

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Anemia da Doença Renal Crónica no Idoso

Simone Filipa Batalha dos Santos

M

2024





Anemia da Doença Renal Crónica no Idoso

SIMONE FILIPA BATALHA DOS SANTOS

Monografia do 2º Ciclo de estudos conducente ao Grau de Mestre em
Análises Clínicas

Trabalho realizado sob a orientação do Professor Doutor Luís Belo e
co-orientação da Professora Doutora Alice Santos Silva

Outubro de 2024

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA MONOGRAFIA.

ACCORDING TO THE LEGISLATION, THE REPRODUCTION OF ANY PART OF THIS MONOGRAPH IS NOT AUTHORIZED.

Agradecimentos

A elaboração desta monografia contou com apoios fundamentais que possibilitaram a sua realização. Assim, não poderia deixar de agradecer, em primeiro lugar, ao Professor Doutor Luís Belo e à Professora Doutora Alice Santos Silva. Ambos estiveram presentes em todas as etapas do processo, oferecendo orientação e apoio inestimáveis. O impacto que tiveram na minha aprendizagem, tanto durante o período letivo, quanto no processo de escrita desta monografia, foi muito significativo.

Gostaria também de agradecer à Professora Doutora Eugénia Pinto pela sua constante disponibilidade ao longo de todo o Mestrado em Análises Clínicas. Agradeço, também, a todos os professores do mestrado, cujos conhecimentos e competências transmitidos foram essenciais para a concretização desta monografia.

Por fim, gostaria de agradecer aos meus colegas de mestrado, cujo espírito de interajuda e companheirismo não só enriqueceram a minha experiência no mestrado, como também melhoraram o processo de aprendizagem.

A todos,

Muito obrigada.

Resumo

O envelhecimento renal é um processo fisiológico e não patológico marcado por alterações funcionais e anatómicas dos rins. No entanto, quando ao envelhecimento são adicionadas comorbilidades, existe um agravamento dessas alterações. A doença renal crónica (DRC) é um problema de saúde pública global, definida como a presença de lesão renal ou perda progressiva da função renal por 3 ou mais meses. A DRC é prevalente nos idosos, podendo estar relacionada com o declínio da função renal com a idade e agravada por fatores que a acompanham. A anemia é uma das complicações comuns da DRC, juntamente com hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, alterações no metabolismo mineral e ósseo, entre outros.

A anemia é uma condição prevalente em idosos, sendo a mais comum a anemia ligeira. No entanto, todos os graus de anemia sofrem um aumento de prevalência com a idade. Ao contrário do que acontece em faixas etárias mais jovens, na população idosa a anemia é mais prevalente nos homens. As causas da anemia no idoso devem ser apuradas para que o tratamento seja adequado, sendo as principais, a deficiência nutricional e a anemia das doenças crónicas, entre elas a DRC. A anemia da DRC é normalmente normocrómica e normocítica e a sua etiologia está relacionada primeiramente com a diminuição da produção de eritropoietina (EPO), seguida da deficiência em ferro. Na anemia da DRC existe um aumento da hepcidina, que induz a acumulação de ferro nos macrófagos do sistema reticuloendotelial (SRE) e a diminuição da absorção de ferro no duodeno; observa-se também a diminuição da produção da EPO pelo rim, com a redução da resposta da eritropoiese na medula óssea.

O diagnóstico da anemia da DRC envolve a realização do hemograma, dando relevância à concentração de hemoglobina e índices eritrocitários. Além disso, a contagem de reticulócitos, ferritina sérica, saturação de transferrina, folatos e vitamina B12 também auxiliam no diagnóstico, para a exclusão de outras causas de anemia. Os tratamentos da DRC são individualizados, sendo que as *guidelines* internacionais recomendam a suplementação de ferro, o uso de agentes estimuladores de eritropoiese (AEE) e os inibidores da prolil-hidroxilase do fator indutível por hipóxia (HIF-PHIs).

Palavras-Chave: Envelhecimento Renal; Idoso; Doença Renal Crónica; Anemia.

Abstract

Renal aging is a physiological and non-pathological process marked by functional and anatomical changes in the kidneys. However, when comorbidities are added to aging, these changes worsen. Chronic kidney disease (CKD) is a global public health problem defined by the presence of kidney damage or progressive loss of kidney function over 3 or more months. CKD is prevalent in the elderly and may be related to the decline in kidney function with age and worsened by accompanying factors. Anemia is one of the common complications of CKD, along with arterial hypertension, cardiovascular diseases, altered mineral and bone metabolism, among others.

Anemia is a prevalent condition in the elderly, the most common being mild anemia. However, all degrees of anemia increase in prevalence with age. Contrary to what happens in younger age groups, in the elderly population, anemia is more prevalent in men. The causes of anemia in the elderly must be identified so that treatment is adequate, the main ones being nutritional deficiency and anemia of chronic diseases, including CKD. CKD anemia is normally normochromic and normocytic and its etiology is primarily related to decreased production of erythropoietin (EPO), followed by iron deficiency. In CKD anemia there is an increase in hepcidin, which induces the accumulation of iron in macrophages of the reticuloendothelial system (RES) and a decrease in iron absorption in the duodenum; a decrease in EPO production by the kidney is also observed, with a reduction in the erythropoiesis response in the bone marrow.

The diagnosis of CKD anemia involves carrying out a blood count, giving relevance to the hemoglobin concentration and erythrocyte indices. In addition, reticulocyte count, serum ferritin, transferrin saturation, folates and vitamin B12 also help in the diagnosis, to exclude other causes of anemia. CKD treatments are individualized, and international guidelines recommend iron supplementation, the use of erythropoiesis-stimulating agents (AEE) and hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors (HIF-PHIs).

Keywords: Renal Aging; Elderly; Chronic Kidney Disease; Anemia.

Índice

Resumo	III
Abstract	IV
Índice	V
Índice de Figuras	VII
Índice de Tabelas	VIII
Lista de Abreviaturas	IX
1. Introdução	1
2. Envelhecimento Renal.....	2
2.1. Alterações anatómicas	2
2.1.1. Alterações macroestruturais.....	2
2.1.2. Alterações microestruturais	3
2.2. Alterações funcionais	5
2.2.1. Declínio fisiológico da TFG.....	5
2.2.2. Alterações Hormonais	5
3. Doença Renal Crónica.....	8
3.1. Definição e Classificação.....	8
3.2. Fatores de Risco	10
3.3. Prevalência em Idosos	11
3.4. Cálculo da TFG em Idosos	12
3.5. Anemia – uma complicação da DRC	14
4. Anemia no Idoso.....	16
4.1. Definição	16
4.2. Prevalência.....	17
4.3. Etiologia	19
4.3.1. Anemia por deficiências nutricionais	21
4.3.2. Anemia derivada de doenças crónicas.....	21
4.3.3. Anemia de causas desconhecidas	22

4.4. Anemia da DRC.....	22
4.4.1. Fisiopatologia.....	23
4.4.2. Diagnóstico	26
4.4.3. Tratamento.....	29
5. Conclusão	33
6. Referências Bibliográficas.....	34

Índice de Figuras

Figura 1 - Alterações anatómicas macroestruturais associadas ao envelhecimento renal saudável.....	3
Figura 2 - Sistema renina-angiotensina-aldosterona	7
Figura 3 - Prevalência de anemia (%) de acordo com a taxa de filtração glomerular estimada (eTFG) em função da concentração de hemoglobina (g/dL) em (A) homens e (B) mulheres com DRC	15
Figura 4 - Prevalência (%) de anemia ligeira, moderada, severa e geral, segundo a faixa etária (anos)	17
Figura 5 - Prevalência (%) de anemia em idosos segundo a faixa etária (anos) e género.....	18
Figura 6 - Prevalência (%) de anemia microcítica, normocítica e macrocítica em indivíduos com doença renal crónica (DRC) com diferentes concentrações de hemoglobina (g/dL)	22
Figura 7 - Mecanismo de regulação do fator indutível por hipóxia em normoxia e hipoxia.....	23
Figura 8 - Mecanismo da fisiopatologia da anemia da doença renal crónica	25
Figura 9 - Esquematização do diagnóstico diferencial da anemia da doença renal crónica	28

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Alterações anatómicas e funcionais e respectivas características que ocorrem no processo de envelhecimento renal	2
Tabela 2 – Valores médios de biomarcadores importantes para a avaliação da função renal em adultos (18-64 anos), idosos (> 65 anos) e idosos com idade mais avançada (> 80 anos)	6
Tabela 3 - Classificação da DRC e o seu prognóstico, considerando as categorias de TFG e Albuminúria	9
Tabela 4 - Equações CKD-EPI Creatinina (2021) e CKD-EPI Creatinina-Cistatina C (2021) para o cálculo da taxa de filtração glomerular	14
Tabela 5 – Distribuição da etiologia da anemia em idosos no estudo NHANES III, que avaliou indivíduos com idade ≥ 65 anos nos Estados Unidos da América	20
Tabela 6 - Vantagens e desvantagens associados aos vários tratamentos da anemia da doença renal crónica.....	32

Lista de Abreviaturas

ADH	Hormona antidiurética (<i>antidiuretic hormone</i>)
AEE	Agentes estimuladores de eritropoiese
CHGM	Concentração de hemoglobina globular média
CKD-EPI	<i>Chronic kidney disease epidemiology collaboration</i>
DRC	Doença renal crónica
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EPO	Eritropoietina
Hb	Hemoglobina
HGM	Hemoglobina globular média
HIF-1 α	Fator indutível por hipoxia-1 α (<i>hypoxia-inducible factor-1α</i>)
HIF-PHIs	Inibidores da prolil-hidroxilase do fator indutível por hipóxia (<i>hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors</i>)
HIV	Vírus da imunodeficiência humana (<i>human immunodeficiency vírus</i>)
HRE	Elemento de resposta à hipoxia (<i>hypoxia response element</i>)
HTA	Hipertensão arterial
IL	Interleucina
NHANES	<i>National health and nutrition examination survey</i>
OMS	Organização mundial de saúde
PHD	Prolil hidroxilase
PTH	Hormona da paratiroide (<i>parathyroid hormone</i>)
pVHL	Proteína von hippel-lindau
RAC	Razão albumina-creatinina
RDW	Amplitude de distribuição dos eritrócitos (<i>red cell distribution width</i>)
snGFR	Taxa de filtração glomerular por nefrónio (<i>single nephron glomerular filtration rate</i>)

sTfR	Recetor solúvel de transferrina (<i>soluble transferrin receptors</i>)
TEA	Taxa de excreção de albumina
TAC	Tomografia axial computadorizada
TFG	Taxa de filtração glomerular
TGF	Fator de transformação de crescimento (<i>transforming growth factor</i>)
TNF	Fator de necrose tumoral (<i>tumor necrosis factor</i>)
TSAT	Taxa de saturação da transferrina
VGM	Volume globular médio

1. Introdução

O rim desempenha um papel crucial na homeostasia corporal, nomeadamente na regulação hidroeletrolítica. Isto é possível devido à sua capacidade de filtração do sangue e formação de urina com diferentes concentrações de água e produtos de excreção. Além disso, este órgão desempenha funções endócrinas, nomeadamente produção de renina, calcitriol e eritropoietina (EPO), responsáveis pela regulação da pressão arterial, metabolismo ósseo e produção de eritrócitos, respetivamente. A unidade estrutural do rim é o nefrónio, constituído pelos glomérulos e túbulos renais. Enquanto os glomérulos filtram o sangue que chega através da arteríola aferente, os túbulos reabsorvem substâncias necessárias ao organismo, devolvendo-as à corrente sanguínea ou retiram substâncias dos vasos sanguíneos para os túbulos para serem excretadas. (1,2)

O avanço da idade está associado a mudanças na estrutura e função dos rins, podendo tratar-se de envelhecimento renal saudável isolado ou estar eventualmente exacerbado, quando associado a comorbilidades ou doenças renais. (3) Certas patologias, como a doença renal crónica (DRC), são promotoras do processo de envelhecimento renal, que se têm tornado cada vez mais prevalentes. A DRC está associada a diversas complicações, como é o caso da anemia, maioritariamente causada pela diminuição da produção de eritrócitos e sobrevivência dos mesmos e/ou por deficiência em ferro. A anemia da DRC está normalmente associada a estadios mais graves da DRC e ao aumento do risco de eventos cardiovasculares e de mortalidade. (4)

Sendo a DRC considerada um problema de saúde pública mundial e a anemia da DRC uma complicação associada à progressão da doença, o diagnóstico precoce é fundamental para implementar intervenções ou terapias para retardar o progresso da patologia, melhorar a astenia e as funções cognitiva e cardíaca e, consequentemente, melhorar a qualidade de vida do doente. (5)

O objetivo desta monografia é compreender o processo de envelhecimento renal e como este pode progredir para DRC, compreender o desenvolvimento de anemia na DRC e a sua fisiopatologia e, por fim, abordar formas de diagnóstico e tratamento.

2. Envelhecimento Renal

O envelhecimento renal é um processo fisiológico e não patológico que acompanha o avançar da idade. (6) Apesar de limitado, o envelhecimento renal saudável permite ainda manter o equilíbrio homeostático em condições de saúde, ao contrário do que acontece em casos patológicos. No entanto, a associação do envelhecimento com comorbilidades, como hipertensão arterial (HTA), diabetes e obesidade, ou com doenças renais, leva ao aumento ou agravamento dessas alterações. (3) É importante reconhecer um processo normal de envelhecimento fisiológico de modo a adotar uma abordagem clínica adequada. (7) As mudanças que os rins sofrem com a idade distinguem-se em duas categorias: as alterações anatómicas (subdivididas em microestruturais e macroestruturais) e as alterações funcionais, que estão resumidas na **Tabela 1**. As alterações macroestruturais são baseadas em estudos de imagem, como a tomografia axial computadorizada (TAC); as alterações microestruturais são baseadas na análise de biópsias renais. (8,9)

Tabela 1 - Alterações anatómicas e funcionais e respectivas características que ocorrem no processo de envelhecimento renal

Categorias	Características
Alterações anatómicas macroestruturais	Diminuição do volume cortical Aumento do volume medular Aumento da rugosidade da superfície renal Aumento do número de cistos e dos seus tamanhos
Alterações anatómicas microestruturais	Arteriosclerose/Arteriolo-sclerose Glomérulos de aparência isquêmica (deflação global) Glomerulosclerose global Fibrose intersticial Atrofia tubular Diminuição do número de nefrônios Hipertrofia dos túbulos e glomérulos funcionais
Alterações funcionais	Diminuição da TFG total Perda de resposta a vasodilatadores e aumento de resposta a vasoconstritores Diminuição da produção de eritropoietina

Adaptado de Hommos, et al. (3)

2.1. Alterações anatómicas

2.1.1. Alterações macroestruturais

A partir dos 50 anos, está documentada a perda de massa e volume renal, com a atrofia do córtex renal e aumento da medula renal e, conseqüentemente, um declínio do

volume do parênquima renal. (10) Na medula renal, o tecido intersticial aumenta com início de sinais de fibrose e consequente atrofia das pirâmides renais, principalmente a partir dos 70 anos. A superfície renal também sofre alterações, podendo tornar-se mais granulosa e menos fina com produção de cicatrizes de envelhecimento. Por exemplo, é importante diferenciar a granulosidade da superfície renal derivada do envelhecimento renal saudável, das cicatrizes derivadas de pielonefrite. A quantidade de gordura sinusal aumenta ligeiramente com a idade, podendo, ocasionalmente, ser responsável por até 17% do peso do rim *post-mortem*. Os quistos do parênquima renal tornam-se mais frequentes, de maior tamanho e em maior densidade, com a idade (**Figura 1**). O aumento da prevalência de cistos com a idade associa-se a excesso de peso, à presença de HTA, albuminúria e é mais prevalente em indivíduos do sexo masculino. (8,11)

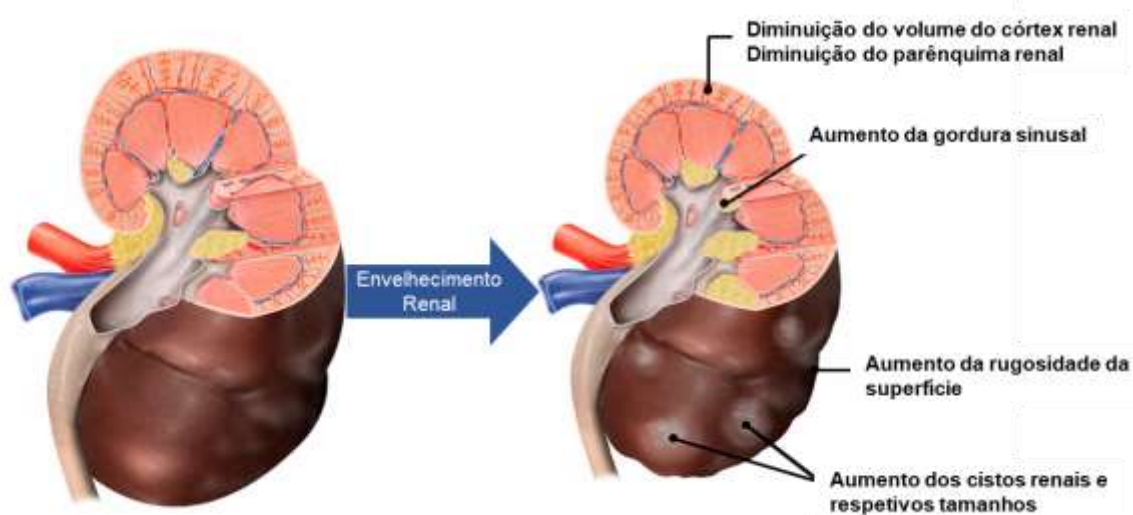


Figura 1 - Alterações anatómicas macroestruturais associadas ao envelhecimento renal saudável. Adaptado de Hommos, et al. (3)

2.1.2. Alterações microestruturais

Nefrosclerose

A nefrosclerose é comumente associada à DRC, mas pode estar presente em caso de envelhecimento renal saudável, sendo que a sua prevalência aumenta progressivamente com a idade. A arteriosclerose e arteriolo-sclerose referem-se ao endurecimento e espessamento das paredes das artérias e arteríolas, respectivamente, devido ao aumento do tecido fibroso e deposição de material hialino na camada mais

interna dos vasos, a íntima. A arteriosclerose pode ser traduzida em isquemia dos nefrônios, resultando em glomerulosclerose e atrofia dos túbulos. Isto é, pode traduzir-se em isquemia dos glomérulos, levando à fibrose glomerular, que se caracteriza pela acumulação de tecido fibroso ao redor da cápsula de Bowman e consequente endurecimento do glomérulo (glomerulosclerose), que resulta na perda de forma dos capilares glomerulares. Em resposta à lesão contínua, a membrana basal glomerular torna-se progressivamente mais espessa, limitando a capacidade de filtração do glomérulo. Os túbulos correspondentes sofrem atrofia com acumulação de fibrose. (8,12) Deste modo, a nefrosclerose envolve arteriosclerose/arteriolasclerose, glomerulosclerose, atrofia tubular e fibrose intersticial. (3)

Hipertrofia dos Nefrônios

Em casos de comorbilidades como diabetes e obesidade, que são bastante prevalentes com o avanço da idade, é comum observar-se hipertrofia dos nefrônios, mais especificamente dos glomérulos e dos túbulos. A hipertrofia dos nefrônios remanescentes é um mecanismo compensatório em resposta à diminuição dos glomérulos funcionais e aumento dos glomérulos escleróticos e hialinos. A hipertrofia provoca o afastamento dos glomérulos e diminuição da densidade glomerular no córtex renal. No envelhecimento saudável, a hipertrofia também se observa nos túbulos, que aumentam de volume. Estes provocam um aumento da área do perfil tubular e da área cortical por glomérulo. (3,13)

Número de Nefrônios

Está descrito que o número médio de nefrônios com glomérulos não escleróticos diminui com o envelhecimento saudável, que associa glomerulosclerose e nefrosclerose. (3,14) No entanto, a taxa de perda de nefrônios aumenta quando associada a comorbilidades como HTA, patologias que afetam os rins, entre outros. Os glomérulos escleróticos podem ser totalmente reabsorvidos ou sofrer alterações, como atrofia, pelo que não são facilmente detetados em amostras de tecidos. (15,16) Deste modo, a perda real de glomérulos com o envelhecimento torna-se difícil de quantificar. (17) Existem ainda outros fatores, não relacionados com o envelhecimento, que influenciam a perda de nefrônios, como o número de nefrônios do neonato e o seu peso à nascença. (3,6,8,18) Um peso baixo à nascença é indicativo de um baixo número de nefrônios, que é compensado pelo aumento da taxa de filtração glomerular por nefrónio (snGFR) e pelo aumento do tamanho do glomérulo, permitindo a estabilidade da taxa de filtração glomerular (TFG). (3,19)

Taxa de Filtração Glomerular por nefrónio (snGFR)

A TFG é considerada a avaliação mais importante da função renal. (3) No entanto, como já referido, existe uma variação considerável no número de nefrónios entre pessoas, devido a causas adquiridas ou hereditárias, e que dificulta a avaliação da função ao nível do nefrónio. (20) A perda progressiva de glomérulos funcionais, devido à glomerulosclerose, provoca uma resposta de compensação traduzida pelo aumento da snGFR e da pressão hidráulica dos capilares glomerulares na tentativa de preservar a TFG total. Esta compensação, no entanto, induz o aumento da tensão nas paredes dos capilares glomerulares, causando hipertensão, hiperfiltração e lesão nos restantes nefrónios. O aumento da snGFR é previsto também noutras doenças associadas ao envelhecimento, como diabetes e DRC.

2.2. Alterações funcionais

2.2.1. Declínio fisiológico da TFG

Com o envelhecimento saudável, a TFG sofre um declínio progressivo, começando após os 30-40 anos de idade. Essa diminuição foi detetada em estudos, que demonstraram um declínio progressivo da filtração glomerular com o envelhecimento, com uma taxa de declínio de 0,8 mL/min/1,73 m²/ano. (21) O declínio da TFG com o envelhecimento pode ser causado pela diminuição da lobulação glomerular e pela glomerulosclerose e, consequentemente, pela redução da superfície disponível para filtração. Além disso, existem outras alterações, como a redução do débito cardíaco e o aumento da resistência arteriolar renal, que também podem reduzir a filtração ao nível do rim. A permeabilidade da barreira de filtração glomerular também é um aspeto estudado. Embora haja relatos de uma maior prevalência de proteinúria em populações acima de 65 anos, apenas uma minoria de doentes saudáveis acima de 80 anos apresenta proteinúria clínica. Há estudos que sugerem que a permeabilidade da barreira de filtração glomerular em humanos é apenas minimamente alterada com o envelhecimento. (6,22)

2.2.2. Alterações Hormonais

O óxido nítrico é um vasodilatador que desempenha um papel crucial na manutenção do fluxo sanguíneo renal e na regulação da pressão arterial. Com o envelhecimento, a produção de óxido nítrico nos rins tende a diminuir. Essa redução

contribui para a retenção de sódio e para o agravamento da diminuição do fluxo plasmático renal. A menor disponibilidade de óxido nítrico também pode aumentar o risco de lesões renais, como glomerulosclerose. (7) Uma das principais mudanças observadas é a vasodilatação endotelial comprometida, causada pela perda de resposta a vasodilatadores, como óxido nítrico e o aumento de resposta a vasoconstritores, como angiotensina II.

