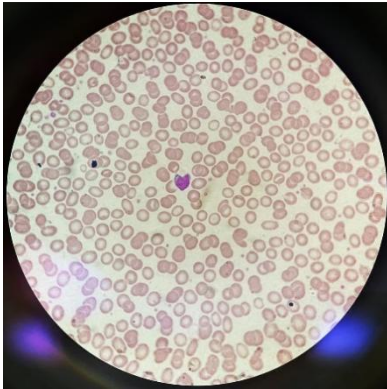


Figura 9 - Esfregaço Sanguíneo

Velocidade de Sedimentação (VS)

A velocidade de sedimentação (VS) dos GV é um teste laboratorial que quantifica em milímetros a distância de sedimentação dos mesmos e traduz a velocidade de sedimentação destas células.

Equipamento VES-MATIC CUBE 30

Equipamento automático para a determinação de 30 amostras simultaneamente. A leitura da VS na primeira hora é realizada em 26 minutos ou em 10 minutos (método rápido). Apresenta a vantagem de ser utilizado o tubo fechado (20, 21).

A análise é realizada automaticamente (agitação e leitura) e os resultados são comparáveis aos obtidos pelo método de Westergren.

Valores normal aproximados do equipamento:

- Homens - até 10 mm/h
- Mulheres - até 15 mm/h

De acordo com as diretrizes internacionais, cada laboratório deve determinar seus próprios intervalos normais com base por sexo e divididos por décadas de idade (20).

Impedância elétrica

Este método é utilizado para a contagem e medição dos glóbulos vermelhos, leucócitos e plaquetas.

Baseia-se na medição das alterações que uma corrente elétrica constante, produzida por dois elétrodos, sofre pela passagem de uma partícula suspensa num líquido condutor.

A passagem de cada partícula origina uma resistência transitória entre os dois elétrodos. Esta modificação produz um impulso elétrico que é medido. A amplitude do impulso é diretamente proporcional ao volume da partícula que o produz. Cada impulso é comparado com um padrão interno de referência de voltagens que permite discriminar o tamanho das partículas e classificá-las. A partir dessa contagem é traçado o histograma (21).

Citometria de fluxo

Permite obter a identificação e classificação de leucócitos (neutrófilo, eosinófilo, basófilo, linfócito e monócito) e contagem de reticulócitos. As células passam por fluxo laminar, interagindo com um feixe a laser. Através da dispersão da luz laser em ângulos diferentes é possível saber a informação sobre o tamanho da célula, estrutura interna, granularidade e morfologia (21).

BIOQUÍMICA E IMUNOLOGIA

Bioquímica

Consiste principalmente, no estudo da Química dos processos biológicos que ocorrem nos seres vivos (23).

Equipamentos

Aution MaxTM

O Aution MaxTM é um equipamento de reflectância totalmente automatizado para determinação qualitativa ou semi-quantitativas, *in vitro*, de tiras teste de urina tipo II.

Os resultados dos testes baseiam-se na leitura da intensidade de luz refletida.

Em todas as urinas é realizado o sedimento urinário de modo a quantificar e classificar o parâmetro citológico alterado. Assim, centrifuga-se uma alíquota de urina a 2000 rpm (rotações por minuto), durante 5 minutos, para posterior observação ao microscópico numa câmara de Neubauer (24). As figuras 10, 11 e 12 referem cristais encontrados no decorrer do estágio.

O CQI é realizado utilizando o Aution Check Plus 1 e 2, sendo os parâmetros avaliados os seguintes: Densidade, Nitritos, Corpos Cetónicos, GV, pH, Proteínas, UBC, Leucócitos, Glicose, Bilirrubina (25).