Tabela 2 – Valores médios de biomarcadores importantes para a avaliação da função renal em adultos (18-64 anos), idosos (> 65 anos) e idosos com idade mais avançada (> 80 anos)

	Adulto (18-64 anos)	Idoso (> 65 anos)	Idoso com idade considerada mais avançada (> 80 anos)
Hemoglobina (g/dL)	14,7	14,1	14,3
Eritropoietina (U/L)	14	13	17
Clearance de Creatinina (mL/min)	111	71	47
Excreção fracionada de sódio (%)	0,5	1,3	1,4
Excreção fracionada de ureia (%)	30	59	61

Adaptado de Núñez (7)

A resposta renal no idoso está diminuída, refletindo-se em menores valores de renina plasmática, que levam também a valores diminuídos de angiotensina II, um vasoconstritor, através do sistema renina-angiotensina e também a níveis baixos de aldosterona. Esta regulação é de extrema importância, devido à sua capacidade de regular a vasoconstrição dos capilares glomerulares, mas também para a manutenção da homeostase renal, através da indução da secreção de aldosterona e da hormona antidiurética (ADH) e, conseqüentemente, regular a reabsorção de água e de sódio nos túbulos renais. Como ilustrado na **Figura 2**, em resposta a um menor volume sanguíneo, há um aumento da reabsorção de água e sódio. As células da mácula densa detetam a diminuição de filtração de sódio derivado da diminuição da TFG e induzem a produção de renina, que inicia o processo de produção de angiotensina II, através da enzima de conversão de angiotensina (ECA). (23) Desta forma, devido à reabsorção de sódio, às concentrações plasmáticas de renina e aldosterona e à resposta aos seus estímulos estarem diminuídas, a excreção fracionada de sódio está aumentada em idosos (**Tabela 2**). A capacidade de concentração urinária está ainda diminuída em idosos, devido à resposta comprometida à ADH. (24)

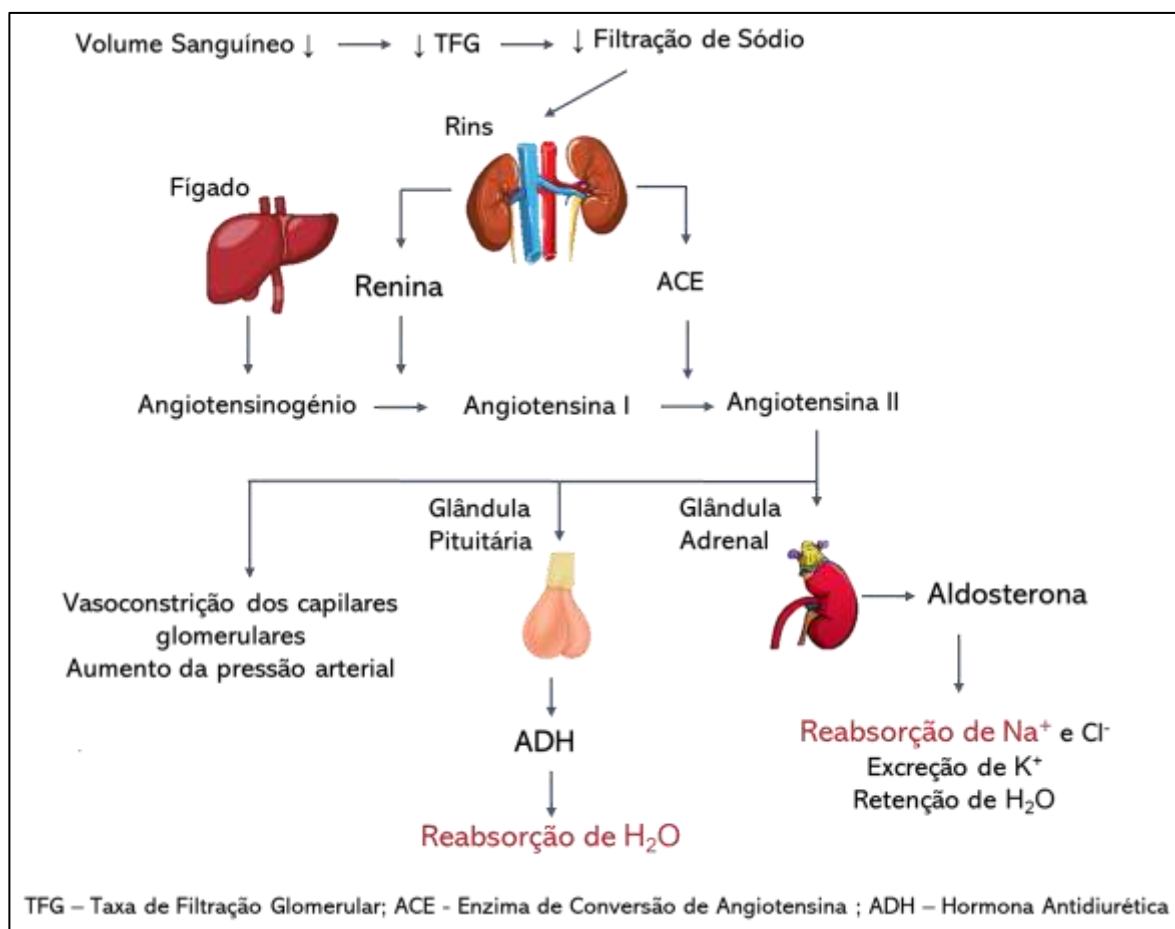


Figura 2 - Sistema renina-angiotensina-aldosterona

A eritropoietina (EPO) é produzida quase exclusivamente pelos rins e é responsável por regular a produção de eritrócitos. Quando a função renal está comprometida, aumenta a prevalência de anemia, devido à produção insuficiente de EPO. Em idosos, observa-se menor síntese de EPO do que no adulto, o que determina uma diminuição no estímulo eritropoiético e na concentração de hemoglobina (Hb) no idoso. No entanto, pode haver uma produção aumentada de EPO, como mecanismo compensatório associado à idade, ao aumento do *turnover* dos eritrócitos ou pelo aumento da resistência à EPO. Assim, ainda que a EPO possa estar aumentada, a resposta parece ser inadequadamente insuficiente. (25,26)

3. Doença Renal Crónica

3.1. Definição e Classificação

A doença renal crónica (DRC) é um problema de saúde pública global definida como presença de lesão renal ou perda progressiva da função dos rins por 3 ou mais meses e é um componente adicional ao envelhecimento que se tem tornado cada vez mais prevalente a nível mundial. A DRC está altamente associada a um risco aumentado de morbimortalidade cardiovascular, mortalidade prematura e diminuição da qualidade de vida. (27,28)

Segundo a *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO), esta patologia é classificada segundo a causa, categoria de TFG e categoria de albuminúria, permitindo categorizar os doentes com DRC, de acordo com a severidade e risco da doença (**Tabela 3**). (29,30) Estes dois parâmetros completam-se mutuamente, sendo marcadores úteis da progressão da DRC. (27)

A albuminúria está dividida em 3 categorias e pode ser calculada pela taxa de excreção de albumina (TEA) em urina de 24h ou pela razão albumina-creatinina (RAC) em urina tipo II, preferencialmente. A RAC tem vantagens em relação à TEA devido aos erros associados à colheita da urina de 24h; pela RAC é possível a colheita de urina ocasional, quando a primeira da manhã não é possível. O uso da creatinina reflete uma referência devido à sua excreção constante ao longo de 24h, proporcionando uma estimativa com menor erro associado. (31–33)

Quanto à TFG, esta pode ser determinada de duas formas: a taxa de filtração glomerular medida (mTFG), onde é medida a clearance (urinária e plasmática) de marcadores de filtração exógenos e a taxa de filtração glomerular estimada (eTFG), onde, através de equações, esta é estimada usando concentrações séricas de marcadores de filtração endógenos. (34) Ambas têm um erro associado, no entanto, a eTFG usando a concentração de creatinina é a mais utilizada uma vez que este biomarcador está rotineiramente disponível nos painéis metabólicos básicos. A eTFG usando concentrações de cistatina C e de creatinina é determinada se for necessária uma medição mais precisa. Por outro lado, é utilizada a mTFG se for necessário evitar o erro residual associados às equações.

Tabela 3 - Classificação da DRC e o seu prognóstico, considerando as categorias de TFG e Albuminúria

				Categorias de Albuminúria TEA (mg/24h) ou RAC (mg/g)		
				A1	A2	A3
				< 30	30 - 300	> 300
				Normal ou ligeiramente elevada	Moderadamente elevada	Severamente elevada
Categorias de TFG (mL/min/1,73 m ²)	G1	≥ 90	Normal ou elevada	-	+	++
	G2	60 - 89	Diminuição ligeira	-	+	++
	G3a	45 - 59	Diminuição ligeira a moderada	+	++	+++
	G3b	30 - 44	Diminuição moderada a severa	++	+++	+++
	G4	15 - 29	Diminuição severa	+++	+++	+++
	G5	< 15	Falência Renal	+++	+++	+++

DRC: doença renal crónica; TFG: taxa de filtração glomerular; TEA: taxa de excreção de albumina; RAC: razão albumina-creatina; Risco de progressão e complicação da doença renal crónica: (-): Risco baixo; (+): Risco moderado; (++) Risco elevado; (+++): Risco muito elevado. Adaptado de KDIGO (30)

Os 5 principais estadios da DRC estão classificadas segundo a eTFG: (33)

- G1: Lesão renal com TFG normal ou aumentada (> 90 mL/min/1,73 m²)
- G2: Lesão renal com redução ligeira da TFG (60 - 89 mL/min/1,73 m²)
- G3a: Lesão renal com diminuição ligeira a moderada da TFG (45 - 59 mL/min/1,73 m²)
- G3b: Lesão renal com diminuição moderada a severa da TFG (30 - 44 mL/min/1,73 m²)
- G4: Lesão renal com diminuição severa da TFG (15 - 29 mL/min/1,73 m²)
- G5: Falência renal (< 15 mL/min/1,73 m²)

No entanto, o valor de TFG pode não ser suficiente para concluir um diagnóstico, principalmente em categorias mais precoces, uma vez que este parâmetro pode não sofrer alterações. Além disso, as primeiras fases da DRC podem ser assintomáticas. Desta forma, a DRC é diagnosticada se, durante 3 ou mais meses, a TFG for inferior a 60 mL/min/1,73m² ou se a TFG for superior a este valor, mas associar um ou mais dos seguintes marcadores de lesão renal: (27,33,35)

- Albuminúria (TEA $\geq$ 30 mg/24h ou RAC $\geq$ 30 mg/g);
- Alterações no sedimento urinário;
- Alterações nos eletrólitos ou alterações causadas por lesões tubulares;
- Anomalias patológicas detetadas por histologia;
- Anomalias anatómicas ou estruturais detetadas por imagiologia;
- História de transplante renal.

Os valores da TFG e da albuminúria devem ser monitorizados, principalmente em doentes mais suscetíveis ao agravamento da DRC. A frequência dessa monitorização é individualizada, dependendo do histórico do doente, da causa da doença renal e dos valores de TFG e RAC anteriores. Estes parâmetros, além de serem a ferramenta de diagnóstico, auxiliam na avaliação do prognóstico do doente, juntamente com os fatores de risco associados à progressão da DRC e à sintomatologia. Muitos doentes com DRC podem ser assintomáticos, principalmente em categorias mais precoces da doença. No entanto, mesmo nessa altura, podem observar-se sinais ou sintomas como urina espumosa, alteração da frequência de urinar, astenia, náuseas, perda de apetite e perda de peso. Em estadios mais avançados da doença, outros sintomas podem surgir, como dificuldade de concentração, parestesia ou edema dos membros, dispneia, vômitos, insónia e halitose (odor a amoníaco). (35)

3.2. Fatores de Risco

A DRC pode ser causada por doenças primárias dos rins. No entanto, é principalmente resultante de outras doenças, como diabetes, HTA, lúpus eritematoso sistémico, infeção por vírus da imunodeficiência humana (HIV), anemia falciforme, infeções renais crónicas, doenças glomerulares, como glomerulonefrite, doença renal policística, entre outros. (35,36)

Os fatores de risco da DRC são divididos entre os que são modificáveis e os que não são modificáveis. Quando um fator potencialmente modificável é identificado, este deve ser corrigido, pois terá impacto na qualidade de vida do doente e na progressão da DRC. Entre os fatores de risco não modificáveis incluem-se (37,38):

- Idade avançada;
- Sexo masculino;
- Raça negra;
- História familiar de DRC ou de doenças cardiovasculares;
- Antecedentes de lesão renal aguda;

- Baixo peso ao nascimento.

Já os fatores de risco modificáveis incluem (37,38):

- Diabetes;
- HTA;
- Obesidade;
- Dislipidemia;
- Acidose metabólica;
- Dieta rica em proteínas;
- Tabagismo.

Existem ainda alguns fatores de risco modificáveis menos comuns, como (39):

- Anemia;
- Hiperuricemia;
- Uso abusivo de fármacos (exemplos: anti-inflamatórios não esteroides (AINE), antibióticos);
- Hipercalcemia;
- Hiperfosfatemia;
- Consumo de plantas nefrotóxicas;

O estudo RENA avaliou a prevalência da DRC em Portugal em aproximadamente 3 mil participantes com idade média de 56,7 anos. Neste estudo, a população estudada tinha histórico de, entre outras condições, HTA (37,9%), dislipidemia (32,2%), diabetes *mellitus* (16,2%) e falência renal (2,3%). Verificou-se que a prevalência global de DRC foi de 20,9% e que esta foi superior em indivíduos com diabetes *mellitus* do que em indivíduos sem esta patologia (31,4% vs 19,8%). Além disso, relativamente à antropometria, foi apurado que indivíduos com peso normal, pré-obesidade, e obesidade de todas as classes apresentaram prevalências de DRC de 18,0%, 45,8% e 36%, respetivamente. (40)

3.3. Prevalência em Idosos

A prevalência de DRC é elevada em idosos, o que se deve maioritariamente ao facto de os fatores de risco mais comuns da DRC serem mais frequentes nestes indivíduos. Assim, além da prevalência mais elevada de diabetes, HTA e doenças cardiovasculares, o declínio da função renal com a idade (traduzido pela redução da eTFG) é responsável pelo aumento da prevalência da DRC em idosos. (39) O estudo NHANES III (*third National Health and Nutrition Examination Survey*) apurou que a prevalência da DRC era de 8,5%,

12,6% e 39,4% em indivíduos de 20-39 anos, 40-59 anos e 60 ou mais anos de idade, respetivamente, o que demonstra o aumento da DRC com a idade. (41)

Estudos epidemiológicos demonstram que a diminuição da eTFG e o aumento da albuminúria em idosos é comum. No entanto, é importante compreender se estas alterações são consequências do envelhecimento saudável ou se resultam de patologia. Estudos prévios demonstram que a prevalência de DRC é significativamente superior em indivíduos com mais de 65 anos do que com menos de 65 anos e, em ambos os casos, existe maior frequência no estadio 3 da doença. (28,42) Independentemente do estadio, é notória a maior prevalência de DRC em indivíduos com idade superior a 65 anos, podendo estar relacionada com os mesmos fatores referidos pelo estudo NHANES III. (28,43)

3.4. Cálculo da TFG em Idosos

O aumento do número de idosos com DRC tem levantado algumas questões, nomeadamente em relação à padronização da eTFG, tornando questionável o *cut off* da eTFG usado no diagnóstico da DRC em idosos. Existem diversos fatores que afetam o metabolismo da creatinina, nomeadamente a idade, género, etnia, consumo proteico diário, malnutrição e medicação. (44) Relativamente à idade, as alterações funcionais e anatómicas ao nível renal, bem como a perda de massa muscular, vão alterar o metabolismo da creatinina e, consequentemente, subestimar o declínio da eTFG. Estas alterações devem ser tomadas em consideração, pois a eTFG calculada para indivíduos idosos pode apresentar menos precisão devido a estes fatores, podendo resultar em resultados menos precisos e efeitos potencialmente nefastos nos cuidados de saúde. (23,44)

Até este momento, já foram propostas mais de 50 equações utilizando a creatinina para o cálculo da eTFG. A primeira equação que foi mundialmente utilizada foi a equação de Cockcroft-Gault (CG) (45), que incluía como variáveis a idade, género, peso e creatinina sérica. No entanto esta contém algumas limitações, nomeadamente o facto de o grupo de indivíduos utilizados para o seu desenvolvimento incluir poucos indivíduos do sexo masculino e ser criada para estimar a *clearance* de creatinina (mL/min), presumindo que esta era uma medição direta da TFG (mL/min/1.73m²), o que não se verifica. (46)

Em 1999, Levey, *et al.* propôs uma nova equação, a MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*). (47) Esta equação é matematicamente mais complexa do que a equação CG e sofreu posteriores alterações. No entanto, continua a ter vantagens em relação à equação de CG, nomeadamente o facto de acrescentar a variável da etnia e excluir a

variável do peso. No entanto, as principais limitações desta equação são o facto de não incluir indivíduos com idades superiores a 70 anos. Tendo em consideração que a creatinina sérica difere com a idade e entre faixas etárias, esta equação tende a subestimar a eTFG, e, por consequência, superestimar a prevalência populacional de DRC. (46)

Em 2009 foi desenvolvida a equação CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) (48), que incluiu doentes com mais de 65 anos bem como diabéticos. Esta é atualmente recomendada pela KDIGO e a mais utilizada globalmente, tendo sofrido uma alteração em 2021, de modo a retirar a etnia como variável e permanecendo a idade, género e a creatinina. No entanto, não deixa de ter limitações nomeadamente a superestimação da eTFG em adultos entre os 18-30 anos, bem como algumas diferenças em relação à etnia. Isto é, como consequência da exclusão da etnia enquanto variável da equação CKD-EPI, esta equação tende a superestimar ligeiramente a TFG em indivíduos de etnia não negra e a subestimar a eTFG em indivíduos de etnia negra. Por outro lado, a equação CKD-EPI que utiliza os dois marcadores (creatinina e cistatina C), provou melhorar a exatidão para ambos os grupos étnicos, com menores diferenças entre estes grupos. (46)

Posteriormente foi também proposta uma equação pelo Berlin Initiative Study (BIS) (49) que está limitada a indivíduos com idade superior a 70 anos e que tinha como objetivo ultrapassar as limitações da equação CKD-EPI, no que diz respeito à idade e etnia. (46)

Atualmente, as diretrizes da KDIGO de 2024 recomendam, em casos gerais, o uso da “CKD-EPI creatinina” de 2021 (33,50) como primeira escolha, mas foi ainda recomendado o uso da equação “CKD-EPI creatinina-cistatina C”, como teste confirmatório, quando necessário (**Tabela 4**). (51) No entanto, esta diretriz refere que, quando se suspeita da existência de alterações no metabolismo da creatinina, tal como acontece nos idosos, o teste inicial deve incluir a cistatina C. A KDIGO refere ainda que são aceites outras equações baseadas na creatinina, se tiver sido provado que têm uma boa exatidão comparada com a CKD-EPI. Além disso, desde a publicação da KDIGO 2012, que além destas, foram também aceites equações desenvolvidas pela EKFC (*European Kidney Function Consortium*) que obtiveram bons resultados quando comparados com as equações CKD-EPI 2009 e 2021, à exceção da população infantil. (33,52)

Tabela 4 - Equações CKD-EPI Creatinina (2021) e CKD-EPI Creatinina-Cistatina C (2021) para o cálculo da taxa de filtração glomerular

Equação CKD-EPI Creatinina (2021)	$eTFG_{cr} = 142 \times \min(S_{cr}/k; 1)^{\alpha} \times \max(S_{cr}/k; 1)^{-1,200} \times 0,9938^{idade} \times 1,012 [se\ mulher]$
Equação CKD-EPI Creatinina-Cistatina C (2021)	$eTFG_{cr-cys} = 135 \times \min(S_{cr}/k; 1)^{\alpha} \times \max(S_{cr}/k; 1)^{-0,544} \times \min(S_{cys}/0,8; 1)^{-0,323} \times \max(S_{cys}/0,8; 1)^{-0,778} \times 0,9961^{idade} \times 0,963 [se\ mulher]$

eTFG_{cr} – Taxa de filtração glomerular estimada através da creatinina; **eTFG_{cr-cys}** – Taxa de filtração glomerular estimada através da creatinina e cistatina C; **S_{cr}** - Creatinina sérica standard (mg/dL); **S_{cys}** – Cistatina sérica standard (mg/dL); **k** = 0,7 (mulher) ou 0,9 (homem); **α** = -0,241 (mulher) ou -0,302 (homem); **min (S_{cr}/k; 1)** = mínimo de S_{cr}/k ou 1,0; **max (S_{cr}/k; 1)** = máximo de S_{cr}/k ou 1,0. Adaptado de *National Kidney Foundation* (n.d.) (53,54)

3.5. Anemia – uma complicação da DRC

A DRC está relacionada com diversas complicações, com diferentes prevalências e severidades, dependendo do estadio da doença. No entanto, estas estão inter-relacionadas e contribuem para o aumento da morbilidade e mortalidade, além de reduzirem a qualidade de vida dos doentes com DRC. As principais complicações da DRC causadoras de uma saúde debilitada incluem HTA, complicações cardiovasculares, distúrbio mineral e ósseo associado à DRC, retenção de água e sais, acidose metabólica, distúrbios eletrolíticos, dislipidemia, problemas nutricionais e anemia. (55,56)

Um estudo de 2023 realizado nos Estados Unidos entre 2016 e 2019, recolheu dados de cerca de 5 milhões de indivíduos e avaliou a relação entre a anemia e a eTFG. Como se pode verificar na **Figura 3**, quanto menor a eTFG, maior a prevalência da anemia. Por exemplo, a anemia severa estava presente em 1,3%, 3,1%, 7,5%, 17,4% e 29,7% dos homens com eTFG de 60-74, 45-59, 30-44, 15-29 e menos de 15 mL/min/1,73m², respetivamente. Já nas mulheres, a anemia severa estava presente em 1,9%, 3,9%, 8,6%, 19,4% e 37,6%, respetivamente, nas mesmas categorias da eTFG atrás referidas. (57)

Um outro estudo de base populacional que envolveu mais de 3000 indivíduos com idade superior a 49 anos (média de idades de 65 anos) concluiu que o aumento persistente dos níveis séricos de creatinina, devido à diminuição da função renal, estava associado a maior prevalência de anemia em ambos os géneros. Com base nos critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS), a anemia foi diagnosticada em 1,6% dos indivíduos com creatinina sérica < 125 µmol/L, em 8% com creatinina sérica entre 150 e 174 µmol/L e em 40% dos doentes com creatinina sérica ≥ 200 µmol/L. (58)

Segundo a KDIGO 2024 *Clinical Practice Guideline* (33), adultos com DRC com estadios G3 e A1 diabéticos e não diabéticos tinham uma prevalência de anemia de 14,9% e 11,5%, respectivamente. Esta prevalência aumenta para 60,7% e 57,4%, respectivamente, em estadios de DRC de G5 e A3, confirmando o aumento significativo de prevalência de anemia com o agravamento da DRC.

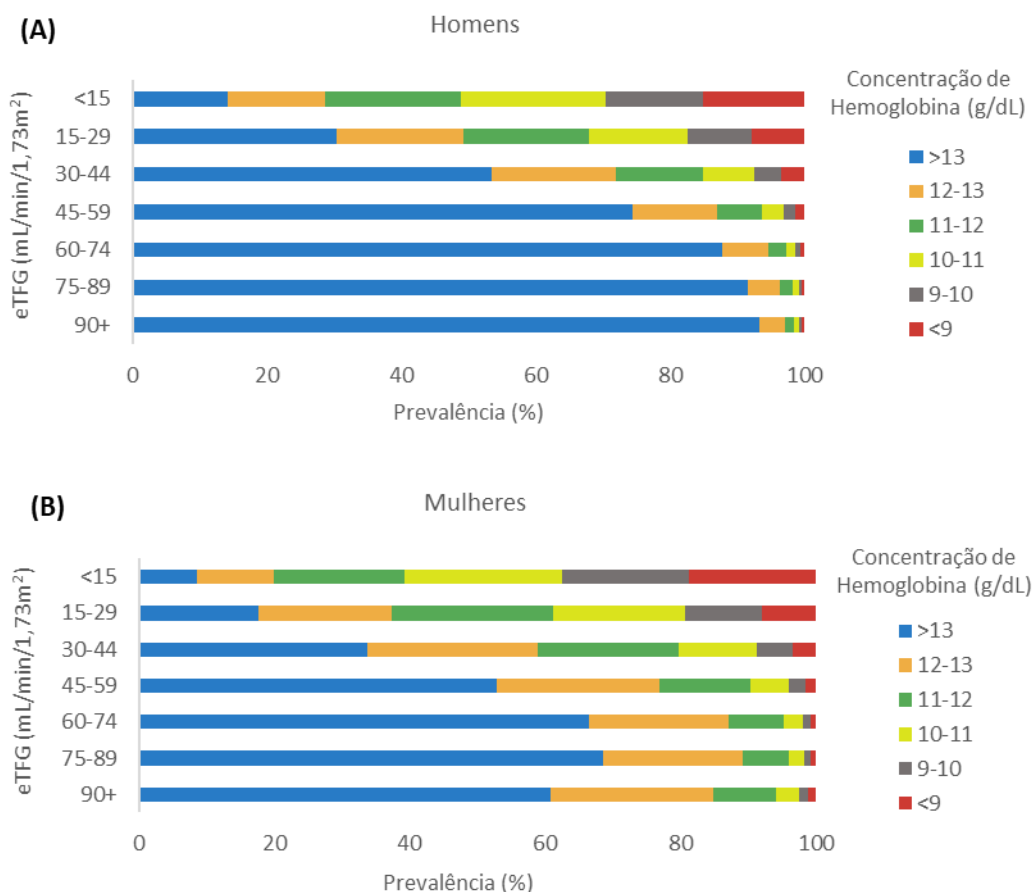


Figura 3 - Prevalência de anemia (%) de acordo com a taxa de filtração glomerular estimada (eTFG) em função da concentração de hemoglobina (g/dL) em (A) homens e (B) mulheres com DRC. Adaptado de Farrington, et al. (57)

4. Anemia no Idoso

4.1. Definição

A anemia é prevalente em idosos, sendo frequentemente subvalorizada por poder ser apenas uma consequência do envelhecimento ou um marcador de patologia. (59,60) A anemia é definida pela OMS de acordo com a concentração da Hb: < 13 g/dL nos homens e < 12 g/dL nas mulheres. (61,62)

A função da Hb é transportar o oxigênio para os tecidos corporais pelo que, em caso de anemia, o fornecimento de oxigênio aos tecidos fica comprometido e é proporcional à gravidade da anemia. Os valores ótimos de concentração de Hb adequados às necessidades fisiológicas variam segundo a idade, sexo, altitude de residência, tabagismo e gravidez. Estes valores foram estabelecidos pela OMS, diferenciando os valores de referência da concentração de Hb entre crianças, mulheres grávidas e não grávidas e homens. A população de referência utilizada para esta determinação não incluiu indivíduos com idade ≥ 65 anos, levantando a questão se esse critério se aplica a idosos. Além disso, esta definição da OMS também não diferenciou os valores de referência entre mulheres pré e pós-menopausa. (61–63) Posteriormente, fizeram-se estudos que avaliaram a prevalência de anemia na população idosa, propondo novas definições de anemia para estes indivíduos. (64–66)

Apesar de a anemia em idosos ser predominantemente ligeira, esta está associada a vários efeitos adversos, incluindo diminuição do desempenho físico, fragilidade, redução da força muscular e, conseqüentemente, aumento do risco de quedas, diminuição do desempenho cognitivo, demência e aumento do risco e do tempo de hospitalização. Alguns estudos demonstraram uma relação inversa entre a concentração de Hb e a força muscular, desempenho físico, incapacidade e mortalidade. (60,67)

A anemia em idosos associa-se a uma série de sintomas associados à fragilidade do idoso, incluindo perda de peso, comprometimento da mobilidade, fraqueza generalizada, falta de equilíbrio e maior vulnerabilidade ao stress, e é definida como uma síndrome geriátrica. (59,68) Além disso, a anemia é responsável por hipoxia tecidual local, ou seja, diminuição da oxigenação tecidual, que pode causar lesões em tecidos e órgãos. A hipoxia do sistema nervoso central ou do coração, por exemplo, pode contribuir para o desenvolvimento e agravamento do declínio físico e cognitivo. (59,62)

4.2. Prevalência

Como referido, a prevalência da anemia varia segundo alguns fatores, como idade, género e etnia. Em relação à associação entre anemia e idade, o estudo InCHANTI (60) avaliou a influência da idade no declínio da função renal associado à redução da produção de EPO e à anemia. Neste estudo foi usada uma amostra de 1005 idosos (com idade ≥ 65 anos) residentes em Itália. Aqui verificou-se que tanto a concentração de Hb como a função renal sofreram um declínio com a idade em ambos os géneros, sendo que o aumento gradual da prevalência de anemia se tornava progressivamente mais evidente com o agravamento da função renal.

Um outro estudo realizado também em Itália (67), envolvendo cerca de 8000 idosos com os mesmos critérios de idade, confirmou esta tendência (**Figura 4**). Observou-se que, entre os 85 e os 89 anos, a prevalência de anemia ligeira, moderada e severa era de 22,1%, 4,2% e 0,3%, respetivamente, e que nos indivíduos com 90 anos ou mais, os valores de prevalências eram de 31,5%, 9,0% e 1,3%, respetivamente. A partir destes dados, o estudo concluiu não apenas que a anemia ligeira tem uma prevalência significativamente superior às restantes, mas também que existe um aumento acentuado de prevalência dos vários patamares de gravidade de anemia em idades mais avançadas. De uma forma geral, considerando todos os estadios de anemia, neste estudo observou-se que a prevalência de anemia em idosos entre os 75-79 anos era de 13,4%, aumentando progressivamente para 19,9%, 26,6% e 41,8% nas faixas etárias de 80-84, 85-89 e 90 ou mais anos, respetivamente.

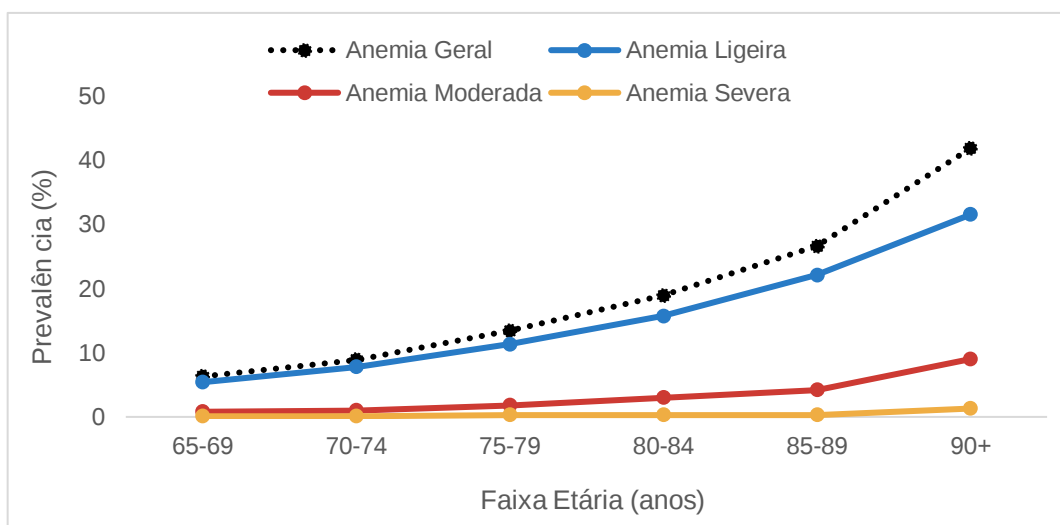


Figura 4 - Prevalência (%) de anemia ligeira, moderada, severa e geral, segundo a faixa etária (anos). Adaptado de Tettamanti, et al.(67)

Outros estudos também corroboraram esta tendência bem como o incremento mais acentuado nas idades mais avançadas. (60,69,70) O estudo Italiano verificou ainda que a prevalência de anemia moderada em casos de hospitalização (13,5%) era significativamente superior à observada em casos de não hospitalização (1,6%). (67) Já um estudo da Nova Zelândia (71) observou uma prevalência de anemia em indivíduos com idade superior a 65 anos de 48%, em que 68% destes apresentavam anemia ligeira a moderada.

Em relação à prevalência de anemia de acordo com o género, é reconhecido que a anemia em idosos afeta mais homens que mulheres. Segundo a *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III), até aos 75 anos a prevalência de anemia é superior nas mulheres. Dos 75 aos 84 anos, há uma diferença de cerca de 5 pontos percentuais entre os dois géneros, sendo superior no homem; com mais de 85 anos a relação volta a inverter-se, com uma prevalência superior na mulher. (62,72,73) Estes dados também foram confirmados pelo estudo InCHANTI, como se observa na **Figura 5**. (60) Com o envelhecimento, os homens apresentam um declínio nos níveis de androgénios, diminuindo a ação estimulante destes na eritropoiese. (74,75) A redução da prevalência de anemia na mulher pós-menopáusica pode estar relacionada com a ausência de menstruação, ou seja, com a diminuição de perdas de sangue, que outrora poderiam ser causadoras de anemia. Devido a estas alterações fisiológicas entre os géneros, em idades avançadas, os valores de referência para o diagnóstico de anemia podem não refletir adequadamente o conceito biológico de normalidade para idosos. (73)

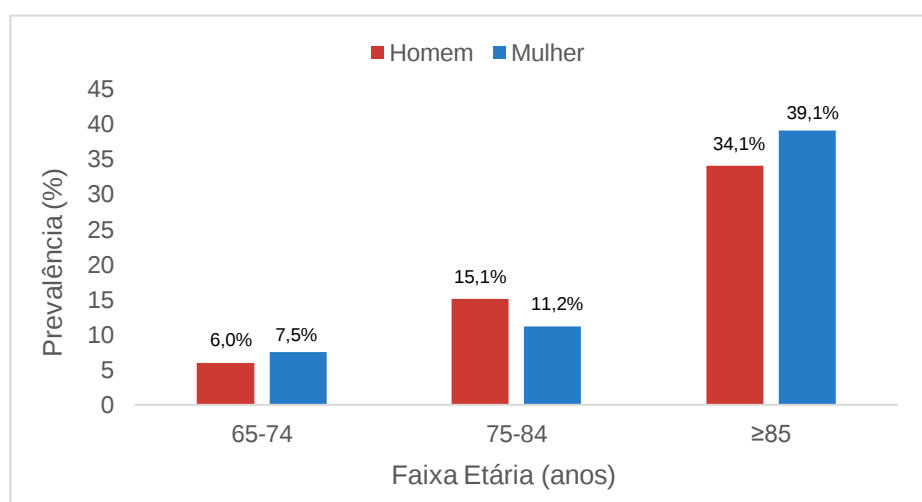


Figura 5 - Prevalência (%) de anemia em idosos segundo a faixa etária (anos) e género. Adaptado de Ble, et al. (60)

A prevalência de anemia varia ainda com a etnia, sendo que os indivíduos de etnia negra apresentam prevalências 2 a 3 vezes mais elevadas de anemia do que a etnia caucasiana, quando aplicados os critérios da OMS. Por exemplo, um estudo realizado nos Estados Unidos em indivíduos de idade avançada (≥ 65 anos) verificou que a prevalência de anemia em homens e mulheres negros não hispânicos era de 27,5% e 28,0%, respetivamente, e de 9,2% e 8,7% em homens e mulheres brancos não hispânicos, de idades semelhantes, respetivamente. Relativamente a homens e mulheres mexicano-americanos, a prevalência de anemia foi de 11,5% e 9,3%, respetivamente. No entanto, a definição de anemia para as diferentes etnias é ligeiramente diferente; um estudo da NHANES III mostrou que a anemia definida pela OMS é um forte indicador de mortalidade e deficiência de mobilidade, entre indivíduos de etnia branca e mexicano-americana, mas que estes critérios não se aplicam na etnia negra. (70,73)

4.3. Etiologia

A etiologia da anemia em idosos pode ser dividida em 3 principais categorias (67,70,76,77):

- Deficiência nutricional – derivada principalmente de deficiência em ferro, ácido fólico e vitamina B12;
- Doenças crónicas – DRC, patologias inflamatórias ou infecciosas e tumores; a anemia deriva em grande parte da sequestração de ferro em macrófagos induzida pela hepcidina;
- Causas desconhecidas.

Num estudo realizado em indivíduos com idades ≥ 65 anos verificou-se que a prevalência de anemia era de 18% e que a etiologia da anemia era distribuída da seguinte forma: 56,6% por deficiência nutricional, 21,1% por neoplasia hematológica, 20,8% por anemia de doenças crónicas e 9,7% por anemia de causa desconhecida. (78)

O estudo NHANES III também analisou a etiologia da anemia em idosos através de uma amostra nacional de mais de 2 milhões de indivíduos com idades ≥ 65 anos. Para o diagnóstico de anemia por deficiência nutricional, foram considerados os valores do ferro, vitamina B12 e folato. A anemia por doenças crónicas foi diagnosticada quando o ferro sérico estava diminuído sem evidências de deficiência em ferro. A anemia da DRC foi considerada quando a eTFG < 30 mL/min e a anemia por causas desconhecidas resultou da exclusão das restantes. Os resultados obtidos estão descritos na **Tabela 5**, onde é possível observar que a distribuição diferia do estudo anterior. É possível destacar que a

anemia por deficiência nutricional, doenças crónicas e por causas desconhecidas tiveram prevalências de 34,3%, 32,2% e 33,6%, respetivamente. Nestas, destacou-se a anemia por deficiência em ferro e a anemia por doenças crónicas inflamatórias. A anemia da DRC neste estudo teve uma prevalência de 8,2%. (70)

Tabela 5 – Distribuição da etiologia da anemia em idosos no estudo NHANES III, que avaliou indivíduos com idade ≥ 65 anos nos Estados Unidos da América

Causas de Anemia em Idosos		Anemia (número de indivíduos)	Anemia (%)
Deficiência Nutricional	Ferro	467.000	16,6
	Folato	181.000	6,4
	Vitamina B12	166.000	5,9
	Folato e vitamina B12	56.000	2,0
	Ferro, folato e vitamina B12	95.000	3,4
	Total	965.000	34,3
Doenças Crónicas	Inflamação Crónica	554.000	19,7
	Doença renal crónica (DRC)	230.000	8,2
	Inflamação Crónica e DRC	120.000	4,3
	Total	904.000	32,2
Causas Desconhecidas	-	945.000	33,6
Total		2.814.000	100

Adaptado de Guralnik, *et al.* (70)

No entanto, a categorização da etiologia da anemia no idoso utilizada nestes artigos tem limitações, nomeadamente o facto de os casos considerados inexplicáveis serem apenas a exclusão das outras duas categorias. Na verdade, a anemia no idoso é frequentemente multifatorial e derivada de comorbilidades que são frequentes em indivíduos de idade avançada (aproximadamente 40% de indivíduos com idade >80 anos apresentam 4 ou mais comorbilidades). (79–81) Um estudo realizado em mais de 19 mil indivíduos com idades ≥ 64 anos, na Áustria, concluiu que a anemia multifatorial era observada frequentemente. A título de exemplo, a coexistência de uma insuficiência renal (eTFG diminuída) e o aumento de marcadores inflamatórios, tiveram uma prevalência de 28,1%. (80) A determinação da causa da anemia é de extrema relevância para que o tratamento aplicado seja o mais adequado. Porém, a existência de comorbilidades, bem como o uso de múltiplos fármacos dificultam o diagnóstico em doentes idosos.

4.3.1. Anemia por deficiências nutricionais

A principal causa de anemia por deficiências nutricionais em idosos é a deficiência de ferro, sendo este tipo de anemia associado a microcitose. O seu diagnóstico é essencial para tratar sintomas e identificar a causa da deficiência em ferro, que, com frequência, está relacionada com patologias do trato gastrointestinal superior ou inferior, como por exemplo, gastrite, úlcera péptica, pólipos gastrintestinais, cancro e doença inflamatória intestinal. (82) O diagnóstico envolve a avaliação de diversos parâmetros, como a ferritina sérica, transferrina, ferro sérico, capacidade total de fixação de ferro e o recetor solúvel de transferrina (sTfR). Além disso, a Hb globular média (HGM), que é indicadora de hipocromia quando está reduzida e o volume globular médio (VGM) que, quando reduzido, é indicador de microcitose, também são úteis na classificação morfológica da anemia. (82,83)

Embora a suplementação alimentar tenha reduzido a deficiência de folato, esta ainda ocorre, devido à malnutrição e alcoolismo. (84,85) Já a deficiência de vitamina B12 é principalmente devida a uma síndrome de má absorção de cobalamina e pode também dever-se a má absorção, em caso de gastrite atrófica ou uso terapêutico de antiácidos. Ao contrário da deficiência em ferro, a anemia por deficiência em vitamina B12 e/ou folato é macrocítica. (82)

4.3.2. Anemia derivada de doenças crónicas

A anemia de doença crónica, que inclui a anemia da DRC, está associada a infeções agudas ou crónicas, doenças oncológicas e doenças inflamatórias crónicas. Essa anemia é tipicamente normocítica e normocrómica, com reduções ligeiras a moderadas na concentração de Hb. Nestas anemias, a hepcidina desempenha um papel crucial na sua fisiopatologia, inibindo a absorção de ferro pelo enterócito, bem como a sua libertação pelos macrófagos, reduzindo o ferro disponível para a eritropoiese. O diagnóstico pode ser complicado devido a condições coexistentes, como deficiência em ferro e talassemias, que podem tornar a anemia microcítica, mas a avaliação dos parâmetros do metabolismo do ferro, como transferrina, sTfR e ferritina sérica podem auxiliar no diagnóstico. (82,86) No entanto, o diagnóstico pode passar pela avaliação de marcadores inflamatórios, como a proteína C reativa, velocidade de sedimentação, interleucina-6 (IL-6) e hepcidina. (82,87)

4.3.3. Anemia de causas desconhecidas

A anemia de causas desconhecidas em idosos é normalmente ligeira e do tipo normocítica e hipoproliferativa. Esta é diagnosticada quando as deficiências nutricionais, doença renal crónica ou condições inflamatórias são excluídas. Este tipo de anemia pode estar associado a vários mecanismos fisiológicos relacionados com a idade, como declínio da função renal, deficiência em androgénios, inflamação crónica de baixa intensidade associada ao envelhecimento (*inflammaging*), síndromes mielodisplásicas e resposta comprometida à EPO. (79,88,89) Estes doentes comumente apresentam níveis de eritropoietina mais baixos do que nos casos de deficiência em ferro, o que sugere a presença de um estado pró-inflamatório sub-clínico. (88,90)

4.4. Anemia da DRC

A anemia da DRC é principalmente devida à diminuição da produção de eritropoietina pelo rim e, consequentemente, de eritrócitos, bem como à diminuição da sobrevivência dos mesmos. (4) Esta é predominantemente normocrómica, normocítica e hipoproliferativa (**Figura 6**), ocorrendo habitualmente em estadios mais graves da doença. Em casos de deficiência em ferro, também comum na DRC, a anemia microcítica também pode ser comum, acentuando-se o declínio da concentração de Hb. (4,91) Outras causas que podem exacerbar a anemia da DRC, incluem perda sanguínea, inflamação e outras deficiências nutricionais para além da deficiência em ferro. (92,93)

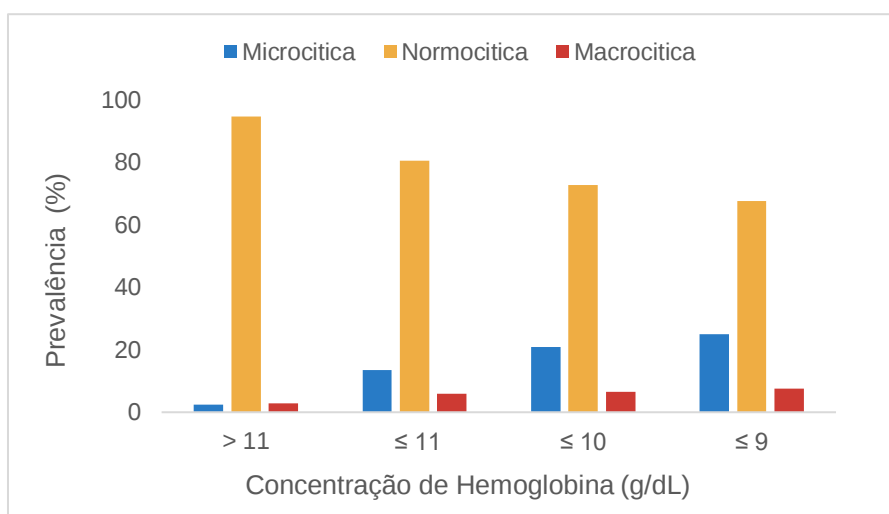


Figura 6 - Prevalência (%) de anemia microcítica, normocítica e macrocítica em indivíduos com doença renal crónica (DRC) com diferentes concentrações de hemoglobina (g/dL). Adaptado de Dmitrieva, et al. (91)

4.4.1. Fisiopatologia

A eritropoiese é um processo fisiológico complexo regulado pela EPO e que mantém a homeostasia dos níveis de oxigênio no corpo, uma vez que é responsável pela regulação da produção de eritrócitos. (4) A EPO é produzida pelas células intersticiais peritubulares no córtex e na camada exterior da medula renal e, na sua presença, as células eritroides proliferam e diferenciam-se na medula óssea. Na sua ausência, as células progenitoras sofrem apoptose. (94,95) Esta hormona é, no entanto, regulada pelo fator indutível por hipoxia (HIF), um fator de transcrição que promove a eritropoiese, não só promovendo a produção de EPO pelos rins, como melhorando a absorção e utilização do ferro. Este mecanismo está detalhado na **Figura 7**. (96)

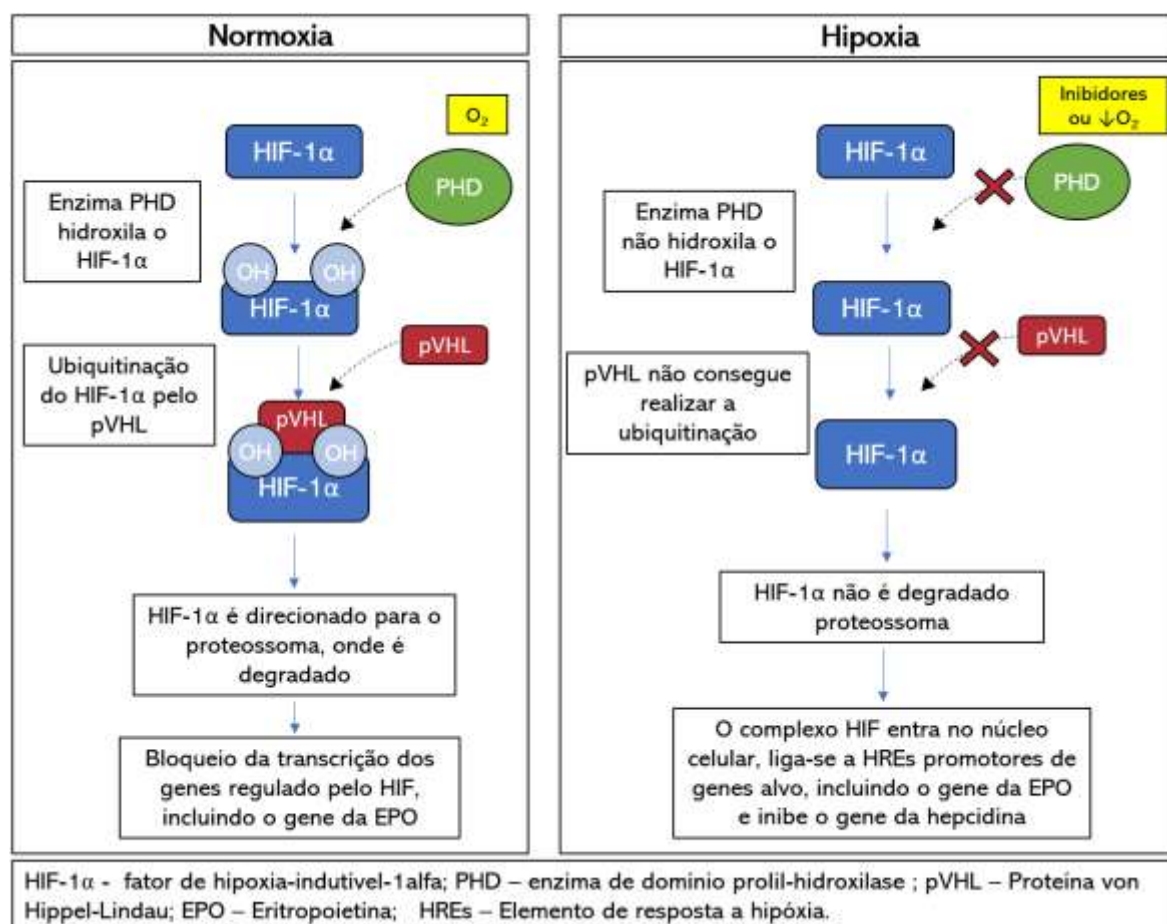


Figura 7 - Mecanismo de regulação do fator indutível por hipóxia em normoxia e hipoxia

Em condições de normoxia, a presença de oxigênio (O_2) permite a ativação da enzima de domínio prolil-hidroxilase (PHD). A PHD hidroxila resíduos de prolina do HIF-

1 α . De seguida, a proteína von Hippel-Lindau (pVHL) reconhece o HIF-1 α hidroxilado, liga-se e procede à sua ubiquitinação. O HIF-1 α ubiquitinado é direcionado para o proteossoma, onde é degradado. Desta forma, sem a formação do complexo HIF, há um bloqueio da transcrição de genes regulados por este, incluindo o gene da EPO (eritropoietina). Em condições de hipoxia, a atividade da PHD é inibida, o HIF não é hidroxilado, a pVHL não ubiquitina o HIF-1 α , pelo que o complexo HIF entra no núcleo e liga-se ao elemento de resposta a hipoxia (HRE), aumentando a transcrição de genes, como o da EPO, e a inibição do gene da hepcidina.