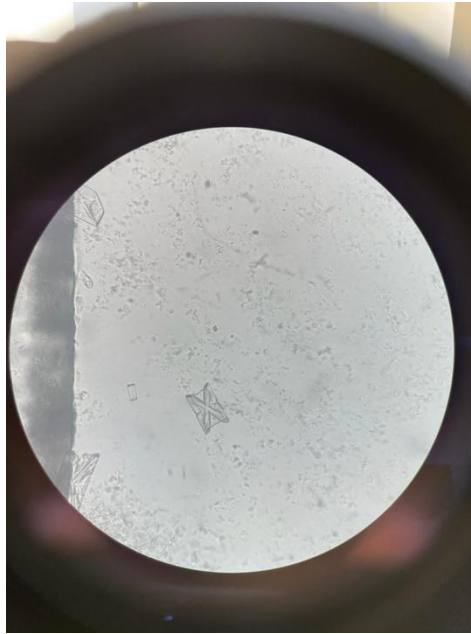


Figura 10 - Cristais Fosfato Triplo



Figura 11 - Cristais de Ácido Úrico



Figura 12 - Cristais de Oxalato de Cálcio

Cobas Integra 800

O Cobas Integra 800 é um analisador automatizado. Apresenta como métodos a espectrofotometria a fluorescência polarizada, a turbidimetria e a potenciometria indireta (24).

Manutenção

Existem determinadas ações corretivas nos equipamentos que são possíveis de executar no dia a dia, por forma a resolver os alertas que impedem o bom funcionamento dos equipamentos (24).

Durante o decorrer do estágio existiram várias, deixo um exemplo de seguida (Figuras, 13, 14 e 15).

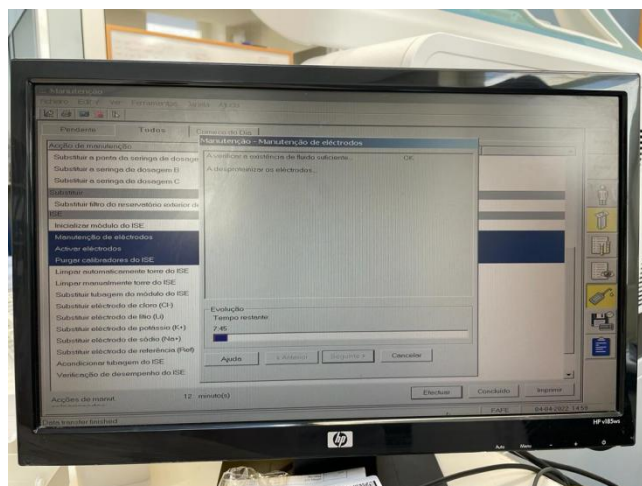


Figura 13 - Manutenção solicitada pelo equipamento

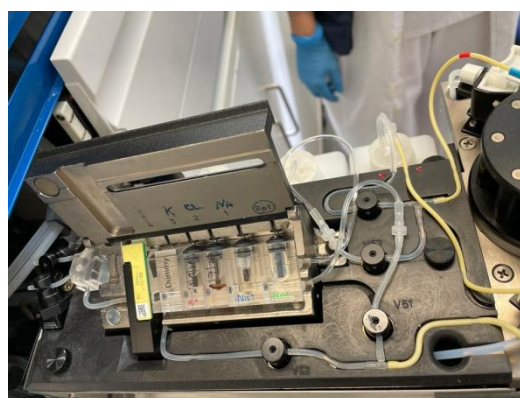


Figura 14 - Ação corretiva solicitada



Figura 15 - Limpeza filtros.

Hemoglobina Glicosilada

A determinação da concentração de Hemoglobina Glicosilada (HbA1c) tem sido considerada como o parâmetro importante para monitorização, a longo prazo, do controlo do estado glicémico em doentes diabéticos (26).

Tem como interesse clínico o estudo de Hemoglobinopatias (Variantes de Hemoglobina e Talassemias). Um adulto contém principalmente no seu sangue hemoglobina A, uma pequena percentagem de hemoglobina A₂ e vestígios de hemoglobina fetal. As Hemoglobinopatias são o resultado da síntese deficiente das cadeias de globina que formam as moléculas de hemoglobina.

A hemoglobina glicosilada, também conhecida como A₁C, é um teste que permite a medição da quantidade de glicose que se combinou com a Hemoglobina (Hb) de forma irreversível e, a avaliação qualitativa a partir de um traçado da separação da Hb.

Para a determinação da Hb glicosilada e das variantes da Hb são utilizadas amostras de sangue total colhidas em tubo com anticoagulante EDTA.

Anexo III - Metodologias realizadas para cada parâmetro.

Urina de 24 Horas (24H)

Para efetuar a recolha desta urina o doente deve juntar a urina durante 24H para um recipiente fornecido pelo laboratório. Para isso, o doente deve esvaziar a bexiga completamente, rejeitando esta urina e anotar a hora. A partir desse momento, sempre que urinar deve fazê-lo para o recipiente, sem perder qualquer quantidade de urina. Quando perfazer as 24H deve urinar para dentro do frasco. É extremamente importante que a recolha seja feita corretamente.