A maior fonte extra-renal de EPO é o fígado. No entanto, o mecanismo de expressão génica de EPO é diferente do que ocorre nos rins, nomeadamente o facto de ser muito menos sensível aos estímulos de hipoxia. (97–99) Em doentes com DRC, o oxigénio que chega aos rins é reduzido, em parte devido à redução do fluxo sanguíneo. Assim, o tecido renal precisa de se adaptar a um menor consumo de oxigénio, considerando o novo gradiente de oxigénio nos tecidos normal. Consequentemente, a PHD permanece ativa, não havendo formação do heterodímero HIF e o gene da EPO não é ativado. Além disso, sendo a DRC uma condição inflamatória, há produção de citocinas inflamatórias, incluindo a IL-1 α , IL-1 β , TGF- β e TNF- α , que inibem a produção de EPO.

A homeostasia do ferro é assegurada por um processo que regula a absorção e secreção de ferro, para evitar a anemia ou a hemocromatose. Como o organismo apenas absorve uma quantidade muito pequena de ferro diariamente, a maioria do ferro usado na eritropoiese provém da reciclagem do ferro de eritrócitos senescentes que foram fagocitados por macrófagos reticuloendoteliais especializados. Desta forma, quando os níveis de ferro sérico estão diminuídos, a absorção de ferro no trato gastrointestinal aumenta, mas apenas dentro de certos limites (aumento até 20%), pois a sua absorção é mediada por recetores; neste caso, a mobilização do ferro dos macrófagos também aumenta. Pelo contrário, quando os níveis de ferro sérico estão aumentados, a absorção de ferro no trato gastrointestinal, bem como a mobilização do ferro dos macrófagos diminuem. (96) Sendo o ferro um componente essencial para o grupo heme presente na Hb, a deficiência em ferro traduz-se na diminuição da síntese de Hb e consequentemente na hipocromia e microcitose dos eritrócitos. Os níveis baixos de Hb induzem hipoxia, promovendo a estimulação da produção da EPO pelas células peritubulares dos rins e aumentam a eritropoiese. No entanto, se a deficiência em ferro permanecer, a eritropoiese deficiente mantém-se. (4,96)

A hepcidina é um péptido produzido pelos hepatócitos e que é livremente filtrado pelos glomérulos, podendo ser mensurável na urina. A função deste péptido é ligar-se à

ferroportina (proteína exportadora de ferro), formando um complexo hepcidina-ferroportina. Este complexo é internalizado e posteriormente degradado nos lisossomas. Consequentemente, a libertação do ferro para a corrente sanguínea diminui, bem como a libertação do ferro pelos macrófagos. Quando os níveis de hepcidina estão diminuídos, a ferroportina desenvolve uma atividade superior à normal, fazendo com que o ferro ingerido na dieta seja mais absorvido no intestino. (100,101) Quando desregulado, este mecanismo pode resultar na condição patológica hemocromatose. (102) Já quando a hepcidina está aumentada, a atividade da ferroportina é suprimida, conduzindo à anemia, comum em casos de inflamação, falência renal e doenças crónicas. (96) De facto, em condições inflamatórias e de doenças crónicas, como a DRC, existe uma produção aumentada de citocinas, como IL-1, IL-6, TNF- α e interferão- γ que estimulam a produção de hepcidina, reduzem a produção de EPO e a eritropoiese. (4,97,103)

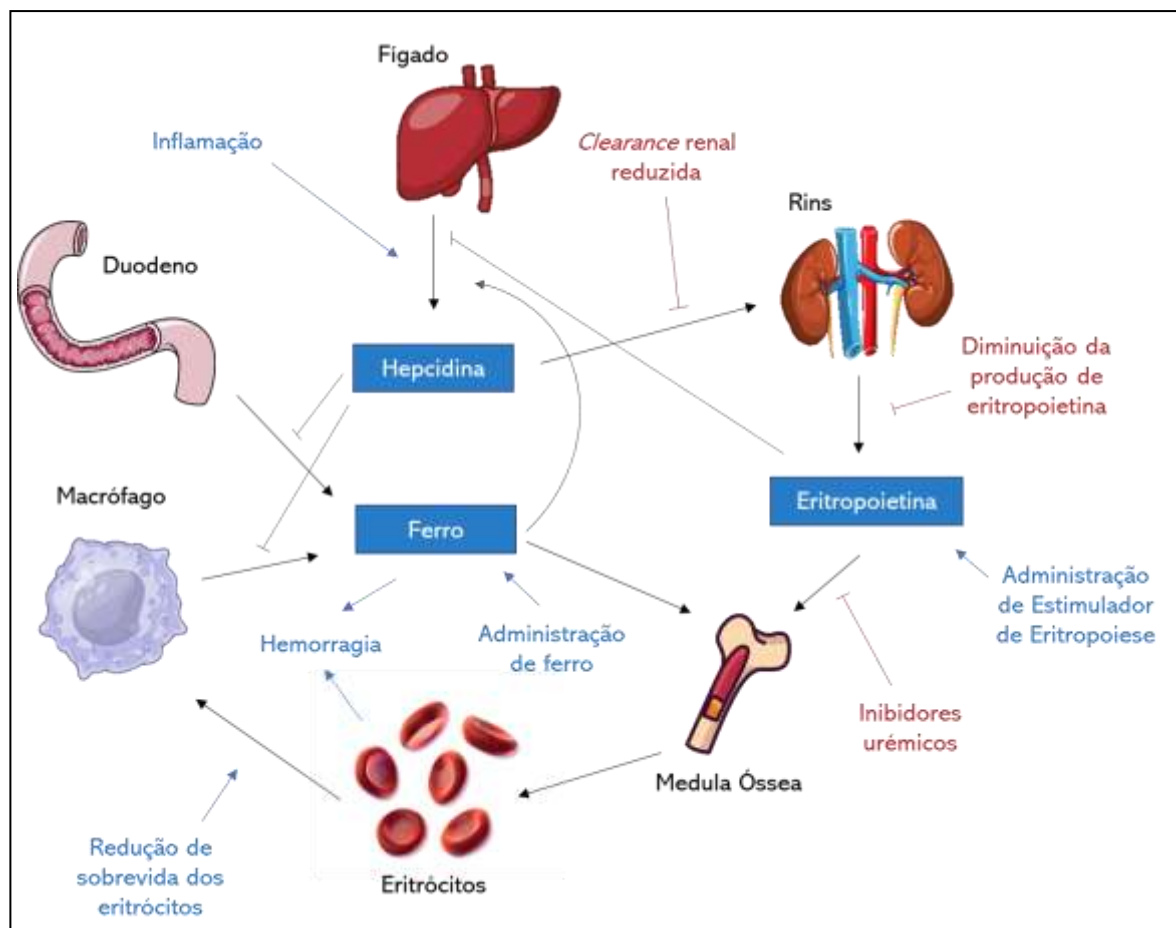


Figura 8 - Mecanismo da fisiopatologia da anemia da doença renal crónica. Adaptado de Farinha, et al. (4)

Os mecanismos que levam à anemia da DRC são, então, multifatoriais. Como esquematizado na **Figura 8**, na fisiopatologia da DRC participam a progressiva redução da produção de EPO, a resposta reduzida da medula óssea aos estímulos da EPO (devido a toxinas urêmicas e citocinas supressoras da eritropoiese) e a diminuição do tempo de semivida dos eritrócitos. Além disso, o aumento da produção da hepcidina devido à inflamação sistêmica derivada da DRC levam ao uso ineficaz dos *stocks* de ferro, traduzindo-se em deficiência absoluta ou funcional em ferro, que pode ser severa, devido a hemorragias ou má absorção de ferro.

4.4.2. Diagnóstico

Nos doentes com DRC é comum o desenvolvimento de uma anemia progressiva e debilitante que, se não for tratada, pode induzir uma dependência de suporte transfusional. (104) Segundo o NHANES (105), a concentração de Hb mantém valores normais durante as primeiras fases da insuficiência renal, mas inevitavelmente sofre um decréscimo com o declínio da eTFG e com o agravamento da DRC. As manifestações clínicas associadas à anemia da DRC são comuns a quaisquer outras anemias de causas diferentes, pelo que os sintomas observados de fadiga, toracalgia, taquicardia, dispneia e alterações do padrão do sono, são inespecíficas para a anemia da DRC. (4) É muito importante apurar outras causas da anemia, antes de se iniciar qualquer tratamento, já que algumas destas causas podem ser corrigidas, como deficiências de ferro, vitamina B12 ou folato, hipotireoidismo, hemólise, perdas de sangue, distúrbios de medula óssea e neoplasias hematológicas. (104,105)

O hemograma é parte das análises de rotina para avaliação do estado de saúde em adultos. Segundo a KDIGO *Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease*, a concentração de Hb que define anemia depende do género e da idade, de acordo os valores estabelecidos pela OMS. (106) A avaliação da anemia em doentes com DRC, independentemente da idade e estadio da doença, deve incluir:

- Hemograma (eritrócitos/L de sangue, concentração de Hb, hematócrito, índices hematimétricos (VGM, HGM e concentração de hemoglobina globular média (CHGM)), contagem total e diferencial de leucócitos e plaquetas/L);
- Contagem de reticulócitos percentual e absoluta e índices de maturidade dos reticulócitos;
- Ferritina sérica;

- Saturação de transferrina sérica;
- Folato e vitamina B séricos.

O hemograma permite apurar a gravidade da anemia. Já a contagem de reticulócitos permite avaliar a resposta da medula óssea. A concentração de Hb é o parâmetro mais recomendado para o diagnóstico de anemia. No entanto, para especificar a anemia da DRC e excluir outras causas de anemia, é possível ter em consideração outros parâmetros que permitem informar sobre a morfologia dos eritrócitos, como a VGM, HGM, CHGM e RDW (amplitude de distribuição dos eritrócitos). A anemia da DRC é frequentemente normocrômica, normocítica e hipoproliferativa, tal como acontece em outras doenças crônicas. Casos de distúrbios hereditários de formação de Hb, como as talassemias ou anemia falciforme, apresentam geralmente microcitose, tal como acontece em casos de anemia por deficiência em ferro. Neste tipo de anemia, a hipocromia também é comum. A anemia por deficiência em vitamina B12 e folato, pelo contrário, é geralmente macrocítica, tal como acontece em distúrbios de hematopoiese, resultante da ação de toxinas, ou associado a hipotireoidismo, doenças hepáticas, hemorragias severas e em caso de mielodisplasia, em que à macrocitose se associa leucopenia ou trombocitopenia. (106) No que diz respeito à HGM e CHGM, a hipocromia é indicadora de deficiência em ferro prolongada ou hemoglobinopatia, como talassemias ou anemia falciforme. Pelo contrário, a hiperchromia pode estar relacionada com síndrome hemolítico-urémico. Além disso, a execução de um esfregaço de sangue periférico permite examinar manualmente a morfologia celular e identificar possíveis anormalidades. (106,107)

A contagem de reticulócitos permite, como referido, avaliar a resposta da medula óssea à anemia, classificando-a do ponto de vista cinético. Um valor normal de reticulócitos acompanha concentrações de Hb normais. Quando este parâmetro está diminuído, há baixa atividade eritropoiética na medula óssea (eritropoiese hipoproliferativa), que tanto pode ser resultado de níveis baixos de EPO em circulação, como também ser devido à supressão da medula óssea pelas citocinas ou outros componentes resultantes do processo inflamatório. Os reticulócitos podem estar elevados em caso de hemorragia e de hemólise. (106)

O estudo do metabolismo do ferro é utilizado para avaliar se existe ferro armazenado, e se existe ferro disponível para a eritropoiese. Para isso, são avaliados os parâmetros ferritina e saturação da transferrina, respetivamente. (104) A saturação da transferrina (TSAT) é calculada da seguinte forma:

$$TSAT = \frac{\text{ferro sérico}}{\text{capacidade total de ligação do ferro}} \times 100. \quad (106)$$

No entanto, é considerado que estes dois parâmetros não permitem avaliar com precisão o armazenamento de ferro na medula óssea. (104,106)

Tal como está esquematizado na **Figura 9**, valores diminuídos de ferritina (≤ 100 ng/mL) e TSAT ($\leq 20\%$) são indicativos de deficiência em ferro, indiciando deficiência em ferro disponível para a eritropoiese. Nas doenças crónicas, como no caso da DRC, os valores de ferro armazenado nos macrófagos da medula óssea podem ser normais, mas impossibilitados de serem libertados devido à ação da hepcidina. A ferritina é um marcador inflamatório, pelo que a sua interpretação deve ser realizada com cautela em doentes com DRC, pois a inflamação está presente nestes doentes. (106)

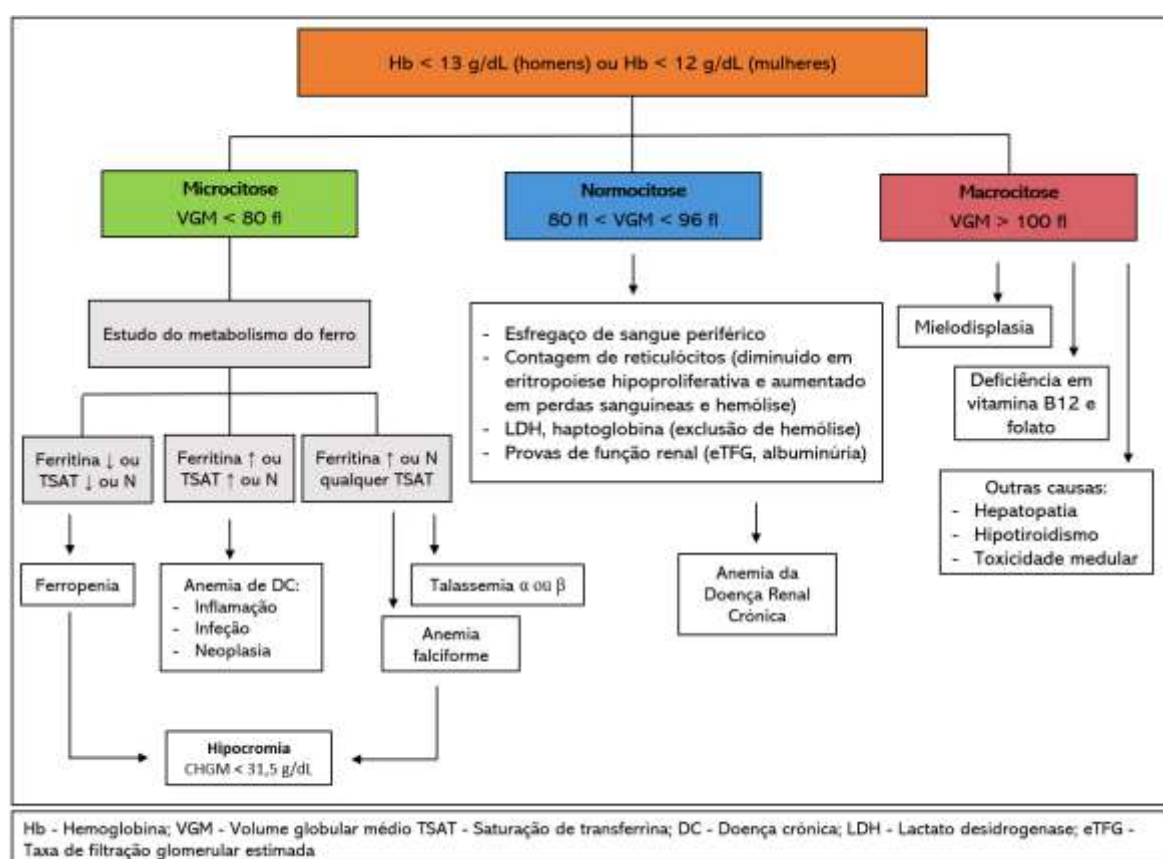


Figura 9 - Esquematização do diagnóstico diferencial da anemia da doença renal crónica. Adaptado de Farinha, *et al.*, 2022 (4)

Desta forma, doentes diagnosticados com DRC devem ser monitorizados, pois, como já foi abordado, a prevalência da anemia aumenta com o declínio da eTFG e com o agravamento da DRC. De acordo com a KDIGO *Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease*, a frequência de monitorização da anemia é realizada de acordo com a severidade da anemia, independentemente do estadio da DRC. Assim, quanto mais severa for a anemia, se já diagnosticada, mais frequente deve ser a sua monitorização. De maneira a identificar doentes com DRC que possam precisar de tratamento, é necessário

aumentar a frequência de monitorização da concentração de Hb, principalmente em categorias mais avançadas da doença. (106)

4.4.3. Tratamento

O tratamento da anemia da DRC é normalmente uma associação de vários tratamentos e é individualizada para cada doente e respetivo caso clínico. A *KDIGO Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease* de 2012 aborda o uso de diversos agentes terapêuticos, como a suplementação de ferro, agentes estimuladores de eritropoiese (AEE) e transfusões sanguíneas. Além disso, foi discutido em 2021 numa conferência organizada pela KDIGO uma nova classe de agentes, os inibidores da prolil-hidroxilase do fator indutível por hipoxia (HIF-PHIs). (92,106) As vantagens e desvantagens associadas a cada um estão resumidas na **Tabela 6**.

Suplementação de ferro

A causa mais comum da anemia da DRC é a insuficiência em EPO, seguida da deficiência em ferro, seja esta absoluta (por falta de ferro total armazenado), ou funcional (por falta de capacidade de mobilizar o ferro armazenado, para ser utilizado na medula óssea, para a eritropoiese). (104) Em caso de deficiência em ferro, antes de proceder a quaisquer tratamentos, a deficiência em ferro deve ser tratada, pois esta pode ser um impasse à eficácia dos outros tratamentos. No entanto, em estadios mais avançados da DRC e mais especificamente em doentes em programa regular de hemodiálise, a suplementação de ferro pode ser ineficaz, uma vez que os níveis de EPO estão demasiado baixos para estimular a atividade eritropoiética na medula óssea; nestes casos, são requeridos tratamentos mais avançados, nomeadamente com AEE. (104,108) Além disso, a suplementação de ferro não é recomendada em casos de infeção sistémica ativa, uma vez que o ferro é considerado um fator de risco para a aquisição de certas infeções, já que é essencial para o crescimento e proliferação de patógenos como bactérias, vírus, fungos, parasitas e helmintas. (108) Desta forma, é importante avaliar os potenciais benefícios, como a minimização de transfusões sanguíneas, o recurso a terapias mais avançadas e a redução da sintomatologia associada à anemia da DRC, com os potenciais riscos de ineficácia e efeitos adversos.

Quanto ao modo de administração da suplementação de ferro, é uma decisão entre o clínico e o doente, que devem considerar as vantagens e desvantagens associadas a cada um, bem como os seguintes fatores: gravidade da deficiência em ferro, disponibilidade de acesso venoso, probabilidade de resposta à terapia, potenciais efeitos

adversos e custo do tratamento. (104,108,109) Apesar da via oral ser menos dispendiosa, rapidamente disponível e não requerer acesso intravenoso, a absorção intestinal do ferro no duodeno pode estar condicionada pela regulação positiva da hepcidina. Além disso, pode requerer um maior período de administração para ter efeito e existem mais efeitos adversos associados. A via intravenosa torna-se necessária para a maioria dos doentes em diálise, devido à preocupação da absorção intestinal do ferro. No entanto, requer a deslocação do doente, a presença de profissionais especializados e ainda o acesso intravenoso. Esta via de administração foi associada, ainda, a reações adversas que, apesar de raras, são muito severas. (104,108)

A suplementação de ferro é frequentemente usada, uma vez que além de tratar a deficiência em ferro e prevenir o seu desenvolvimento em doentes em tratamento com AEE, permite aumentar os níveis de Hb e reduzir as doses de AEE em doentes que fazem este tratamento. Segundo a KDIGO (2012), o início do tratamento de suplementação de ferro depende do objetivo e dos valores de ferritina e TSAT. Nos doentes com anemia da DRC não tratados com ferro ou AEE pretende-se aumentar a concentração de Hb retardando o início do tratamento com AEE. Já nos doentes com anemia da DRC em terapia com AEE, pretende-se aumentar a Hb e/ou diminuir a dose de AEE. Em ambos os casos, é recomendado o início de um teste de suplementação de ferro intravenoso, quando os níveis de TSAT são $\leq 30\%$ e a ferritina é ≤ 500 ng/mL. Também em ambos os casos, se se tratar de doentes não dependentes de diálise, a KDIGO recomenda um teste de 1 a 3 meses de ferro oral. Além disso, os valores de ferritina e TSAT devem ser monitorizados em cada 3 ou 4 meses, principalmente em doentes em tratamento de diálise. (108)

Terapia com AEE

Depois de outras causas da DRC serem excluídas ou tratadas, a KDIGO recomenda o tratamento com AEE, que, à semelhança da EPO, induzem a atividade eritropoiética na medula óssea. (104,108) Os AEE atuam ligando-se aos recetores de EPO nas células progenitoras da medula óssea, promovendo a diferenciação e proliferação dessas células em eritrócitos maduros. Corrigir a anemia com AEE pode melhorar a capacidade funcional, a qualidade de vida e até reduzir o risco de hospitalizações. As novas moléculas de AEE, apresentam tempos de semi-vida maiores, diminuindo a frequência da sua administração. Todos os AEE podem ser usados para corrigir a anemia, mas são necessários cuidados com as doses usadas, pois atingindo-se valores de Hb muito elevados, aumenta o risco de eventos cardiovasculares, como AVC e tromboembolismo venoso. A escolha do agente a administrar depende do clínico, do doente e da sua disponibilidade e acessibilidade, bem como dos custos associados. (104)

As três decisões importantes que devem ser tomadas sobre o tratamento com AEE são quando iniciar o tratamento, qual o valor de Hb que se pretende atingir e qual o tipo de AEE a usar. Esta decisão deve ser individualizada para cada doente, mas, as *guidelines* internacionais não recomendam o tratamento com AEE quando o valor de Hb é ≥ 10 g/dL em doentes não dependentes de diálise, devido à razão benefício-risco ser desfavorável. Esta terapia pode melhorar a qualidade de vida dos doentes e diminuir a necessidade de transfusões de sangue em doentes aptos para iniciar o tratamento, que são doentes com Hb persistente em valores inferiores a 10 g/dL e/ou doentes sintomáticos. (104,109,110)