Na urina de 24H, são doseados vários parâmetros, tais como, microalbuminúria, fósforo, creatinina, sódio, potássio, cloro, cálcio e também se efetua a medição do volume de urina.

O doseamento quantitativo destes parâmetros é feito no Cobas Integra 800 (24).

Provas específicas

Prova de Tolerância Oral à Glicose (PTOG)

A prova de tolerância oral à glicose é realizada quando os valores de glicemia resultantes de uma análise se situam fora do intervalo de referência.

Para a realização desta prova o utente deve encontrar-se em jejum de 8-14H, permanecer em repouso, não deve fumar e deve ser registada a presença de fatores que possam influenciar os resultados.

No adulto, em circunstâncias normais, utiliza-se 75g de Glicose, determinando-se a Glicemia antes e 2H após a ingestão.

Nas grávidas (preferencialmente entre a 24^a-28^a semana de gestação) faz-se o doseamento da glicose em jejum e após a ingestão de 75g de glicose, devendo-se colher sangue aos sessenta e cento e vinte minutos. Após o parto faz-se o doseamento da glicose em jejum e após a ingestão de 75g de glicose, devendo-se colher sangue aos cento e vinte minutos (26).

Pesquisa de sangue oculto nas fezes

Para a pesquisa de sangue oculto, em amostras fecais, utilizamos o Kit *Laboquick*.

Este Kit é um teste rápido, imunocromatográfico, de passo único, que auxilia no diagnóstico de perturbações gastrointestinais inferiores (16).

Para diminuir a incidência de falsos negativos são necessárias três amostras de fezes (estas amostras são colhidas uma em cada dia, durante três dias consecutivos).

Imunologia

São efetuados todos os testes referentes à parte imunológica, quer automáticos, quer manuais.

Para análise dos parâmetros analíticos requeridos pelo Clínico, dispomos do analisado Cobas e 411.

Equipamento Cobas e 411

Para melhor organização existem os dois equipamentos referenciados, ambos são analisadores de imunoensaios multi-testes completamente automatizados e específicos para a análise de parâmetros imunológicos.

Foram concebidos para determinações quantitativas e qualitativas, *in vitro*, usando uma variedade de testes.

O sistema é composto pelo analisador, que executa todas as funções necessárias ao processamento inteiramente automático de amostras e ensaios, e por uma unidade de controlo, que controla o analisador através de software do utilizador. Este analisador usa como método a electroquimioluminescência.

A electroquimioluminescência consiste no método de conversão de energia elétrica em energia radioativa. Assim, a electroquimioluminescência descreve-se pela ligação do antigénio da amostra a um anticorpo específico, ao qual se liga um outro anticorpo marcado com uma espécie reativa, este compete diretamente com o analito da amostra do paciente testada pelo sítio do anticorpo marcado. Esta mistura é fixada magneticamente na superfície do eletrodo e o que não se fixar é removido. Por fim, há uma aplicação de corrente elétrica no eletrodo que induz uma emissão de quimioluminescência, medida por um fotomultiplicador. Quanto maior for a

quimioluminescência detetada, maior será a concentração de antigénio presente na amostra (24).

🌀 **Anexo IV** - Parâmetros analisados pelo *Cobas e411*

🌀 **Anexo V** – Princípios de métodos utilizadas no módulo *Cobas e401*.

Provas Serológicas

VDRL/TPHA

A sífilis é uma doença infecciosa causada por uma espiroqueta – *Treponema Pallidum*. Quando precocemente diagnosticada e tratada não apresenta qualquer perigo. Os anticorpos detetados pelo teste aparecem em circulação após 4 a 6 semanas de infeção inicial, com pico durante a fase secundária da sífilis, sofrendo depois um decréscimo.

O diagnóstico baseia-se em vários testes serológicos, que se dividem em duas categorias: testes não treponémicos (VDRL) e testes treponémicos (TPHA).

O teste VDRL é um teste de floculação macroscópico e é utilizado para detetar anticorpos (reaginas) no soro. Quando se mistura uma gota de soro positivo e de reagente numa lâmina de teste, formam-se flóculos pretos, visíveis macroscopicamente, devido à presença de partículas de carbono. Quando o anticorpo reagina não está presente, a floculação não ocorre e aparece uma cor cinzenta uniforme. Quando positivo realiza-se diluições seriadas para verificar o título do anticorpo (16).