Transfusões de sangue

As transfusões de concentrado de eritrócitos são recomendadas em casos de anemia severa, ou seja, quando os níveis de Hb estão extremamente baixos e na presença de sintomatologia acentuada. Além disso, também são recomendadas para a prevenção de eventos cardiovasculares bem como em situações em que outros tratamentos, como AEE ou suplementação de ferro, são insuficientes, inadequados ou contraindicados. Apesar de as transfusões de concentrado de eritrócitos oferecerem a forma mais rápida de aumentar os níveis de Hb em situações de emergência, para estabilizar hemodinamicamente o doente, este tratamento está associado a diversos riscos. Alguns dos riscos associados a transfusões sanguíneas incluem a sobrecarga de volume sanguíneo, hipercalcemia, alcalose metabólica e hipocalcemia derivadas da toxicidade de citrato, coagulopatia, aloimunização, sobrecarga de ferro, entre outros. (111)

Segundo as recomendações da KDIGO para as transfusões de concentrado de eritrócitos para tratamento da anemia da DRC, estas devem ser reservadas para casos emergentes de sintomas severos e para doentes para os quais esteja contraindicado o tratamento com AEE. (111)

HIF-PHIs

Os HIF-PHIs são uma nova classe de medicamentos desenvolvidos para o tratamento da anemia da DRC. Estes oferecem uma nova abordagem terapêutica, pois inibem a ação da enzima PHD, responsável pela degradação do HIF. Assim, com o aumento dos níveis do HIF, induzido por este medicamento, é estimulada a produção de EPO e regulados os genes relacionados com o metabolismo do ferro. Estes agentes têm demonstrado eficácia na correção da anemia, especialmente em doentes com inflamação, que demonstram resistência aos EAA. Os HIF-PHIs têm a vantagem de, além da produção da EPO ser endógena, serem administrados por via oral, o que aumenta a adesão ao tratamento. Além disso, este tratamento tem efeitos pleiotrópicos, ou seja, melhora a

utilização do ferro e previne a progressão da DRC. No entanto, existem potenciais riscos associados aos HIF-PHIs, nomeadamente risco acrescido de eventos cardiovasculares, crescimento de tumores, entre outros. Os HIF-PHIs são recomendados para DRC dependentes e não dependentes de diálise, mas a escolha do agente específico é individualizada para cada doente e para o seu caso clínico. (92,104,109)

Tabela 6 - Vantagens e desvantagens associados aos vários tratamentos da anemia da doença renal crónica

Agentes	Vantagens	Desvantagens
Transfusão de eritrócitos	Correção imediata da anemia em caso de urgência	- Risco de aloimunização - Risco de sobrecarga de ferro - Risco de sobrecarga de volume sanguíneo - Risco de hipercalcemia - Risco de alcalose metabólica e hipocalcemia - Risco de respostas imunológicas e inflamatórias adversas
Ferro	Sem efeitos adversos relacionados com a toma oral	- Na toma oral, a absorção intestinal pode estar condicionada pela ação da hepcidina; - A toma intravenosa pode originar reações alérgicas ou anafiláticas, risco de aumento do stress oxidativo e risco de hemossiderose
AEE	- Experiência clínica extensiva; - Administração é realizada por clínicos, o que permite monitorizar a adesão	- Requer injeção própria ou visitas regulares à clínica; - Resistência em estados inflamatórios crónicos; - Risco de promoção do crescimento de tumores
HIF-PHIs	- Administração oral; - Facilita o tratamento de anemia em doentes não dependentes de diálise; - Melhora a utilização do ferro tomado oralmente na eritropoiese; - Pode ser mais eficaz em estados inflamatórios crónicos	- Dificuldade em monitorizar a adesão; - Menor experiência clínica; - Pode haver risco de crescimento de tumores; - Pode haver risco de crescimento de cistos em caso de doença de rins policísticos

AEE - Agentes Estimuladores de Eritropoiese; HIF-PHIs - inibidores da proil-hidroxilase do fator indutível por hipoxia

5. Conclusão

O envelhecimento renal é um processo não patológico, de que resulta um declínio progressivo da função renal. Tratando-se de uma condição fisiológica, é crucial diferenciar o envelhecimento renal saudável de condições patológicas, como a doença renal crônica. A DRC é considerada um problema de saúde pública global e a sua prevalência tem aumentado ao longo dos anos, afetando significativamente a qualidade de vida dos doentes, nomeadamente dos idosos. O diagnóstico precoce é de extrema importância, principalmente para evitar ou retardar a progressão da doença para categorias mais graves, uma vez que estas são acompanhadas de complicações mais severas, como a anemia da DRC.

A anemia da DRC, de natureza multifatorial, resulta de fatores como a deficiência em EPO, inflamação crónica (causa do aumento da hepcidina), a deficiência em ferro (absoluta ou funcional) e a menor atividade eritropoiética na medula óssea. Esta condição agrava a morbilidade e mortalidade dos doentes, pode aumentar o risco e o período de hospitalização dos doentes, e está associada a astenia dos idosos, impactando negativamente na sua qualidade de vida. A compreensão da fisiopatologia da anemia da DRC é crucial para um diagnóstico mais precoce, essencial para melhorar a qualidade de vida do doente e, se possível, retardar a progressão da doença.

O rastreio e diagnóstico da DRC passa pela avaliação de biomarcadores endógenos, como a creatina e cistatina C circulantes, bem como a albuminúria. Todavia, a comunidade científica tem feito um esforço na identificação de marcadores mais precoces e específicos da DRC. Para o tratamento da anemia da DRC, as abordagens terapêuticas atuais incluem a suplementação de ferro, o uso de AEE, transfusões de concentrado de eritrócitos e o uso dos HIF-PHIs. O tratamento deve ser individualizado, considerando diversos fatores relevantes, entre eles, a gravidade da anemia, a história clínica do doente e a resposta a anteriores tratamentos. De forma a atingir a maior eficácia dos tratamentos, é necessária uma ponderação individualizada de todos os tópicos, como a frequência de tratamentos, modo de administração, tipo de tratamento e vantagens e desvantagens associadas. O desenvolvimento contínuo de novas terapias amplia as opções de tratamento, oferecendo um prognóstico cada vez mais favorável.

6. Referências Bibliográficas

1. National Institutes of Health (NIH). National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2018 [cited 2024 May 31]. Your Kidneys & How They Work. Available from: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/kidney-disease/kidneys-how-they-work>
2. Morsch C, José F, Veronese V. Doença Renal Crônica: Definição e Complicações [Internet]. Vol. 31, Rev HCPA. Porto Alegre; 2011 [cited 2024 May 31]. Available from: https://www.hcpa.edu.br/downloads/pesquisa/RevistaCientifica/2011/31_semana_cientifica_hcpa_2011_b.pdf
3. Hommos MS, Glassock RJ, Rule AD. Structural and functional changes in human kidneys with healthy aging [Internet]. Vol. 28, Journal of the American Society of Nephrology. American Society of Nephrology; 2017 [cited 2024 May 31]. p. 2838–44. Available from: www.jasn.org
4. Farinha, Nunes AR, Mairos J, Fonseca C. Anemia in Chronic Kidney Disease: The State of the Art. Acta Med Port. 2022 Oct 1;35(10):758–64.
5. Wondimeneh Shibabaw Shiferaw, Tadesse Yirga Akalu, Yared Asmare Aynalem. Risk Factors for Anemia in Patients with Chronic Renal Failure: A Systematic Review and Meta-Analysis. Ethiop J Health Sci. 2020 Sep 1;30(5).
6. Sobamowo H, Prabhakar SS. The Kidney in Aging: Physiological Changes and Pathological Implications. In: Progress in Molecular Biology and Translational Science. Elsevier B.V.; 2017. p. 303–40.
7. Núñez JFM. The normal ageing kidney - Morphology and physiology. Vol. 18, Reviews in Clinical Gerontology. 2008. p. 175–97.
8. Denic A, Glassock RJ, Rule AD. Structural and Functional Changes With the Aging Kidney. Adv Chronic Kidney Dis. 2016 Jan;23(1):19–28.
9. Lorenz EC, Vrtiska TJ, Lieske JC, Dillon JJ, Stegall MD, Li X, et al. Prevalence of Renal Artery and Kidney Abnormalities by Computed Tomography among Healthy Adults. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2010 Mar;5(3):431–8.

10. Wang X, Vrtiska TJ, Avula RT, Walters LR, Chakkera HA, Kremers WK, et al. Age, kidney function, and risk factors associate differently with cortical and medullary volumes of the kidney. *Kidney Int.* 2014;85(3):677–85.
11. Rule AD, Sasiwimonphan K, Lieske JC, Keddiss MT, Torres VE, Vrtiska TJ. Characteristics of Renal Cystic and Solid Lesions Based on Contrast-Enhanced Computed Tomography of Potential Kidney Donors. *American Journal of Kidney Diseases.* 2012 May;59(5):611–8.
12. Rule AD. The Association Between Age and Nephrosclerosis on Renal Biopsy Among Healthy Adults. *Ann Intern Med.* 2010 May 4;152(9):561.
13. Elsherbiny HE, Alexander MP, Kremers WK, Park WD, Poggio ED, Prieto M, et al. Nephron Hypertrophy and Glomerulosclerosis and Their Association with Kidney Function and Risk Factors among Living Kidney Donors. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* 2014 Nov;9(11):1892–902.
14. Tan JC, Busque S, Workeneh B, Ho B, Derby G, Blouch KL, et al. Effects of aging on glomerular function and number in living kidney donors. *Kidney Int.* 2010 Oct;78(7):686–92.
15. Nyengaard JR, Bendtsen TF. Glomerular number and size in relation to age, kidney weight, and body surface in normal man. *Anat Rec.* 1992 Feb 26;232(2):194–201.
16. Denic A, Lieske JC, Chakkera HA, Poggio ED, Alexander MP, Singh P, et al. The Substantial Loss of Nephrons in Healthy Human Kidneys with Aging. *Journal of the American Society of Nephrology.* 2017 Jan;28(1):313–20.
17. Noronha IL, Santa-Catharina GP, Andrade L, Coelho VA, Jacob-Filho W, Elias RM. Glomerular filtration in the aging population. *Front Med (Lausanne).* 2022 Sep 15;9.
18. Bertram JF, Douglas-Denton RN, Diouf B, Hughson MD, Hoy WE. Human nephron number: implications for health and disease. *Pediatric Nephrology.* 2011 Sep 1;26(9):1529–33.
19. Luyckx VA, Brenner BM. Birth weight, malnutrition and kidney-associated outcomes—a global concern. *Nat Rev Nephrol.* 2015 Mar 20;11(3):135–49.

20. Denic A, Mathew J, Lerman LO, Lieske JC, Larson JJ, Alexander MP, et al. Single-Nephron Glomerular Filtration Rate in Healthy Adults. *New England Journal of Medicine*. 2017 Jun 15;376(24):2349–57.
21. Lindeman RD, Tobin J, Shock NW. Longitudinal Studies on the Rate of Decline in Renal Function with Age. *J Am Geriatr Soc*. 1985 Apr 27;33(4):278–85.
22. Rodrguez-Puyol D. The aging kidney. *Kidney Int*. 1998;54(6):2247–65.
23. Zhou XJ, Rakheja D, Yu X, Saxena R, Vaziri ND, Silva FG. The aging kidney. *Kidney Int*. 2008 Sep;74(6):710–20.
24. Musso CG, Oreopoulos DG. Aging and Physiological Changes of the Kidneys Including Changes in Glomerular Filtration Rate. *Nephron Physiol*. 2011 Aug 10;119(Suppl. 1):p1–5.
25. Stauder R, Valent P, Theurl I. Anemia at older age: etiologies, clinical implications, and management. *Blood*. 2018 Feb 1;131(5):505–14.
26. Musso CG, Musso CAF, Joseph H, De Miguel R, Rendo P, Gonzalez E, et al. Plasma erythropoietin levels in the oldest old. *Int Urol Nephrol*. 2004;36(2):259–62.
27. Santos-Silva A, Costa E, Alves R. Chronic Kidney Disease. In: *Biomarkers of Cardiometabolic Risk, Inflammation and Disease*. Springer International Publishing; 2015. p. 95–111.
28. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, et al. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease – A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016 Jul 6;11(7):e0158765.
29. Ammirati AL. Chronic Kidney Disease. *Rev Assoc Med Bras*. 2020;66:S3–9.
30. Stevens PE, Ahmed SB, Carrero JJ, Foster B, Francis A, Hall RK, et al. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2024 Apr;105(4):S117–314.
31. Miller WG, Bruns DE, Hortin GL, Sandberg S, Aakre KM, McQueen MJ, et al. Current Issues in Measurement and Reporting of Urinary Albumin Excretion. *Clin Chem*. 2009 Jan 1;55(1):24–38.

32. Keane WF, Eknoyan G. Proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, elimination (PARADE): A position paper of the National Kidney Foundation. *American Journal of Kidney Diseases*. 1999 May;33(5):1004–10.
33. Eknoya G, Lameire N, Winkelmayer WC. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int [Internet]*. 2024 Apr [cited 2024 Jun 20];105(4S):S117–314. Available from: <https://kdigo.org/wp-content/uploads/2024/03/KDIGO-2024-CKD-Guideline.pdf>
34. Levey AS, Coresh J, Tighiouart H, Greene T, Inker LA. Measured and estimated glomerular filtration rate: current status and future directions. *Nat Rev Nephrol*. 2020 Jan 16;16(1):51–64.
35. National Kidney Foundation. National Kidney Foundation. 2024 [cited 2024 Jul 9]. Chronic Kidney Disease (CKD). Available from: <https://www.kidney.org/atoz/content/about-chronic-kidney-disease>
36. MAYO CLINIC LABORATORIES. Diseases & Conditions. 2023 [cited 2024 Jul 11]. Chronic Kidney Disease. Available from: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/chronic-kidney-disease/symptoms-causes/syc-20354521>
37. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Chronic Kidney Disease. 2024. Risk Factors for Chronic Kidney Disease.
38. American Kidney Fund. American Kidney Fund. 2024 [cited 2024 Jul 11]. Risk factors for kidney disease. Available from: <https://www.kidneyfund.org/all-about-kidneys/risk-factors#risk-factors-for-kidney-disease>
39. Mallappallil M, Friedman EA, Delano BG, McFarlane SI, Salifu MO. Chronic kidney disease in the elderly: evaluation and management. *Clinical Practice*. 2014 Sep;11(5):525–35.
40. Vinhas J, Aires I, Batista C, Branco P, Brandão J, Nogueira R, et al. RENA Study: Cross-Sectional Study to Evaluate CKD Prevalence in Portugal. *Nephron*. 2020 Oct 1;144(10):479–87.
41. Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third national health and nutrition examination survey. *American Journal of Kidney Diseases*. 2003 Jan;41(1):1–12.

42. National Institutes of Health. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2022 [cited 2024 Jul 15]. CKD in the General Population. Available from: <https://usrds-adr.niddk.nih.gov/2022/chronic-kidney-disease/1-ckd-in-the-general-population>
43. Kovesdy CP. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney Int Suppl* (2011). 2022 Apr;12(1):7–11.
44. Raman M, Middleton RJ, Kalra PA, Green D. Estimating renal function in old people: an in-depth review. *Int Urol Nephrol*. 2017 Nov 15;49(11):1979–88.
45. Cockcroft DW, Gault H. Prediction of Creatinine Clearance from Serum Creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31–41.
46. Delanaye P, Cavalier E, Pottel H, Stehlé T. New and old GFR equations: a European perspective. *Clin Kidney J*. 2023 Aug 31;16(9):1375–83.
47. Levey AS. A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. *Ann Intern Med*. 1999 Mar 16;130(6):461.
48. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang Y (Lucy), Castro AF, Feldman HI, et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med*. 2009 May 5;150(9):604.
49. Schaeffner ES, Ebert N, Delanaye P, Frei U, Gaedeke J, Jakob O, et al. Two Novel Equations to Estimate Kidney Function in Persons Aged 70 Years or Older. *Ann Intern Med*. 2012 Oct 2;157(7):471.
50. National Kidney Foundation. National Kidney Foundation. 2024 [cited 2024 Jul 17]. eGFR Calculator. Available from: https://www.kidney.org/professionals/kdoqi/gfr_calculator
51. National Kidney Foundation. National Kidney Foundation. 2021 [cited 2024 Jul 17]. NKF and ASN Release New Way to Diagnose Kidney Diseases. Available from: <https://www.kidney.org/news/nkf-and-asn-release-new-way-to-diagnose-kidney-diseases>
52. Lee S, Lee GH, Kim H, Yang HS, Hur M. Application of the European Kidney Function Consortium Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate: A Comparison Study of the CKiD and CKD-EPI Equations Using the Korea

- National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES 2008–2021). *Medicina (B Aires)*. 2024 Apr 8;60(4):612.
53. National Kidney Foundation. National Kidney Foundation. 2024 [cited 2024 Jul 25]. CKD-EPI Creatinine Equation (2021). Available from: https://www.kidney.org/professionals/kdoqi/gfr_calculator/formula
 54. National Kidney Foundation. National Kidney Foundation. 2024 [cited 2024 Jul 25]. CKD-EPI Creatinine-Cystatin Equation (2021). Available from: <https://www.kidney.org/content/ckd-epi-creatinine-cystatin-equation-2021>
 55. Fox CS, Matsushita K, Woodward M, Bilo HJ, Chalmers J, Heerspink HJL, et al. Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without diabetes: a meta-analysis. *The Lancet*. 2012 Nov;380(9854):1662–73.
 56. Bello AK, Alrukhaimi M, Ashuntantang GE, Basnet S, Rotter RC, Douthat WG, et al. Complications of chronic kidney disease: current state, knowledge gaps, and strategy for action. *Kidney Int Suppl* (2011). 2017 Oct;7(2):122–9.
 57. Farrington DK, Sang Y, Grams ME, Ballew SH, Dunning S, Stempniewicz N, et al. Anemia Prevalence, Type, and Associated Risks in a Cohort of 5.0 Million Insured Patients in the United States by Level of Kidney Function. *American Journal of Kidney Diseases*. 2023 Feb;81(2):201-209.e1.
 58. Cumming RG, Mitchell P, Craig JC, Knight JF. Renal impairment and anaemia in a population-based study of older people. *Intern Med J*. 2004 Jan 10;34(1–2):20–3.
 59. Price EA, Schrier SL. Anemia in the Elderly: Introduction. *Semin Hematol*. 2008 Oct;45(4):207–9.
 60. Ble A, Fink JC, Woodman RC, Klausner MA, Windham BG, Guralnik JM, et al. Renal Function, Erythropoietin, and Anemia of Older Persons. *Arch Intern Med*. 2005 Oct 24;165(19):2222.
 61. OMS. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. 2011 [cited 2024 Jul 26]. Vitamin and Mineral Nutrition Information System. Available from: <http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>

62. Steensma DP, Tefferi A. Anemia in the Elderly: How Should We Define It, When Does It Matter, and What Can Be Done? *Mayo Clin Proc.* 2007 Aug;82(8):958–66.
63. Gonzalez LMB, Seidl EMF. O envelhecimento na perspectiva de homens idosos. *Paidéia (Ribeirão Preto).* 2011 Dec;21(50):345–52.
64. Beutler E, Waalen J. The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? *Blood.* 2006 Mar 1;107(5):1747–50.
65. Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. Penetrance of 845G→A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *The Lancet.* 2002 Jan;359(9302):211–8.
66. Plan and operation of the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-94. Series 1: programs and collection procedures. *Vital Health Stat 1.* 1994 Jul;(32):1–407.
67. Tettamanti M, Lucca U, Gandini F, Recchia A, Mosconi P, Apolone G, et al. Prevalence, incidence and types of mild anemia in the elderly: the “Health and Anemia” population-based study. *Haematologica.* 2010 Nov 1;95(11):1849–56.
68. Chaves PHM, Carlson MC, Ferrucci L, Guralnik JM, Semba R, Fried LP. Association Between Mild Anemia and Executive Function Impairment in Community-Dwelling Older Women: The Women’s Health and Aging Study II. *J Am Geriatr Soc.* 2006 Sep 7;54(9):1429–35.
69. Endres HG, Wedding U, Pittrow D, Thiem U, Trampisch HJ, Diehm C. Prevalence of anemia in elderly patients in primary care: impact on 5-year mortality risk and differences between men and women. *Curr Med Res Opin.* 2009 May 1;25(5):1143–58.
70. Guralnik JM, Eisenstaedt RS, Ferrucci L, Klein HG, Woodman RC. Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States: evidence for a high rate of unexplained anemia. *Blood.* 2004 Oct 15;104(8):2263–8.
71. Nathavitharana RL, Murray JA, D’Sousa N, Sheehan T, Frampton CM, Baker BW. Anaemia is highly prevalent among unselected internal medicine inpatients and is associated with increased mortality, earlier readmission and more prolonged hospital stay: an observational retrospective cohort study. *Intern Med J.* 2012 Jun 14;42(6):683–91.

72. Geisel T, Martin J, Schulze B, Schaefer R, Bach M, Virgin G, et al. An Etiologic Profile of Anemia in 405 Geriatric Patients. *Anemia*. 2014;2014:1–7.
73. Robinson BE. Epidemiology of Chronic Kidney Disease and Anemia. *J Am Med Dir Assoc*. 2006 Nov;7(9):S3–6.
74. Al-Sharefi A, Mohammed A, Abdalaziz A, Jayasena CN. Androgens and Anemia: Current Trends and Future Prospects. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:754.
75. Kaufman JM, Vermeulen A. The Decline of Androgen Levels in Elderly Men and Its Clinical and Therapeutic Implications. *Endocr Rev*. 2005 Oct 1;26(6):833–76.
76. Price EA, Mehra R, Holmes TH, Schrier SL. Anemia in older persons: Etiology and evaluation. *Blood Cells Mol Dis*. 2011 Feb 15;46(2):159–65.
77. Shavelle RM, MacKenzie R, Paculdo DR. Anemia and mortality in older persons: does the type of anemia affect survival? *Int J Hematol*. 2012 Mar 21;95(3):248–56.
78. AKMAN T, ARICA D, HATİPOĞLU B, ARSLANOĞLU E, KOCA E, KARAKUŞ S, et al. A Cross Sectional Analysis of Etiology of Anemia Among Elderly Patients. *OSMANGAZI JOURNAL OF MEDICINE*. 2023 Sep 4;45(6).
79. Girelli D, Marchi G, Camaschella C. Anemia in the Elderly. *Hemasphere*. 2018 Jun;2(3).
80. Stauder R, Bach V, Schruckmayr G, Sam I, Kemmler G. Prevalence and possible causes of anemia in the elderly: a cross-sectional analysis of a large European university hospital cohort. *Clin Interv Aging*. 2014 Jul;1187.
81. Barnett K, Mercer SW, Norbury M, Watt G, Wyke S, Guthrie B. Epidemiology of multimorbidity and implications for health care, research, and medical education: a cross-sectional study. *The Lancet*. 2012 Jul;380(9836):37–43.
82. Halawi R, Moukhadder H, Taher A. Anemia in the elderly: a consequence of aging? *Expert Rev Hematol*. 2017 Apr 3;10(4):327–35.
83. Lopez A, Cacoub P, Macdougall IC, Peyrin-Biroulet L. Iron deficiency anaemia. *The Lancet*. 2016 Feb;387(10021):907–16.