O teste TPHA (apresenta maior sensibilidade que os testes não treponémicos, pois permite a monitorizar a terapêutica) é um teste semi-quantitativo para a pesquisa de anticorpos anti-*Treponema pallidum*, no soro humano por hemaglutinação direta (16).

O teste utiliza glóbulos rubros de galinha, estabilizadas e sensibilizadas com antígenos solúveis de *Treponema pallidum*, que aglutinam na presença de anticorpos específicos.

No caso de positividade, aparece um véu uniforme de glóbulos rubros que cobre o fundo da cúpula, podendo ser parcialmente refratada nas extremidades. Em caso de ser negativo aparece um botão compacto de glóbulos rubros no fundo da cúpula (16).

Este teste pode ser usado como teste confirmatório após um teste não-treponémico (VDRL) positivo.

Para efetuar estes testes, são utilizadas amostras de soro humano. Podem ocorrer resultados falsos positivos em determinadas patologias, tais como Mononucleose Infeciosa (MI), Lúpus Eritematoso (LES), Malária e Pneumonia Viral (16).

Teste de gravidez

Este teste baseia-se num imunoensaio cromatográfico para a deteção qualitativa da β -hCG na urina. É usado como teste para diagnóstico de gravidez.

Por vezes, determinadas patologias, podem levar a um resultado falso positivo (tumores do ovário - Mola e cancro no estômago e fígado) (16).

Teste de despiste de drogas de abuso

O teste de despiste de drogas de abuso é um teste rápido para a deteção qualitativa, *in vitro*, de drogas e metabolitos (Opiáceos e Morfina) na urina humana.

O teste para a despistagem de drogas de abuso é um imunoensaio cromatográfico em que as drogas que podem estar presentes na urina competem contra o conjugado respetivo da droga para se ligar ao anticorpo (16).

Calibração

A calibração é um conjunto de operações que estabelece, sob determinadas condições específicas, a relação entre os valores fornecidos pelos equipamentos e os valores apresentados por um parâmetro de referência.

Esta é realizada quando se muda de reagentes, lote de reagentes diferentes, de modo a garantir a fiabilidade dos resultados obtidos.

Deverá ser feita também, se os valores obtidos no controlo de qualidade se encontrarem fora dos limites aceitáveis repetitivamente, devendo, no entanto, excluir-se outras situações para este fenómeno, tais como: controlo mal preparado, mal acondicionado, entre outros.

A calibração determina os limites de linearidade e sensibilidade de cada um dos testes, tendo como objetivo garantir a fiabilidade e rastreabilidade dos resultados obtidos.

Sector da Hematologia → Equipamento realiza a calibração de forma automática aquando das manutenções periódicas.

Sector da Bioquímica → Calibração a cargo dos técnicos do laboratório. Assim cada sistema analítico possui um sistema de calibração específico, no que diz respeito aos tipos de calibradores utilizados:

Cobas Integra 800 → CFAS – calibrador multiparamétrico, CFAS Proteínas, CFAS AIC e também se usa calibradores específicos para determinados parâmetros.

Cobas e 411 → Calibrador paramétrico específico para cada parâmetro.

Controlo de Qualidade

A realização do controlo de qualidade visa reconhecer e minimizar os erros analíticos. É de extrema importância no laboratório, na medida em que avalia a qualidade do trabalho realizado e assegura a fiabilidade e reprodutibilidade dos resultados.

Tem como objetivo avaliar a exatidão e precisão (reprodutibilidade) dos dados obtidos e a sua interpretação deve ter em conta determinadas regras de Westgard (figura 16). Deste modo, os valores deverão encontrar-se dentro dos dois desvios padrões. Se tal não se verificar, deve proceder-se à repetição da determinação, ou caso seja necessário, à utilização de novos controlos ou efetuar uma calibração. Os resultados podem também ser apresentados em gráficos de Levy-Jennings, facilitando assim a sua interpretação.