84. Andrès E, Federici L, Serraj K, Kaltenbach G. Update of nutrient-deficiency anemia in elderly patients. *Eur J Intern Med*. 2008 Nov;19(7):488–93.
85. Loikas S, Koskinen P, Irjala K, Lopponen M, Isoaho R, Kivela SL, et al. Vitamin B12 deficiency in the aged: a population-based study. *Age Ageing*. 2007 Jan 25;36(2):177–83.
86. Goodnough LT. Iron deficiency syndromes and iron-restricted erythropoiesis (CME). *Transfusion (Paris)*. 2012 Jul 29;52(7):1584–92.
87. Goodnough LT, Schrier SL. Evaluation and management of anemia in the elderly. *Am J Hematol*. 2014 Jan 24;89(1):88–96.
88. Gowanlock Z, Sriram S, Martin A, Xenocostas A, Lazo-Langner A. Erythropoietin Levels in Elderly Patients with Anemia of Unknown Etiology. *PLoS One*. 2016 Jun 16;11(6):e0157279.
89. Makipour S, Kanapuru B, Ershler WB. Unexplained anemia in the elderly. *Semin Hematol*. 2008 Oct;45(4):250–4.
90. Sriram S, Xenocostas A, Lazo-Langner A. Erythropoietin in anemia of unknown etiology: A systematic review and meta-analysis. *Hematology*. 2016 Apr 20;21(4):234–40.
91. Dmitrieva O, de Lusignan S, Macdougall IC, Gallagher H, Tomson C, Harris K, et al. Association of anaemia in primary care patients with chronic kidney disease: cross sectional study of quality improvement in chronic kidney disease (QICKD) trial data. *BMC Nephrol*. 2013 Dec 25;14(1):24.
92. Ku E, Del Vecchio L, Eckardt KU, Haase VH, Johansen KL, Nangaku M, et al. Novel anemia therapies in chronic kidney disease: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int*. 2023 Oct;104(4):655–80.
93. Babitt JL, Lin HY. Mechanisms of Anemia in CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2012 Oct;23(10):1631–4.
94. Macdougall IC. Development of Recombinant Erythropoietin and Erythropoietin Analogs. In: *Textbook of Nephro-Endocrinology*. Elsevier; 2009. p. 35–48.
95. Kunadharaju R, Silberstein P. Erythropoiesis. In: *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier; 2015.

96. Singh AK. Erythropoiesis. In: Textbook of Nephro-Endocrinology. Elsevier; 2018. p. 207–15.
97. Zadrazil J, Horak P. Pathophysiology of anemia in chronic kidney diseases: A review. *Biomedical Papers*. 2015 Jun 28;159(2):197–202.
98. Haase VH. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors. *Blood Rev*. 2013 Jan;27(1):41–53.
99. Haase VH. Hypoxic regulation of erythropoiesis and iron metabolism. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2010 Jul;299(1):F1–13.
100. Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, Higuchi M, Yamaya H, Umehara H, et al. Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood*. 2006 Aug 15;108(4):1381–7.
101. Nemeth E, Ganz T. Regulation of Iron Metabolism by Hepcidin. *Annu Rev Nutr*. 2006 Aug 1;26(1):323–42.
102. Pietrangelo A. Hemochromatosis: An endocrine liver disease. *Hepatology*. 2007 Oct;46(4):1291–301.
103. Antunes SA, Canziani MEF. Hepcidin: an important iron metabolism regulator in chronic kidney disease. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*. 2016;38(3).
104. Macdougall IC. Anaemia in CKD—treatment standard. *Nephrology Dialysis Transplantation* [Internet]. 2024 Apr 26;39(5):770–7. Available from: <https://academic.oup.com/ndt/article/39/5/770/7452913>
105. Astor BC, Muntner P, Levin A, Eustace JA, Coresh J. Association of Kidney Function With Anemia. *Arch Intern Med*. 2002 Jun 24;162(12):1401.
106. Chapter 1: Diagnosis and evaluation of anemia in CKD. *Kidney Int Suppl* (2011). 2012 Aug;2(4):288–91.
107. CPR 1.2.: Evaluation of Anemia in CKD. *American Journal of Kidney Diseases*. 2006 May;47:S28–32.
108. Chapter 2: Use of iron to treat anemia in CKD. *Kidney Int Suppl* (2011). 2012 Aug;2(4):292–8.
109. Portolés J, Martín L, Broseta JJ, Cases A. Anemia in Chronic Kidney Disease: From Pathophysiology and Current Treatments, to Future Agents. *Front Med (Lausanne)*. 2021 Mar 26;8.

110. Chapter 3: Use of ESAs and other agents**Excluding iron which is discussed in Chapter 2. to treat anemia in CKD. *Kidney Int Suppl* (2011). 2012 Aug;2(4):299–310.
111. Chapter 4: Red cell transfusion to treat anemia in CKD. *Kidney Int Suppl* (2011). 2012 Aug;2(4):311–6.

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório Final do Estágio Profissional

Simone Filipa Batalha dos Santos

M

2024



Relatório de Estágio

SIMONE FILIPA BATALHA DOS SANTOS

Mestrado em Análises Clínicas

Estágio realizado sob a orientação da Doutora Maria José Portela Lopes Oliveira
da Unidade Local de Saúde do Oeste - Hospital de Torres Vedras

Julho de 2024

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/DISSERTAÇÃO/RELATÓRIO DE ESTÁGIO/RELATÓRIO DE PROJETO.

ACCORDING TO THE LEGISLATION, THE REPRODUCTION OF ANY PART OF THIS DISSERTATION IS NOT AUTHORIZED.

Agradecimentos

Após o término do meu estágio na Unidade Local de Saúde do Oeste – Hospital de Torres Vedras, não poderia deixar de agradecer a toda a equipa que me acolheu e com a qual pude aprender e praticar muito. Todos tiveram um impacto na minha aprendizagem e os conhecimentos que me transmitiram vão contribuir para as minhas competências técnicas na área das Análises Clínicas. Queria agradecer especialmente às minhas orientadoras nas respetivas secções e que foram as principais fontes de conhecimento: à Doutora Maria José Portela Lopes Oliveira, que me orientou em todo o processo e, especialmente na Hematologia, à Doutora Ana Paula Ventura Martins Pereira que me orientou durante o período de Química Clínica, Imunologia, Alergologia e Autoimunidade e também à Doutora Cristina Maria Bragança Porciúncula que me orientou na área de Microbiologia.

A todos,

Muito obrigada.

Resumo

Este relatório refere-se ao estágio curricular de 450 horas pertencente ao plano curricular do Mestrado em Análises Clínicas, da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. O estágio foi realizado na Unidade Local de Saúde do Oeste - Hospital de Torres Vedras e orientado pela Doutora Maria José Portela Lopes Oliveira. O tempo disponível foi distribuído pelas valências de Hematologia, Química Clínica, Imunologia e Microbiologia.

O presente relatório detalha as atividades e procedimentos realizados durante o estágio, incluindo a fase pré-analítica, os parâmetros avaliados, equipamentos utilizados e respetivos princípios, produtos e reagentes, controlo de qualidade interno e externo e interpretação de resultados e fase pós-analítica.

Palavras-Chave: Hematologia; Química Clínica; Imunologia; Microbiologia.

Abstract

This report refers to the 450-hour curricular internship belonging to the curriculum of the Masters in Clinical Analysis of the Faculty of Pharmacy of the University of Porto. The internship was conducted at the West Local Health Unit - Torres Vedras Hospital and guided by Doctor Maria José Portela Lopes Oliveira. The available time was distributed by the valences of Hematology, Clinical Chemistry, Immunology and Microbiology.

The present report details the activities and procedure carried out during the stage, including the pre-analysis phase, the parameters evaluated, the equipment used and its principles, products and reagents, internal and external quality control and interpretation of results and the post-analytical phase.

Keywords: Hematology; Clinical Chemistry; Immunology; Microbiology.

Índice

Agradecimentos.....	II
Resumo	III
Abstract	IV
Índice de Figuras	VIII
Índice de Tabelas	XI
Lista de abreviaturas e símbolos.....	XIII
1. Introdução	1
2. Organização do Laboratório	1
3. Fase pré-analítica.....	2
3.1. Colheita	2
3.2. Triagem dos produtos.....	4
3.3. Qualidade das amostras.....	4
4. Hematologia	5
4.1. Hemograma.....	6
Eritrograma.....	8
Leucograma.....	10
Plaquetograma	11
4.2. Contagem de reticulócitos	12
4.3. Contagem de eritrócitos e leucócitos nos fluidos corporais.....	12
DxH 900 Hematology Analyser	13
4.4. Velocidade de sedimentação.....	17
ALIFAX® TEST 1.....	17
4.5. Esfregaços Sanguíneos.....	19
Aerospray® HematologyPro	21
4.6. Provas de coagulação	23
Tempo de protrombina.....	23
Tempo de tromboplastina parcial ativado.....	23

Quantificação de fibrinogénio.....	24
Quantificação de D-dímeros	24
ACL TOP ^{CTS}	25
5. Química Clínica	27
5.1. Alinity ci-series	28
Fotometria (princípio analítico da Química Clínica)	28
Potenciometria (princípio analítico dos ionogramas)	29
Imunoensaios por quimioluminescência (princípio analítico da Imunologia) ..	29
Calibradores e controlos de qualidade internos	29
Consumíveis	30
Manutenções	31
Parâmetros: significado clínico e metodologia	32
5.2. Sorologia	48
Testes imunocromatográficos	48
Testes de imunoaglutinação	50
6. Alergologia e Autoimunidade	51
Phadia [®] 250	51
Ensaio imunoenzimático indireto.....	52
Parâmetros de Autoimunidade.....	52
Parâmetros de Alergologia.....	53
IF Sprinter	53
Imunofluorescência indireta	54
Parâmetros e significado clínico.....	54
EUROBlotMaster.....	55
Imunoblot.....	55
Parâmetros e significado clínico.....	56
7. Urina Tipo II.....	56
UC-MAX.....	57
sediMAX comTRUST PRO.....	58

8. Microbiologia	60
Exame microbiológico – rotina laboratorial	60
Exame a fresco	61
Coloração de Gram	61
Exame cultural	62
Produtos biológicos.....	62
Testes de identificação presuntiva	73
1. Oxidase	73
2. Coagulase	74
3. Optoquina.....	74
Testes imunocromatográficos de identificação	75
Testes de suscetibilidade a antibióticos.....	76
1. ATB™ HAEMO	76
2. E-Teste.....	76
3. O.K.N.V.I. RESIST-5	77
Exame parasitológico	78
Automatização	78
1. VITEK 2 XL.....	78
2. GeneXpert®	79
9. Controlo de qualidade externo	80
10. Conclusão.....	81
Referências Bibliográficas.....	81
Anexos.....	91

Índice de Figuras

Figura 1 - Observação microscópica de um agregado plaquetário. Objetiva de 40x	7
Figura 2 - Visualização microscópica de esfregaços sanguíneos. Observação de (A) Estomatócitos, (B) Células em alvo e (C) Acantócitos. Objetiva de 40x em (A) e (B) e Objetiva de 100x em (C)	10
Figura 3 - Visualização microscópica de um esfregaço sanguíneo de sangue total a objetiva 40x. Observação de um linfócito reativo num caso de mononucleose infecciosa	11
Figura 4 - Analisador de parâmetros hematológicos através da tecnologia VCSn e Princípio de Coulter - DxH 900, Beckman Coulter	14
Figura 5 - Fluxograma ordenado dos reagentes utilizados pelo DxH 900 e respectivas funções para o processamento dos parâmetros hematológicos	16
Figura 6 - Analisador de velocidade de hemossedimentação, ALIFAX® TEST 1, Beckman Coulter	17
Figura 7 - Esfregaço sanguíneo legendado	19
Figura 8 - Execução de um esfregaço sanguíneo. (A) Colocar uma gota de sangue total homogeneizado na lâmina. (B) Posicionar uma lâmina superiormente. (C) Chegar a lâmina atrás até atingir a gota e esta se espalhar pela aresta da lâmina. (D) Num ângulo de aproximadamente 45°, arrastar a lâmina superior ao longo do comprimento da lâmina inferior. (E) Identificar a lâmina com o respetivo utente	20
Figura 9 - Observação microscópica de esfregaços sanguíneos (A) Observação de um eosinófilo (objetiva de 100x). (B) Caso clínico de leucemia linfóide crónica com observação de smudge cells e linfocitose (objetiva de 40x). (C) Exemplo de um basófilo (objetiva de 100x). (D) Caso clínico de malária com observação de Plasmodium falciparum em eritrócitos (objetiva de 100x)	21
Figura 10 - Equipamento hematológico de coloração de lâminas de esfregaços sanguíneos	22
Figura 11 - Equipamento hematológico ACL TOP ^{CTS 500} , Werfen	25
Figura 12 - Equipamento Alinity ci-série, Abbott	28
Figura 13 - Possíveis resultados de um teste rápido imunocromatográfico para deteção de drogas de abuso, à esquerda, e para os testes de gravidez e testes virais SARS-CoV2, HBV, HCV e EBV	49
Figura 14 - Possíveis resultados de um teste rápido imunocromatográfico para deteção de antígenos e anticorpos de HIV	50

Figura 15 - Exemplo de (A) controlo positivo e (B) controlo negativo num teste de imunoaglutinação	51
Figura 16 - Equipamento Phadia® 250, da Thermo Fisher Scientific	51
Figura 17 - Equipamento IF Sprinter, EUROIMMUN	53
Figura 18 - Equipamento EUROBlotMaster, EUROIMMUN.....	55
Figura 19 - Equipamentos UC-MAX e sediMAX conTRUST PRO, A. Menarini diagnostics	57
Figura 20 - (A) Cocos gram positivo. (B) Bacilos gram negativo	61
Figura 21 - Colónias de bactérias semeadas a partir de urina assética, em meio Mackonkey. (A) Colónias mucoides gram negativas fermentadoras de lactose. (B) Colónias gram negativas em forma estrelada e não fermentadores de lactose. (C) Colónias não mucoides gram negativas fermentadoras de lactose	63
Figura 22 - Equipamento BACT/ALERT 3D, bioMérieux, automatizado para a deteção de microrganismos em frascos de hemocultura	65
Figura 23 - Meio sólido MAS2. (A) Colónias brancas em meio rosa, sugestivo de <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> . (B) Colónias amarelas em meio amarelo sugestivo de <i>S. aureus</i>	66
Figura 24 - Visualização de uma identificação presuntiva de <i>Haemophilus</i> spp. pela sementeira de expetoração em COS e HAE2 e incubação a 37°C em CO ₂ . (A) Placa de meio COS onde não houve crescimento. (B) Placa de meio HAE2 onde houve crescimento	68
Figura 25 - Visualização de uma placa COS incubada a 37°C em CO ₂ . Placa não pura com presença de colónias de bactérias α -hemolíticas (exemplo dado pela seta preta). Característica comum de <i>S. pneumoniae</i>	68
Figura 26 - Meio Granada, diferencial para <i>S. agalactiae</i> . (A) Colónias laranja características de <i>S. agalactiae</i> . (B) Exemplos de colónias não relevantes para a pesquisa de <i>S. agalactiae</i>	70
Figura 27 - Meios Hektoen, bioMérieux. (A) Bactérias azuis escuras sugestivas de <i>Salmonella</i> spp. ou <i>Shigella</i> spp. (B) Colónias amarelas/rosa desvalorizadas na pesquisa de bactérias nas fezes	73
Figura 28 - Teste Oxidase. (A) Resultado positivo com formação de cor azul/roxa. (B) Resultado negativo sem alteração de cor. Adaptado de Kaiser n.d. (98).....	73
Figura 29 - Teste coagulase. (A) Resultado positivo, presença de coágulo. (B) Resultado negativo. Ausência de coágulo	74
Figura 30 - Teste de Optoquina. (A) Resultado negativo, ausência de halo de inibição. (B) Resultado positivo, presença de halo de inibição	75

Figura 31 - Imagem representativa de um halo de inibição de um E-Teste	77
Figura 32 - Equipamento VITEK2 XL, BioMérieux, automatizado para a identificação microbiana e teste de suscetibilidade a antimicrobianos.....	78

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Tubos de colheita de sangue venoso utilizados no laboratório, respectivas constituição, amostra e uso laboratorial	3
Tabela 2 - Equipamentos utilizados na secção de Hematologia, amostras e métodos utilizados e parâmetros medidos	5
Tabela 3 - Parâmetros e respetivos valores de referência pertencente ao hemograma realizado pelo equipamento hematológico DxH900	6
Tabela 4 - Método utilizado para a medição ou calculo dos parâmetros hematológicos de um hemograma	8
Tabela 5 - Interpretação clínica dos parâmetros dos eritrogramas	9
Tabela 6 - Interpretação do leucograma e possíveis significados clínicos	10
Tabela 7 - Interpretação do plaquetograma e possíveis significados clínicos	11
Tabela 8 - Parâmetros da contagem de reticulócitos e respetiva definição e métodos	12
Tabela 9 - Valores de referência da contagem de eritrócitos e leucócitos em fluidos corporais	12
Tabela 10 - Controlos de qualidade internos realizados nos equipamentos ACL TOP e respetiva periodicidade de troca e de execução diária	27
Tabela 11 - Manutenções executadas com mais frequência no equipamento ACL TOP	27
Tabela 12 - Consumíveis e respetiva descrição dos dois módulos do Alinity	30
Tabela 13 - Resumo das manutenções realizadas no equipamento Alinity e respetiva periodicidade	31
Tabela 14 - Parâmetros relacionados com hidratos de carbono e lípidos e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	33
Tabela 15 - Parâmetros relacionados ao ionograma e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	34
Tabela 16 - Parâmetros relacionados à função hepática e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	36
Tabela 17 - Parâmetros relacionados à função renal e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	38
Tabela 18 - Parâmetros relacionados à função cardíaca e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	39
Tabela 19 - Valores de referência correspondentes ao parâmetro NT-pro-BNP ..	40

Tabela 20 - Parâmetros relacionados à função pancreática e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	40
Tabela 21 - Parâmetros relacionados à função tiroideia e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	41
Tabela 22 - Parâmetros relacionados ao metabolismo do ferro e anemias e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	43
Tabela 23 - Parâmetros relacionados ao metabolismo ósseo e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	44
Tabela 24 - Parâmetros analisados e tipos de cancro com os quais estão mais relacionados.....	45
Tabela 25 - Parâmetros de marcadores tumorais e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada.....	45
Tabela 26 - Parâmetros relacionados a fármacos e drogas de abuso e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada	47
Tabela 27 - Testes de Imunoaglutinação realizados no laboratório e respetivos anticorpos pesquisados, possíveis diagnósticos e o tempo necessário para realizar cada teste	50
Tabela 28 - Mosaicos analisados nos campos das lâminas do equipamento IF Sprinter e respetivos substratos, anticorpos pesquisados e exemplos de possíveis significados clínicos.....	54
Tabela 29 - Perfis de antigénios realizados no equipamento EuroblotMaster e possíveis significados clínicos relacionados a positividade nesses antigénios	56
Tabela 30 - Parâmetros analisados nas fitas reagentes pelo equipamento UC-MAX e respetivos possíveis significados clínicos	58
Tabela 31 - Parâmetros analisados no sedimento urinário pelo sediMAX comTRUST PRO e respetivos possíveis significados clínicos.....	59
Tabela 32 – Parâmetros de cada secção avaliados pelo controlo de qualidade externa realizados pelo INSA, RANDOX e UK NEQAS e respetiva periodicidade	80
Tabela 33 - Meios de cultura sólidos e líquidos utilizados e respetiva composição, características e função	91

Lista de abreviaturas e símbolos

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
aPTT	Tempo de tromboplastina parcial ativado (<i>activated partial thromboplastin time</i>)
AVC	Acidente vascular cerebral
BHI	Caldo de coração e cérebro (<i>brain heart infusion</i>)
CAM	Gelose Campyloset
CARB/OXA	Gelose CARBA SMART
CMV	Citomegalovírus
CMI	Concentração mínima inibitória
CO ₂	Dióxido de carbono
COS	Columbia agar+5% sangue de carneiro
EDTA	Ácido etilenodiamina tetra-acético
EBV	Vírus Epstein-Barr (<i>Epstein-Barr virus</i>)
Fe	Ferro
G6PDH	Glicose-6-fosfato desidrogenase
GRAN	Gelose Granada
HAE2	Gelose Haemophilus 2
HbA1C	Hemoglobina glicada
HBV	Vírus da hepatite B (<i>hepatitis B virus</i>)
HCV	Vírus da hepatite C (<i>hepatitis C virus</i>)
HEKT	Gelose Hektoen
HIV	Vírus da imunodeficiência humana (<i>human immunodeficiency virus</i>)

HMWK	Cininogénio de alto peso molecular (<i>high-molecular-weight kininogen</i>)
HCT	Hematócrito
Hb	Hemoglobina
I.N.R	<i>International normalized ratio</i>
KCl	Cloreto de potássio
LDH	Lactato desidrogenase
LES	Sensores de emulsão líquida
MAS2	Gelose Chapman 2
MCK	Gelose Mac Conkey
MHE	Gelose de Muller Hinton E
NaOCl	Hipoclorito de sódio
NBT/BCIP	5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato/cloreto de nitro azul tetrazólio
PCR	Proteína C Reativa
PVX	Gelose Chocolate PolyViteX
QFA	Quantificação de fibrinogénio por amido
RLU	Unidades relativas de luz (<i>relative light units</i>)
RSV	Vírus sincicial respiratório (<i>respiratory syncytial virus</i>)
RT-PCR	<i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i>
RTF	<i>RecombiPlasTin 2G</i>
SGC	Gelose Sabourad
T3	Hormona tri-iodotironina
T4	Hormona tiroxina
TI	Torres Vedras – utentes do internamento
TC	Torres Vedras – utentes das consultas externas
TNC	Células nucleadas totais
TSA	Teste de suscetibilidade a antibióticos

TSH	Hormona estimuladora da tiroide (<i>thyroid stimulating hormone</i>)
TP	Tempo de protrombina
TU	Torres Vedras – utentes da urgência
ITU	Infeção do trato urinário
UIBC	Capacidade latente de fixação do ferro (<i>unsaturated Iron Binding Capacity</i>)
ULSO	Unidade Local de Saúde do Oeste
VCA3	Gelose de Chocolate PolyViteX VCAT3
VCSn	<i>Volume, hight frequenct conductivity, scatter technology</i>
VS	Velocidade de sedimentação

1. Introdução

As análises clínicas são um meio complementar de diagnóstico que refletem o funcionamento e os processos fisiológicos do corpo humano. As quantificações em produtos biológicos vão auxiliar na prevenção e diagnóstico de patologias, monitorização de terapêuticas e estabelecer prognósticos de modo a melhorar o desempenho do acompanhamento de um utente.

O estágio curricular é uma parte integrante do plano curricular do Mestrado em Análises Clínicas e tem como objetivos proporcionar uma formação prática nas diversas valências de um laboratório de análises clínicas e consolidar os conhecimentos adquiridos ao longo do período letivo. O estágio decorreu no laboratório de Patologia Clínica da Unidade Local de Saúde do Oeste (ULSO) - Hospital de Torres Vedras, num tempo total de 450 horas distribuídas pelas áreas de Hematologia, Química Clínica, Imunologia e Microbiologia. Sendo todas as fases do processamento de uma amostra relevantes para o resultado final, tive contacto com as 3 fases: fase pré-analítica, como colheita e triagem dos produtos, fase analítica, ou seja, o processamento das amostras e a fase pós-analítica de interpretação e validação de resultados.

O presente relatório descreve, dentro das diferentes secções, os parâmetros analisados, equipamentos utilizados e respetivos reagentes, consumíveis, controlo de qualidade interno e externo, procedimentos, métodos e instrumentos utilizados, dando destaque ao envolvimento que tive em cada uma das áreas.

2. Organização do Laboratório

O Serviço de Patologia Clínica da ULSO – Hospital de Torres Vedras, situa-se no piso -1. Dentro deste serviço, existe a secção de Hematologia, Química Clínica, Alergologia e Autoimunidade e Microbiologia e ainda uma sala de colheitas. Exteriormente ao laboratório, existe ainda uma receção de atendimento ao público.

O Hospital de Torres Vedras pertence à ULSO, juntamente com o Hospital de Caldas da Rainha e de Peniche. Assim, quando algum parâmetro não é analisado neste laboratório, a amostra é enviada para o Hospital de Caldas da Rainha e o inverso também ocorre.

Este serviço recebe amostras de 3 grandes grupos: Os utentes do internamento hospitalar (TI), os utentes das consultas externas (TC) e ainda os utentes da urgência (TU).

O laboratório encontra-se operacional 24h por dia, 7 dias por semana. Todas as amostras são colhidas nos respetivos serviços, sendo que os utentes TC são colhidos pelos Técnicos na sala de colheitas ao laboratório.

O software utilizado pelo laboratório é o CLINIdATA® que permite visualizar e acompanhar eficientemente os resultados analíticos.

3. Fase pré-analítica

A fase pré-analítica é a fase mais importante e mais vulnerável de todo o processo analítico (1), principalmente porque está altamente sujeito a erro humano. Esta fase inicia-se na solicitação feita pelo médico e termina quando as amostras estão prontas para serem processadas.

Durante o estágio tive a oportunidade de assistir aos seguintes processos: colheita de sangue, verificação do cumprimento das exigências de cada análise, participação na triagem dos produtos, verificação da qualidade da amostra e na separação dos produtos para as respetivas secções.

3.1. Colheita

Quando o médico solicita as análises ao utente, este é informado sobre todas as exigências necessárias, como o jejum, dieta específica, forma de colheita, entre outros. Assim que o utente é chamado à sala de colheitas, o primeiro procedimento é confirmar a identificação do utente, pedindo-lhe que diga o seu nome completo e data de nascimento. A colheita dos produtos é realizada por um profissional especializado, à exceção da urina, que pode ser colhida pelo próprio utente, caso esteja apto para tal.

Para a colheita de sangue venoso, que é realizada por um profissional, os tubos necessários são previamente etiquetados e, durante a punção, é importante respeitar a quantidade de sangue necessária em cada tubo de modo a cumprir com a proporção entre sangue e anticoagulante exigida (visível pela marca em cada tubo). Deve-se também inverter suavemente os tubos no final para homogeneizar a amostra e evitar falsos resultados. (2) Cada tubo terá uma tampa de cor diferente dependendo do seu conteúdo (anticoagulante, gel de separação ou ativador de coagulo), como explícito na **Tabela 1**.

No caso da urina colhida pelo próprio utente, é importante confirmar que o utente seguiu as exigências da análise em questão. No final de todos os produtos requisitados

terem sido colhidos, as amostras devem ser entregues ao laboratório o mais rápido possível, garantindo sempre a viabilidade dos produtos biológicos.

Tabela 1 - Tubos de colheita de sangue venoso utilizados no laboratório, respectivas constituição, amostra e uso laboratorial

Tubo	Anticoagulante/aditivo	Amostra	Uso laboratorial
 	EDTA Forma um quelato com o cálcio da amostra, formando um sal insolúvel e interrompendo a cascata de coagulação. É um antiagregante plaquetário e preserva a morfologia celular.	Sangue total Plasma	Hematologia: - Hemograma - Velocidade de sedimentação - Contagem de reticulócitos - Contagem celular em fluidos biológicos
 	Citrato de sódio Proporção de 1/9 de sangue. Forma um quelato com o cálcio da amostra e interrompe a cascata de coagulação.	Sangue total Plasma	Hematologia: - Provas de coagulação
 	Ativador de coagulo Torna mais rápido o processo de formação do coagulo.	Soro	Química Clínica Alergologia Autoimunidade
 	Heparina Interrompe a formação de coagulo através da inibição da trombina.	Sangue total Plasma	Utilizado para confirmação da contagem celular, em caso de falsa trombocitopenia.

3.2. Triagem dos produtos

Durante a colheita, os tubos são etiquetados com um código de barras que contém as informações do utente, grau de urgência, amostras e análises solicitadas. Durante a fase de triagem dos tubos, confirma-se que os produtos estão de momento na posse do laboratório. Nesta fase, é necessário confirmar a qualidade da amostra e garantir que está em condições para ser processada. Caso contrário, deve ser informado no sistema e pedir nova colheita. Além disso, é ainda verificado se existem parâmetros que não são realizados neste laboratório e, nesse caso, é preparada uma alíquota para ser enviada para outro laboratório, geralmente, para ULSO - Hospital de Caldas da Rainha.

3.3. Qualidade das amostras

No momento de triagem, é importante confirmar a integridade da amostra, garantindo que está conforme as normas e que pode ser processada. Durante este procedimento, são avaliados diversos fatores que, caso não sejam respeitados, pode ser critério para rejeição da amostra (2,3):

- Amostra sem identificação ou mal identificadas;
- Amostras colhidas em recipientes ou tubos inadequados;
- Condições de transporte e armazenamento inadequado;
- Amostras contaminadas;
- Volume inadequado de amostra (insuficiente ou excessivo);
- Amostra em condições inadequadas (coagulada, hemolisada, lipémica, entre outros).

Quando o critério em questão interfere nos resultados, a amostra deve ser imediatamente rejeitada, como é o caso de uma amostra sem identificação ou mal identificada. No entanto, se a análise solicitada não sofrer interferência, existem casos onde a amostra pode não ser rejeitada.

Os índices de integridade da amostra (hemólise, lipemia e icterícia) são exemplos de fatores que podem ou não interferir nos resultados dependendo dos parâmetros analisados. As principais interferências causadas por estes índices são:

- Hemólise – aumento dos níveis de potássio, aminotransferases e hemoglobina no plasma e libertação de fatores interferentes na formação de coágulo. (4)

- Lipemia – interferência em efeitos como turbidez, adsorção de reagentes lipofílicos ou produtos de reação por lipídios e oxidação causada por peróxidos. (4)
- Icterícia – interferência em parâmetros como colesterol total, proteínas totais, triglicéridos, entre outros. (4)

No caso dos tubos sem anticoagulante, utilizado na secção de Química Clínica e Imunologia, é ainda necessário que os tubos repousem antes da centrifugação, de forma a que o coágulo se forme e que seja possível separá-lo do soro durante a centrifugação. Caso contrário, a fibrina permanece no soro, ficando este muito espesso, o que impede que o equipamento analise a amostra corretamente.

4. Hematologia

A secção de Hematologia está altamente automatizada, o que se reflete numa grande vantagem na medida em que diminui os erros grosseiros cometidos pela mão humana e permite que as análises sejam feitas num tempo muito menor. (5) Na **Tabela 2** estão descritos os parâmetros determinados na secção de Hematologia, respetivos equipamentos e métodos utilizados e ainda o tipo de amostra necessária para cada parâmetro.

Durante o tempo presente nesta secção, pude assistir, aprender e participar ativamente nas diferentes etapas e tarefas do setor, incluindo manusear os equipamentos e realizar as suas manutenções, processamento das amostras, interpretação dos parâmetros e respetivos resultados, realização e interpretação de calibrações e controlos de qualidade internos e externos e, por fim, execução e observação microscópica de esfregaços sanguíneos.

Tabela 2 - Equipamentos utilizados na secção de Hematologia, amostras e métodos utilizados e parâmetros medidos

Parâmetros	Amostra	Equipamento	Método
Hemograma Fórmula leucocitária Contagem de reticulócitos	Sangue total	DxH 900 Hematology Analyzer	Princípio de Coulter Tecnologia VCSn
Contagem de eritrócitos e leucócitos nos líquidos	Líquidos sinoviais, pleurais, ascíticos e pericárdicos		

Velocidade de sedimentação	Sangue total	ALIFAX® TEST 1	Técnica de Fotometria Capilar Método de Westergren
Coloração de esfregaços de sangue total	Sangue total	Aerospray® HematologyPro	Coloração Wright-Giemsa
Tempo de protrombina (TP) Tempo de tromboplastina parcial ativado (aPTT) Quantificação de D-dímeros Quantificação de fibrinogénio	Plasma	ACLTOP ^{CTS}	Turbidimetria Imunoensaios turbidimétricos

4.1. Hemograma

O hemograma é o teste laboratorial mais solicitado, podendo responder a várias questões sobre a saúde do utente e auxiliar no diagnóstico de, por exemplo, anemias, hemoglobinopatias, infeções, leucemias, entre outros. Este consiste na avaliação da composição e concentração dos diversos elementos celulares do sangue. (5)

O equipamento avalia cada parâmetro relacionando-o com os valores de referência e repetindo a análise consoante as regras programadas no equipamento (**Tabela 3**). Além disso, o equipamento sinaliza algumas alterações que podem haver, como por exemplo, existência de células precursoras (blastos), agregados plaquetários, inversão de fórmula leucocitária, entre outros.

Tabela 3 - Parâmetros e respetivos valores de referência pertencente ao hemograma realizado pelo equipamento hematológico DxH900

Parâmetro	Definição	Valores de referência		Unidades
		Mulher	Homem	
RBC	Contagem de eritrócitos	3,63-4,92	4,06-5,63	x 10 ³ células/ μ L
NRBC	Contagem relativa de eritroblastos	0,0-0,3	0,0-0,6	/100 WBC
NRBC#	Contagem absoluta de eritroblastos	0,00-0,02	0,00-0,03	x 10 ³ células/ μ L
Hb	Concentração de hemoglobina	10,9-14,3	12,5-16,3	g/dL
HCT	Hematócrito	31,2-41,9	36,7-47,1	%
MCV (VCM)	Volume corpuscular médio	75,5-95,3	73,0-96,2	fL
MCH (HCM)	Hemoglobina corpuscular média	24,7-32,8	23,8-33,4	pg

MCHC (CHCM)	Concentração de hemoglobina corpuscular média		32,3-35,6	32,5-36,3	g/dL
RDW	Amplitude de distribuição de eritrócitos		12,3-17,7	12,1-16,2	%
RDW-DP	Amplitude de distribuição de eritrócitos – desvio padrão		37,6-50,3	36,5-45,9	fL
PLT	Contagem de plaquetas		179-408	152-348	x 10 ³ células/μL
MPV (MVP)	Volume plaquetário médio		7,9-10,8	7,4-11,4	fL
WBC	Contagem de leucócitos		3,8-11,8	3,6-10,2	x 10 ³ células/μL
UWBC	Contagem de leucócitos não corrigidos				
NE#	Valor absoluto	Neutrófilos	1,9-8,2	1,7-7,6	x 10 ³ células/μL
LY#		Linfócitos	1,1-3,1	1,0-3,2	
MO#		Monócitos	0,2-0,9	0,3-1,1	
EO#		Eosinófilos	0,0-0,5	0,0-0,5	
BA#		Basófilos	0,0-0,1	0,0-0,1	
NE	Valor relativo	Neutrófilos	42,7-76,8	43,5-73,5	%
LY		Linfócitos	16,0-45,9	15,2-43,3	
MO		Monócitos	4,3-10,9	5,5-13,7	
EO		Eosinófilos	0,5-7,0	0,8-8,1	
BA		Basófilos	0.2-1.3	0.2-1.5	

Nem todos os parâmetros são determinados pelo mesmo método, uma vez que alguns são apenas cálculos realizados a partir de outros parâmetros (**Tabela 4**). É importante saber interpretar os parâmetros e os respectivos resultados, pois cada um deles fornece uma dada informação sobre a saúde do utente e de um possível diagnóstico.

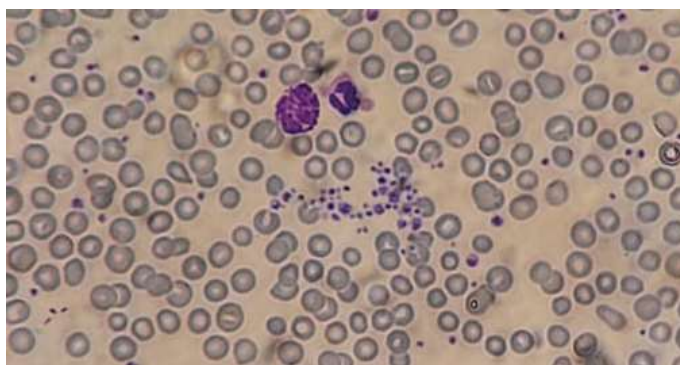


Figura 1 - Observação microscópica de um agregado plaquetário. Objetiva de 40x

Também tive oportunidade de adquirir sentido crítico para confirmação de alguns resultados analíticos, como por exemplo, alerta de agregação plaquetária. Para tal, é visualizado ao microscópio um esfregaço sanguíneo do sangue total do utente (**Figura 1**). A agregação plaquetária pode estar relacionada, por exemplo, com a má agitação do tubo.

No entanto, quando o utente apresenta trombocitopenia e já teve vários casos de agregação plaquetária, é relevante pedir um estudo mais detalhado, pedindo uma colheita em tubo de heparina e de citrato de sódio. Quando os valores plaquetários estão normais nestes tubos, significa que o utente teve uma falsa trombocitopenia, relacionada com o anticoagulante Ácido Etilenodiamina Tetra-Acético (EDTA).

Tabela 4 - Método utilizado para a medição ou calculo dos parâmetros hematológicos de um hemograma

Parâmetro	Método
RBC	Princípio de Coulter
NRBC	Tecnologia VCSn
NRBC#	Cálculo
Hb	Medição fotométrica
HCT	Cálculo
MCV (VCM)	Derivado do histograma de RBC
MCH (HCM)	Cálculo
MCHC (CHCM)	Cálculo
RDW	Derivado do histograma de RBC
RDW-DP	Derivado do histograma de RBC
PLT	Princípio de Coulter
MPV (MVP)	Derivado do histograma de PLT
WBC	Princípio de Coulter
UWBC	
NE#	
LY#	
MO#	
EO#	
BA#	
NE	
LY	
MO	
EO	
BA	

Eritrograma

Nos eritrogramas, é também importante interpretar os parâmetros analíticos (**Tabela 5**) que são essenciais principalmente para o diagnóstico de anemias, que podem estar relacionadas com diversas outras patologias. De notar que é sempre necessário ter em consideração o histórico do utente.

Tabela 5 - Interpretação clínica dos parâmetros dos eritogramas (6)

Parâmetro	Significado clínico
RBC	Auxilia o diagnóstico de uma anemia ou de uma policitemia.
Hb	Indicador de <u>anemia</u> (quando está diminuído) ou de uma <u>policitemia</u> (quando está aumentado).
HTC	Proporção do volume da amostra de sangue que é ocupada pelos eritrócitos.
MCV	Volume médio dos eritrócitos que auxilia na classificação das anemias. <u>Microcitose</u> (quando está diminuído) ou <u>macrocitose</u> (quando está aumentado).
MCH	Medida da concentração média de hemoglobina em cada eritrócito, o que auxilia na classificação de anemias. <u>Hipocromia</u> quando o valor está diminuído e <u>hipercromia</u> quando está aumentado. <u>Normocromia</u> quando está normal.
MCHC	Concentração média de hemoglobina num dado volume de eritrócitos, também participando na classificação de anemias. <u>Hipocromia</u> quando o valor está diminuído e <u>hipercromia</u> quando está aumentado. <u>Normocromia</u> quando está normal.
RDW	Coefficiente de distribuição do volume dos eritrócitos. Quando está aumentado, existe uma <u>anisocitose</u> (eritrócitos com tamanhos diferentes).
Morfologia eritrocitária	Diferentes morfologias de eritrócitos que podem ser encontrados: • Células em alvo • Esferócitos • Eliptócitos • Acantócitos • Poiquilócitos • Estomatócitos • Células falciformes • <i>Burr cells</i> • <i>Bite Cells</i> • Dacriócitos • <i>Pencil Cells</i>

Referente à forma dos glóbulos vermelhos, alguns exemplos que pode observar (**Figura 2**) em contexto laboratorial são os acantócitos, estomatócitos (ambos comuns em doenças hepáticas) e as células em alvo (pode estar relacionado com hemoglobinopatias, doenças hepáticas, deficiências em ferro, entre outros).

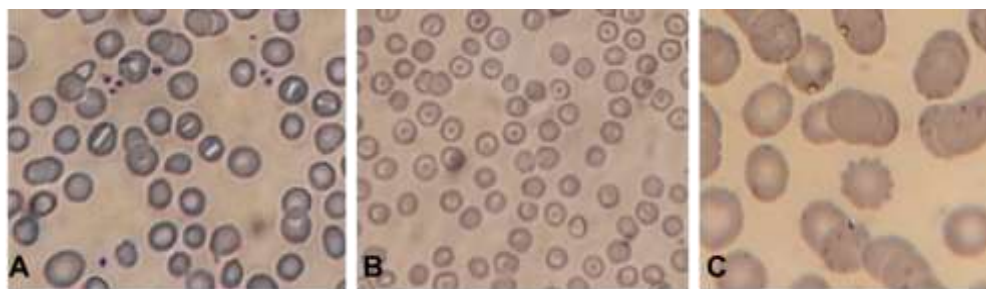


Figura 2 - Visualização microscópica de esfregaços sanguíneos. Observação de **(A)** Estomatócitos, **(B)** Células em alvo e **(C)** Acanatócitos. Objetiva de 40x em (A) e (B) e Objetiva de 100x em (C)

Leucograma

O leucograma também é muito informativo principalmente quando se trata de processos infecciosos. No entanto, existe outros tipos de patologias que podem estar associadas a alterações na contagem ou na fórmula leucocitária (**Tabela 6**). Nem toda a alteração de leucócitos se traduz em patologia, pois podem ser típicas do utente em questão. Mas, quando existe uma inversão de fórmula leucocitária injustificada e sem precedentes, é realizada a contagem manual ao microscópio para confirmação dos valores.

Tabela 6 - Interpretação do leucograma e possíveis significados clínicos (7) (8)

Leucócitos	Alterações na população linfocitária	Possível significado clínico
Neutrófilos	Neutrofilia	Infeção bacteriana
	Neutropenia	Aplasia medular Quimioterapia Terapia imunossupressora
Linfócitos	Linfocitose	Infeções virais Leucemias
	Linfopenia	Aplasia medular Quimioterapia Terapia imunossupressora
Monócitos	Monocitose	Infeções virais Quimioterapia
Eosinófilos	Eosinofilia	Processos alérgicos Parasitoses
Basófilos	Basofilia	Processos alérgicos Leucemias

Para além do que está descrito, existem ainda outros casos, como a presença de linfócitos reativos, que é comum em infeção por Vírus Epstein-Barr (mononucleose infecciosa), citomegalovírus (CMV) e toxoplasmose, entre outros. Na **Figura 3**, está representado um esfregaço sanguíneo, onde observei linfócitos reativos que diferem de monócitos, por exemplo, pela sua característica de contornar os eritrócitos à sua volta.

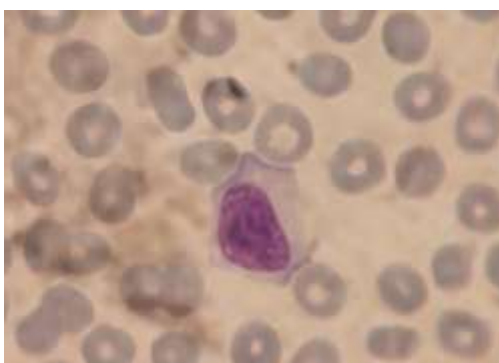


Figura 3 - Visualização microscópica de um esfregaço sanguíneo de sangue total a objetiva 40x. Observação de um linfócito reativo num caso de mononucleose infecciosa

Plaquetograma

O plaquetograma é também de extrema relevância principalmente relativamente à resposta à lesão vascular, uma vez que as plaquetas funcionam como um tampão mecânico durante a resposta hemostática. (9)

Este parâmetro é altamente influenciado pela fase pré-analítica nomeadamente a proporção entre amostra e anticoagulante que, quando não é respeitada, pode provocar coagulação da amostra. Assim, é necessário desenvolver sentido crítico na análise dos resultados, percebendo se o resultado é coerente com o estado do utente ou se existe possibilidade de haver agregação plaquetária ou coágulos. Alterações nos parâmetros plaquetários podem ter diversos significados clínicos que irão influenciar o diagnóstico, procedimentos cirúrgicos e tratamentos do utente, por exemplo (**Tabela 7**).

Tabela 7 - Interpretação do plaquetograma e possíveis significados clínicos

Alterações na população plaquetária	Possível significado clínico
Trombocitose	Hemorragias agudas Inflamações Infeções crónicas Anemias Leucemias Policitemia vera Trombocitemia essencial

Trombocitopenia	Aplasia medular Infeções virais Tratamentos Esplenomegalia Púrpuras trombocitopénicas Mieloma múltiplo Leucemias
------------------------	--

4.2. Contagem de reticulócitos

A contagem dos reticulócitos é um guia para o diagnóstico de anemia e a resposta medular a esta, distinguindo-se uma eritropoiese insuficiente de um aumento da destruição de eritrócitos periféricamente. (6) Quando existe aplasia medular, os índices dos reticulócitos irão estar diminuídos, enquanto que em algumas terapias, como terapias com folatos, cobalaminas ou terapias para as deficiências de ferro, estes índices estarão aumentados. (10) Na **Tabela 8** estão descritos os parâmetros da contagem de reticulócitos e respetiva definição, bem como o método pelo qual são determinados.

Tabela 8 - Parâmetros da contagem de reticulócitos e respetiva definição e métodos

Reticulócitos	Método	Definição
RET	Tecnologia VCSn	Percentagem de reticulócitos no número total de eritrócitos
RET#	Calculado	Valor absoluto de reticulócitos
MRV		Volume reticulocitário médio
IRF		Fração imatura de reticulócitos

4.3. Contagem de eritrócitos e leucócitos nos fluidos corporais

Os fluidos corporais estão presentes em diferentes partes do corpo com a função de as proteger ou facilitar o seu funcionamento. A contagem de eritrócitos e leucócitos nestes líquidos é feito pelo Princípio de Coulter e pode auxiliar no diagnóstico de infeções, doenças inflamatórias, malignidades, entre outros (**Tabela 9**). (11)

Tabela 9 - Valores de referência da contagem de eritrócitos e leucócitos em fluidos corporais

	Eritrócitos	Leucócitos
Líquido pleural	< 100 x 10 ³ células/μL	< 1.000 células/μL
Líquido ascítico	< 100 x 10 ³ células/μL	< 500 células/μL ▪ Mononucleares: <70% ▪ Polimorfonucleares: <60%

Líquido sinovial	Sem valores de referência	Normal	0-200 células/ μ L
		Não inflamatório	200-2.000 células/ μ L
		Inflamatório	2.000-50.000 células/ μ L
		Séptico	> 50.000 células/ μ L
		▪ Mononucleares: $\approx$80% ▪ Polimorfonucleares: $\approx$20%	
Líquido pericárdico	Sem valores de referência	< 1.000 células/ μ L	

DxH 900 Hematology Analyser

No ULSO - Hospitalar de Torres Vedras, os hemogramas, contagem de reticulócitos e contagem de leucócitos e eritrócitos em fluidos corporais são realizados pelo DxH 900, um analisador automático quantitativo de parâmetros hematológicos da Beckman Coulter com o qual pude trabalhar (**Figura 4**).

Princípio de Coulter

O Princípio de Coulter utiliza a impedância elétrica para detetar e medir as mudanças de resistência elétrica provocadas pela passagem de células em suspensão num líquido condutor por uma abertura. Ou seja, quando uma célula atravessa a abertura, aumenta a resistência elétrica, uma vez que a corrente elétrica que existe entre os dois eléctrodos é interrompida momentaneamente, criando um impulso elétrico mensurável. O número de células na amostra é contado pelo número de impulsos elétricos medidos, enquanto que o volume de cada uma das células é calculado pela amplitude de cada um dos impulsos.

Tecnologia VCSn

A tecnologia *Volume, high frequency Conductivity, Scatter* (VCSn) vai diferenciar as populações de leucócitos e contar os reticulócitos e eritroblastos através da análise de 3 parâmetros:

- Volume individual da célula – através de uma corrente de baixa frequência.

- Condutividade de alta frequência – a utilização de uma corrente alternada permite atravessar a camada fosfolipídica da membrana celular, penetrar a célula e perceber a estrutura interna da célula (composição química e volume do núcleo).
- Dispersão de uma luz laser – quando atingida por uma luz laser, a célula dispersa a luz em várias direções, dependendo das granulações celulares, segmentação nuclear e estrutura da superfície celular. (12)



Figura 4 - Analisador de parâmetros hematológicos através da tecnologia VCSn e Princípio de Coulter - DxH 900, Beckman Coulter. Cedido por ULSO – Hospital de Torres Vedras

Controlo de Qualidade Interno

O Controlo de Qualidade Interno é o processo responsável pela monitorização contínua da reprodutibilidade da fase analítica laboratorial, identificando erros inerentes a todo o processo laboratorial. Este é realizado na rotina do laboratório utilizando controlos de valores conhecidos e que irão integrar um gráfico de controlo de qualidade. Apesar disso, todas as fases do processamento de uma amostra são relevantes para garantir resultados de alta qualidade. (13)

Para a determinação de um dado parâmetro, primeiro é necessário que o equipamento trace uma reta de calibração para que se relacione o que está a ser medido com o resultado analítico pretendido (por exemplo, relacionar a absorvância com a concentração). As calibrações do equipamento são realizadas pelos operadores da casa comercial. De seguida, é processado um controlo interno para confirmar a calibração e apenas depois, inicia-se o processamento das amostras.