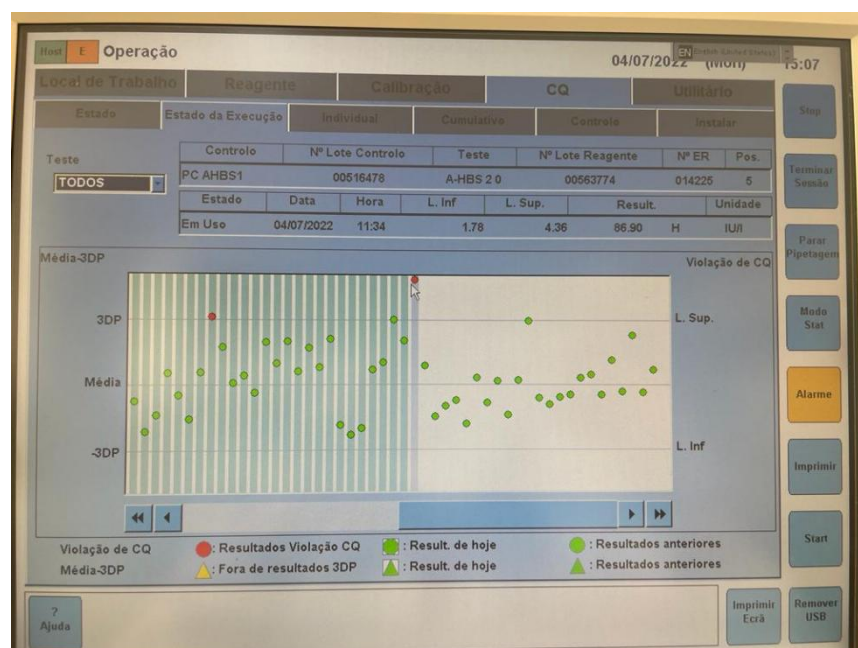


Figura 16 - Controlo Qualidade do PC AHBS1

A Microbiologia, realiza CQI e a AEQ. Estas avaliações propõem-se avaliar o funcionamento dos aparelhos, os reagentes, os materiais, os métodos utilizados e também quem os executa.

A Avaliação Externa da Qualidade - NEQAS, baseia-se na identificação de cinco estirpes bacterianas e no estudo da sensibilidade aos antibióticos de outras cinco estirpes. Após a obtenção dos resultados, estes são enviados para a entidade reguladora NEQAS, que avalia se os métodos utilizados foram ou não bem elaborados pelo laboratório envolvido.

A Hematologia, o setor recebe a AEQ do RIQAS para a realização de todos os parâmetros do Hemograma, com periodicidade mensal.

A Bioquímica/Imunologia, diariamente os aparelhos são sujeitos a um start up com a passagem de uma solução de lavagem por todo o sistema de forma a eliminar as partículas interferentes e garantir o bom funcionamento do aparelho. Posteriormente faz-se o Controlo de Qualidade Interno, antes do início do trabalho, recorrendo a dois tipos de soros - um soro normal (*PreciControl clinChem Multi 1*) e um soro patológico (*PreciControl clinChem Multi 2*) para garantir a precisão e legitimidade dos resultados.

Neste sentido o laboratório participa no programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade do INSA e RIQAS para a avaliação dos parâmetros referidos trimestralmente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Farmacêutico tem um papel importante no laboratório, principalmente se for o responsável por ele. É da sua responsabilidade verificar se tudo está em conformidade, validar o serviço, realizar os TAO, “ler” as placas da micro e distribuir o serviço, verificar as manutenções dos equipamentos do CQ e/ou calibração, para que tudo decorra dentro da normalidade.

O CQ é uma componente do sistema de controlo de qualidade de um laboratório. Quando este se encontra alterado, geralmente é devido a bolhas presentes na amostra, má hidratação dos controlos, má homogeneização. Sempre que se deteta um erro, procede-se á implementação das medidas corretivas e preventivas de modo a evitar a recorrência do erro.

O estágio foi muito vantajoso dado que me foi dada autonomia para colocar os meus conhecimentos em prática.

BIBLIOGRAFIA

1. Arthur C. Guyton, M.D e Jonh E. Hall, Ph. D “Tratado de fisiologia médica”; 9ª edição; Editora Guanabara.
2. Robert W. Colman, Jack Hirsh, Victor J. Marder, Alexander W. Clowes, Janes N. George; “Hemostasis and Thrombosis – Basic Principles & Clinical Practice” 4ª edição.
3. Zhao Y, Weyand AC, Shavit JA. Novel treatments for hemophilia through rebalancing of the coagulation cascade. *Pediatr Blood Cancer*. 2021 May;68(5):e28934. doi: 10.1002/pbc.28934. Epub 2021 Feb 12. PMID: 33577709; PMCID: PMC8751759.)
4. <https://shop.gbo.com/en/row/products/preanalytics/venous-blood-collection/vacurette-tube/> Consultado a 11/9/2022.
5. John G. Kelton, Nancy M. Heddle, Morris A. Blajchman – Transfusion Sanguinea Bases teoricas y aplicación clínica; Editora Doyma.
6. Bulas dos reagentes/produtos do Sector de Hemostase.
7. Robert Cruickshank; J.P.Duguid; B.P.Marmion;C.H.A. Swain “Microbiologia Médica”; 4ª edição; Fundação Calouste Gulbenkian.
8. Manual de instruções dos aparelhos do Sector de Microbiologia.
9. Biomérieux, “Manual de meios de cultura e suplementos”, Editora Marking 2003.
10. <https://biogerm.pt/meios-de-cultura/> Consultado a 11/9/2022
11. Valdevenito S JP. Infección urinaria recurrente en la mujer [Recurrent urinary tract infection in women]. *Rev Chilena Infectol*. 2008 Aug;25(4):268-76. Spanish. Epub 2008 Aug 13. PMID: 18769773.
12. McLellan LK, Hunstad DA. Urinary Tract Infection: Pathogenesis and Outlook. *Trends Mol Med*. 2016 Nov;22(11):946-957. doi: 10.1016/j.molmed.2016.09.003. Epub 2016 Sep 28. PMID: 27692880; PMCID: PMC5159206.)
13. Sydney M. Finegold, M.D; Ellen Jo Baron, Ph. D “Diagnostic Microbiology”; 7ª edição; Editora Mosby.
14. <https://www.ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-resistance> Consultado a 11/9/2022
15. <https://normas.dgs.min-saude.pt/2013/02/21/vigilancia-epidemiologica-das-resistencias-aos-antimicrobianos/> Consultado a 11/9/2022.
16. Bulas dos reagentes/produtos do Sector da Micobiologia.
17. Virginia Vengelen-Tyler, MBA, MT (ACSP) SBB, CQA (ASQ); “Manual Técnico” 13ª edição American Association of Blod Banks.

18. F.G.J. Hayhoe; R.J.Flemans; "A Colour Atlas of Haematological Cytology" 2ª edição 1982; Editora Wolfe Medical Publication Ltd.
19. L.W.Diggs; Dorothy Sturm; Ann Bell; "The Morphology of Human blood cells" 5ª edição; Editora Abbott laboratories.
20. <https://www.manualslib.com/manual/1575532/Diesse-Ves-Matic-Cube-30.html>
Consultado a 11/9/2022.
21. Manual de instruções do aparelho do Sector de Hematologia.
22. Bulas dos reagentes do Sector de Hematologia.
23. Carl Burtis; Edward Ashwood; David Brunis "Tietz – Fundamentos de Química" 6ª edição 2008; Editora Elsevier.
24. Bulas dos reagentes do Sector de Bioquímica/Imunologia.
25. Manuais de instruções dos aparelhos do Sector de Bioquímica/Imunologia.
26. <https://normas.dgs.min-saude.pt/wp-content/uploads/2011/01/diagnostico-e-classificacao-da-diabetes-mellitus.pdf> Consultado a 11/9/2022.

ANEXOS

Anexo I – Meios de Cultura

Meios de Cultura	Características
Gelose Columbia + 5% de sangue de carneiro (COS)	É um meio bastante nutritivo, enriquecido com mistura de peptonas e 5% de sangue de carneiro, o que se adequa ao crescimento da maioria dos microrganismos exigentes, sendo assim um meio não selectivo e não diferencial. Pelo facto de possuir sangue na sua constituição, é possível observar o fenómeno de hemólise permitindo a distinção das diferentes estirpes de <i>Streptococcus</i> β -hemolíticos, α -hemolíticos ou γ -hemolíticos. Incuba 24h a 48h a 37°C em atmosfera de 5-10% de CO ₂ .
Gelose de Chocolate Polyvitex (PVX)	Meio de isolamento particularmente recomendado para o crescimento de estirpes fastidiosas pertencentes ao género <i>Neisseria</i> , <i>Haemophilus</i> e <i>Streptococcus pneumoniae</i> encontradas em amostras clínicas. Este meio é composto por uma base nutritiva enriquecida com factores X (hemina) e V (NAD) disponíveis no meio por prévia lise dos eritrócitos. Incuba 24h a 48h a 37°C em atmosfera de 5-10% de CO ₂ .
Gelose de MacConkey	Meio selectivo destinado ao isolamento das Enterobactérias. Detecta-se a fermentação da lactose através da mudança de cor do meio para cor-de-rosa forte. Incuba 24h a 48h a 37°C.
Gelose de MRSA	Meio cromogénico que permite a detecção de <i>S. aureus</i> resistentes à meticilina, uma bactéria multiresistente responsável por IACS. Trata-se de um meio que possui um substrato cromogénico de α -glucosidase que na presença de <i>S.aureus</i> resistentes à meticilina origina colónias azuis-esverdeadas. Incuba 24h a 37°C.
Gelose Campylosel (CAM)	Trata-se de um meio selectivo para a detecção de <i>Campylobacter</i> intestinais a partir de amostras fecais. A presença neste meio de sangue de carneiro proporciona o crescimento da espécie pesquisada, bem como a presença de agentes redutores que aumenta a fertilidade do meio em causa. Devido aos antibióticos e antifúngicos presentes no meio, a maior parte dos contaminantes bacterianos e fúngicos são inibidos. A presença de colónias cinzentas, de tamanho pequeno que se estendem ao longo da estria da sementeira é característica de <i>Campylobacter</i> . Incuba 48h a 72h a 37°C
Selenito	O Selenite-F Broth (Meio líquido Selenite-F) é utilizado como um meio enriquecido para isolamento de Salmonella em fezes, urina, água, alimentos e outros materiais importantes a nível sanitário. Os meios enriquecidos são utilizados por rotina para detecção de agentes patogénicos em amostras fecais, uma vez que, normalmente, estes agentes representam apenas uma pequena percentagem da flora intestinal.
UTI Microrganismos associados a infecções do tracto urinário	Meio cromogénico para diferenciação e identificação de microrganismos associados com infecções do tracto urinário. Forte diferenciação entre Coliformes e Enterococos, e E. coli. Identificação e diferenciação de Proteus, Morganella
Candida ID	Meio de isolamento e identificação para Candida albicans, C. tropicalis e C. krusei de amostras clínicas. Possui uma acção inibidora para as bactérias e também pode ser utilizado como meio de isolamento selectivo para outras espécies de leveduras e para fungos filamentosos.

Hektoen	O BD Hektoen Enteric Agar é um meio para diferenciação moderadamente seletivo utilizado para o isolamento e cultura de microorganismos entéricos gram-negativos, especialmente para o isolamento de Shigella e Salmonella provenientes de amostras fecais.
Todd Hewitt	Utilizado principalmente para cultura de estreptococos beta-hemolíticos, especialmente para estudos serológicos. Meio é nutritivo devido ao seu conteúdo em peptonas, dextrose e sais. A dextrose estimula a produção de hemolisina. O fosfato dissódico e o carbonato de sódio funcionam como tampões para contrariar a acidez produzida durante a fermentação da dextrose, protegendo assim a hemolisina da inativação pela acidez.

Anexo II – Parâmetros que constituem um Hemograma

Hemograma	Descrição
Eritrograma	Contagem de glóbulos rubros – RBC = $\# \times 10^6/\mu\text{l}$ ($\times 10^{12}/\text{L}$); Concentração de hemoglobina – HGB (g/dL); Hematócrito – HCT (L/L); Índices Globulares: • Volume Globular Médio – VGM (fl); • Hemoglobina Globular Média – HGM (pg); • Concentração da Hemoglobina Globular Média – CHGM (g/dL); Índice de distribuição dos eritrócitos - RDW (fL ou %); Reticulócitos; Avaliação morfológica (extensão de sangue).
Leucograma	Contagem de leucócitos – RBC ($\times 10^9/\text{L}$); Fórmula leucocitária (extensão de sangue); Avaliação morfológica (extensão de sangue).
Plaquetograma	Contagem de plaquetas – PLT = $\# \times 10^3/\mu\text{l}$ ($\times 10^9/\text{L}$); Contagem diferencial de plaquetas (extensão de sangue) – PLT (mm^3); Avaliação morfológica (extensão de sangue).

Anexo III – Princípios de métodos

Método	Princípio do método
Espectrofotometria	O método da espectrofotometria é baseado na absorção da energia por parte do analito a analisar. Esta energia incidente provém de uma fonte luminosa que atravessa um monocromador, que tem como função seleccionar o comprimento de onda adequado para determinar a absorvância do analito em estudo. Deste modo, a luz emitida, que passa pelo monocromador, atravessa a cuvete com o analito, determinando a absorvância deste, e a qual será directamente proporcional à concentração da amostra.
Turbidimetria	A turbidimetria trata-se de uma técnica analítica que se fundamenta na proporcionalidade entre a intensidade da luz dispersa e a concentração do analito. Por outras palavras, este método permite medir a diminuição da intensidade da radiação incidente provocada não por absorção molecular mas por dispersão óptica. A luz incidente atravessa a amostra em meio turvo, e a intensidade da luz dispersa é detectada por um detector, o qual irá converter a intensidade da luz dispersa em sinais eléctricos, posteriormente estes sinais são processados de modo a determinar a concentração do analito.
Fluorescência polarizada	De acordo com este método, quando uma fonte luminosa emite luz monocromática, isto é, com apenas um comprimento de onda específico, ocorre absorção da luz emitida por um fluoróforo (componente de uma molécula que faz com que uma molécula seja fluorescente. Trata-se de um grupo funcional de uma molécula que irá absorver energia com um comprimento de onda específico). Esta luz que é absorvida é emitida a um comprimento de onda superior, e posteriormente, a polarização ou não da luz depende da rotação do respectivo fluoróforo na amostra.
Potenciometria indireta	Este analisador possui um módulo ISE (eléctrodos selectivos de iões) para determinação de electrólitos, como o sódio, potássio e cloro. Este método permite determinar a concentração destes iões baseando-se na diferença de potencial entre dois eléctrodos, que possuem uma membrana selectiva para cada ião em estudo. Este método designa-se assim, uma vez que a amostra em estudo é previamente diluída para efectuar a determinação dos respectivos electrólitos.

Anexo IV - Parâmetros analisados Integra 400.

Parâmetros		
Ácido Úrico (UA)	Fósforo (PHOS)	Ferritina (FERR)
Albumina (ALB)	Gama Glutamil transferase (γ-GT)	Factor Reumatóide (RF-II)
Alalina Aminotransferase (AST)	Glicose (GLUC)	Bicarbonato
Aspartato Aminotransferase (ALT)	HDL-colesterol	TASO
Amilase (AMY)	Hemoglobina A1c (HA1c)	Creatinina (CREJ)
Antitripsina (AAT)	LDH-colesterol	Transferrina (TRSF)
Bilirrubina Direta (BIL-D)	Triglicerídeos (TRIG)	Cloro (CL)
Bilirrubina Total (BIL-T)	Magnésio (MG)	Ureia (UREAL)
Cálcio (CA)	Potássio (K)	Imunoglobulina G (IGG)
Capacidade de fixação do ferro (IUBC)	Proteína C reactiva (CRPLX)	Imunoglobulina M (IGM)
Creatina Cinase (CK)	Proteínas totais (TP)	Imunoglobulina A (IGA)
Microalbuminúria (MAU)	Sódio (NA)	
Imunoglobulina A (IGA)	Imunoglobulina G (IGG)	Imunoglobulina E (IGE)

Anexo VII - Métodos e Parâmetros analisados do Integra 400.

Método	Parâmetros determinados
Espectrofotometria	Enzimas e Substratos
Turbidimetria	Proteínas específicas
Potenciometria Indirecta	Ionograma

Anexo VII - Parâmetros analisados no Cobas e 411.

Analísadores	Parâmetros	
Cobas e 411 (1)	β-HCG	FT3
	PTHI	A-HCV II
	HBSAG II	CA 19-9
	AHBS	CEA
	FT4	Estradiol
	T4	FSH
	ATG	LH
	HIV	Progesterona
	B12	Prolactina
	A-TPO	Imunoglobulina E (IGE)
Cobas e 411 (2)	RUB IGG/IGE	CMV IGG/IGE
	TOXO IGG/IGE	TPSA
	TSH	FOL
	FPSA	VIT D
	FERR	FOLATO
	CA15-3	FERRITINA