No início de uma série analítica, que no caso deste laboratório é 1x ao dia, existe a análise dos controlos internos, que geram um ponto que é colocado num gráfico de Levey-Jennings. Este permite visualizar a tendência dos pontos anteriores e mais facilmente avaliar o desempenho do equipamento. O laboratório segue as regras de Westgard, assegurando a eficácia do controlo de qualidade. (14)

Os controlos que existem para este equipamento controlam o desempenho de diferentes parâmetros e incluem: (15)

- Controlo Celular COULTER 6C – parâmetros do hemograma, fórmula leucocitária, eritroblastos e plaquetas.
- Controlo Celular COULTER Retic-X – parâmetros dos reticulócitos.
- Controlo de fluidos corporais COULTER – parâmetros dos RBC e células nucleadas totais (TNC) nos fluidos corporais.

Quando um ponto se encontra fora dos limites de controlo estabelecidos, é verificada a validade e qualidade do controlo e a repetição do ensaio ou troca de controlo, se necessário. Em último caso, a casa comercial deve ser informada para que operacionais venham resolver o problema ao laboratório.

Reagentes

Uma parte do trabalho num laboratório de análises clínicas consiste na verificação dos reagentes e execução das manutenções que asseguram o bom funcionamento do equipamento e evitam possíveis avarias. Os reagentes utilizados pelo DxH 900 vão de encontro ao que é normalmente utilizado para realizar um hemograma. Na **Figura 5**, é possível acompanhar a ordem de uso de cada reagente pelo equipamento para realizar cada parte do hemograma.

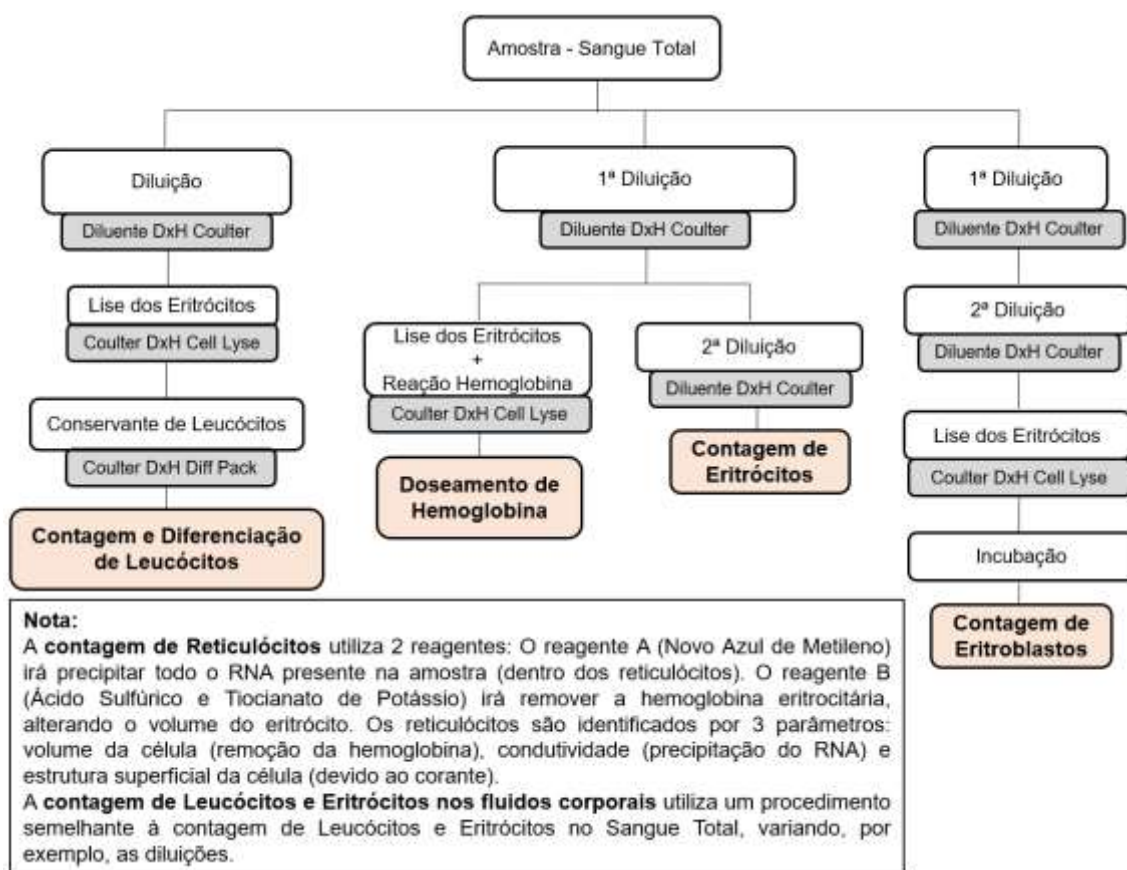


Figura 5 - Fluxograma ordenado dos reagentes utilizados pelo DxH 900 e respectivas funções para o processamento dos parâmetros hematológicos (15)

Manutenções

As diversas manutenções do equipamento são procedimentos aconselhados pela casa comercial que visam evitar avarias ou problemas no equipamento. O DxH 900 tem manutenções diárias, semanais e mensais. As manutenções diárias (*Daily Checks*) são realizadas automaticamente pelo equipamento a uma determinada hora e garantem que o equipamento está a funcionar adequadamente.

As manutenções semanais, que pode realizar, estão divididas em 2 fases:

- A fase feita pelo técnico:
 1. Limpar o revestimento da agulha
 2. Limpeza externa das câmaras de diluição
 3. Limpeza da válvula segmentadora de amostra
 4. Limpeza dos depósitos de entrada e saída de amostras (módulo de transporte de amostras).

Todo este procedimento é feito com água destilada, zaragatoas e compressas.

- A fase feita pelo equipamento – limpeza da abertura da célula de fluxo

A manutenção mensal consiste na limpeza do filtro do módulo do transporte de amostras. Depois das manutenções, é processado um controlo, o Controlo COULTER LATRON CP-X que monitoriza a estabilidade do processamento elétrico e os sistemas de taxa de fluxo de fluidos utilizados para medir os parâmetros de VCSn.

4.4. Velocidade de sedimentação

A velocidade de sedimentação (VS) é medida numa amostra de sangue total num tubo de EDTA. Apesar de ser um parâmetro muito pedido neste laboratório, é muito inespecífico, podendo estar elevado por diversas razões, como infeções, inflamações, anemia, cirrose, insuficiência renal, arterite reumatoide, entre muitos outros, estando relacionadas com a existência de proteínas de fase aguda no sangue. (16–18)

Os valores de referência da velocidade de hemossedimentação são:

- Homem: 12 – 14 mm
- Mulher: 12 – 20 mm

ALIFAX® TEST 1

Neste laboratório, as velocidades de sedimentação são medidas pelo equipamento ALIFAX® TEST 1, representado na **Figura 6**.



Figura 6 - Analisador de velocidade de hemossedimentação, ALIFAX® TEST 1, Beckman Coulter. Cedido por ULSO – Hospital de Torres Vedras

Fotometria Capilar Quantitativa

A fotometria capilar quantitativa é um método que estuda o comportamento dinâmico dos eritrócitos e o resultado desta técnica é expresso em mm (milímetros), baseando-se no clássico Método de Westergren. Este método foi desenvolvido para o cálculo da VS. A técnica da fotometria capilar foi implementada para evitar as desvantagens associadas ao Método de Westergren, entre elas, ser afetado por várias variáveis, como a temperatura, o hematócrito, vibração da superfície, tempo prolongado de realização, policitemia, lipemia, globulinas e níveis de fibrinogénio. (19,20)

Na técnica de fotometria capilar, a amostra flui por um capilar transparente até que o fluxo é interrompido. As interrupções do fluxo juntamente com as proteínas inflamatórias presentes na amostra provocam o início da agregação eritrocitária. Assim, em apenas 20 segundos, é medida a absorvância da amostra, que se converte num valor quantitativo expresso em mm. (21)

Controlo de Qualidade Interno

Para garantir que os resultados analíticos do equipamento estão exatos, pude participar no controlo interno do ALIFAX®, realizado uma vez por semana, utilizando um conjunto de Latex com 3 tubos com valor conhecidos de transmitância.

Para efetuar os controlos, é necessário realizar os seguintes passos: (22)

1. Fazer uma lavagem com 2 tubos com água destilada (normalmente é requisitado pelo equipamento).
2. Fazer uma lavagem com 1 tubo com hipoclorito de sódio e 1 tubo com água destilada.
3. Realizar o controlo, que contem na mesma *rack*, 2 tubos com água destilada e 3 controlos.

Tal como noutros equipamentos, é necessário verificar os valores dos controlos e, caso esses valores não forem os esperados, é possível solucionar o problema, trocando de controlo, confirmando as quantidades dos mesmos ou chamar a equipa técnica, caso necessário. (21)

Manutenções e Reagentes

Todos os dias é realizada uma lavagem com água destilada 2x ao dia. Além disso, o recipiente de resíduos é trocado semanalmente.

4.5. Esfregaços Sanguíneos

Durante o estágio na secção de Hematologia, tive a oportunidade de praticar a execução de esfregaços diariamente. Um exemplo de um esfregaço sanguíneo está demonstrado na **Figura 7**, onde se pode encontrar as principais zonas que um esfregaço bem executado deve apresentar, sendo estas, a cabeça, o corpo e a cauda. Está também delimitada a zona de estudo morfológico, ou seja, a zona de monocamada onde é possível visualizar as células separadas. Na zona da cabeça, a densidade celular é demasiada e não é possível distinguir e contar facilmente as diferentes populações celulares. (23,24)



Figura 7 - Esfregaço sanguíneo legendado

Em regra geral, os passos principais para se fazer um esfregaço sanguíneo correto encontra-se ilustrado na **Figura 8** e é feito utilizando sangue total retirado de um tubo com anticoagulante EDTA. Por outro, também pude aprender os diversos erros humanos e características da própria amostra devido aos quais um esfregaço pode ficar mal executado.

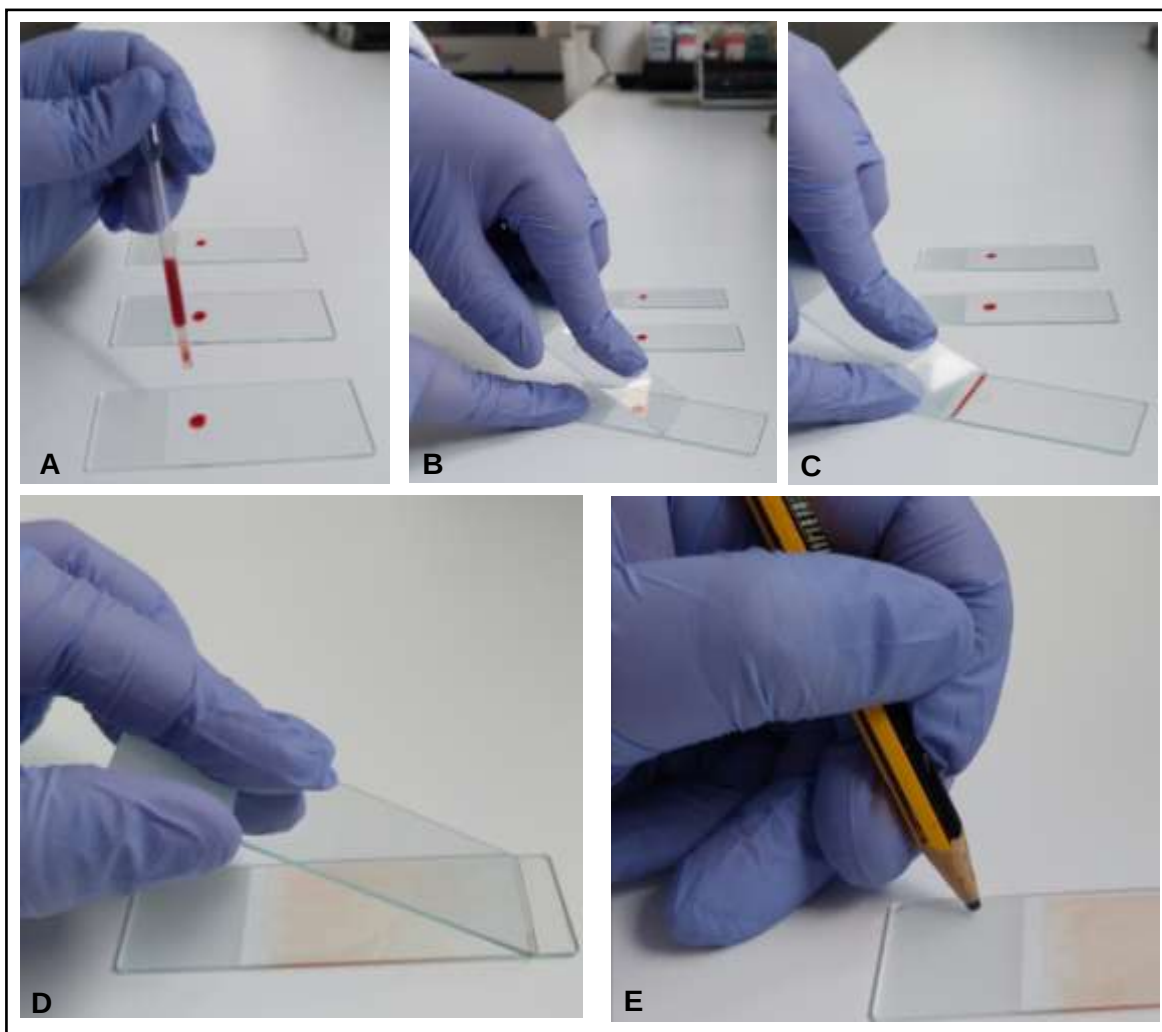


Figura 8 - Execução de um esfregaço sanguíneo. **(A)** Colocar uma gota de sangue total homogeneizado na lâmina. **(B)** Posicionar uma lâmina superiormente. **(C)** Chegar a lâmina atrás até atingir a gota e esta se espalhar pela aresta da lâmina. **(D)** Num ângulo de aproximadamente 45°, arrastar a lâmina superior ao longo do comprimento da lâmina inferior. **(E)** Identificar a lâmina com o respetivo utente

Além dos exemplos já dados como a contagem leucocitária (**Figura 9.A e Figura 9.B**), através dos esfregaços é possível também realizar uma observação celular que pode auxiliar o médico a determinar o diagnóstico. Por exemplo, normalmente, em casos de infeções virais, os linfócitos são muito diferentes entre si (em termos de dimensões, basofilia, tamanho do citoplasma e granulações), enquanto que em casos de leucemias linfoides crónicas, geralmente os linfócitos são mais semelhantes entre si (**Figura 9.B**). Os esfregaços sanguíneos também são realizados para a pesquisa de parasitas, caso seja necessário, como exemplificado na **Figura 9.D**.

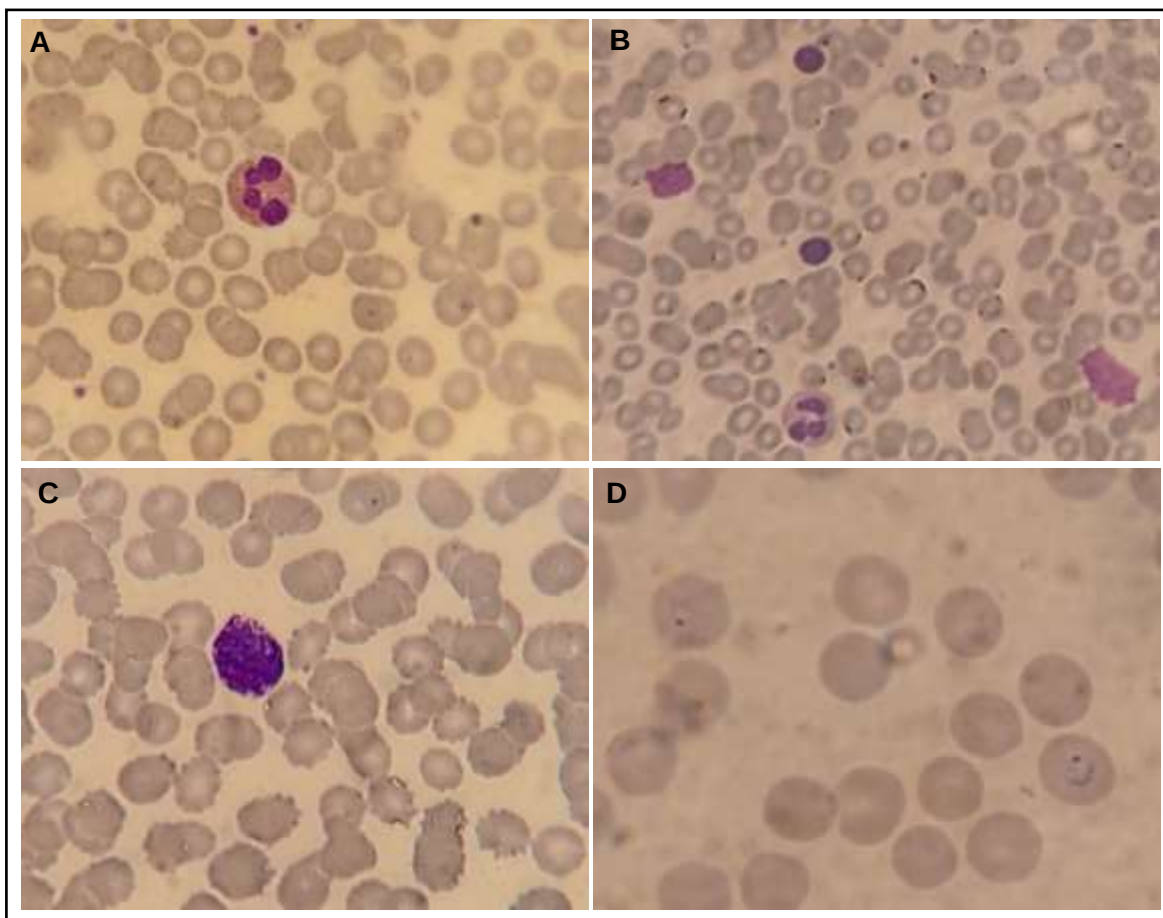


Figura 9 - Observação microscópica de esfregaços sanguíneos **(A)** Observação de um eosinófilo (objetiva de 100x). **(B)** Caso clínico de leucemia linfóide crônica com observação de smudge cells e linfocitose (objetiva de 40x). **(C)** Exemplo de um basófilo (objetiva de 100x). **(D)** Caso clínico de malária com observação de *Plasmodium falciparum* em eritrócitos (objetiva de 100x)

Aerospray® HematologyPro

A coloração de lâminas necessária para a observação de esfregaços ao microscópio é realizada pelo Aerospray® (**Figura 10**). Este equipamento permite escolher o modo coloração pretendido, podendo variar a proporção dos corantes, o tempo de centrifugação e a intensidade de coloração.

Reagentes de Coloração

O equipamento contém um recipiente lateral onde estão colocados os 4 reagentes utilizados pelo mesmo: aerofix + metanol, a eosina, a tiazina e o tampão pH 6,2.



Figura 10 - Equipamento hematológico de coloração de lâminas de esfregaços sanguíneos. Cedido por ULISO – Hospital de Torres Vedras

Existem alguns cuidados a carregar o carrossel:

- A colocação das lâminas deve seguir as mesmas regras que se seguem numa centrífuga, equilibrando sempre as lâminas no carrossel.
- Deve-se colocar sempre as lâminas com a identificação para dentro e o esfregaço sempre virado no sentido dos ponteiros do relógio.
- Sempre que o carrossel não está cheio, adicionam-se duas lâminas bloqueadoras que vão evitar que os esfregaços recebam corante em excesso, para não ficarem manchados.

Procedimento de Coloração

1. Fixação (utilizando metanol + aerofix).
2. Vaporização de uma mistura concentrada dos corantes eosina e tiazina (razão 50/50), seguida de rotação por 40 segundos.
3. Utilização intermédia do tampão pH 6,2 para remover um pouco do corante em excesso.
4. Vaporização de uma mistura diluída de eosina e tiazina (razão 50/50), depois de uma mistura de corantes e tampão (razão 30/70 respetivamente) e seguida de rotação de 1 segundo.
5. Utilização final de tampão pH 6,2.
6. Tempo de secagem.

4.6. Provas de coagulação

Neste laboratório são analisadas 4 provas de coagulação: tempo de protrombina (TP), aPTT, fibrinogénio e D-dímeros. Durante o meu estágio, pude participar no processamento das amostras, acompanhar a interpretação dos resultados, reposição dos reagentes e realizar as principais manutenções dos equipamentos.

Tempo de protrombina

O tempo de protrombina (TP) é um parâmetro que avalia a funcionalidade da via extrínseca e comum da cascata da coagulação, através da adição de cálcio, fator tecidual, fosfolípidos plaquetários e um excesso de tromboplastina para desencadear a via extrínseca. Os reagentes *RecombiPlasTin 2G* (RTF) e *RecombiPlasTin 2G diluent* (RTF Diluent) são essenciais para a progressão das vias extrínseca e comum, já que esta se encontra interrompida devido ao anticoagulante da amostra. Assim, o TP será especialmente sensível para detetar défices nos fatores X, VII, V, II e Fibrinogénio. (25)

Este parâmetro é expresso em I.N.R. (*international normalized ratio*) que irá padronizar o TP sobre as possíveis diferenças entre reagentes de tromboplastina. (26)

Os valores de referência deste parâmetro são:

- TP (s) - 9,0-13,0 s
- TP (%) – 70-100 s

Um tempo prolongado deste parâmetro pode significar deficiência nalgum dos fatores anteriormente mencionados. Este parâmetro e mais precisamente o I.N.R irão monitorizar terapêuticas, como o *warfin*, para controlar a coagulação de utentes que normalmente têm predisposição de formar trombos e evitar acidentes hemorrágicos que podem ser fatais. (27)

Tempo de tromboplastina parcial ativado

O tempo de tromboplastina parcial ativado (aPTT) é um parâmetro que irá avaliar a funcionalidade da via intrínseca e comum da cascata da coagulação. Para tal, o plasma é recalcificado na presença de fosfolípidos “tipo plaquetários” e ainda um ativador dos fatores de contacto. (27) Desta forma, apenas se avalia os fatores intrínsecos (fatores VIII, IX, XI

e XII), fatores comuns (fatores II, V, X e fibrinogénio) e os cofatores pré-calicreína e cininogénio de alto peso molecular (HMWK). (28)

Os valores de referência do aPTT são 25,1-36,5 segundos, variando consoante a idade e o ratio pode estar entre 0,9 e 1,2. No entanto, um aPTT prolongado pode ser causado por:

- Doenças congénitas ou adquiridas de fatores de coagulação;
- Défice dos fatores XII, XI, X, IX, VIII, II e fibrinogénio;
- Efeito de terapia com anticoagulante com heparina;
- Défice de vitamina K;
- Inibição devido a anticoagulantes lúpicos;
- Inibidores específicos da coagulação.

Para a determinação deste parâmetro é utilizado um reagente de *SynthASil* que inclui dois reagentes: reagente aPTT e cloreto de cálcio. A incubação da amostra com reagente aPTT irá iniciar a via intrínseca da cascata da coagulação e após incubação a 37 °C, a adição do cloreto de cálcio irá desencadear a coagulação e o tempo necessário para formação do coágulo será medido. (29)

Quantificação de fibrinogénio

O fibrinogénio é medido em segundos (tempo necessário para a coagulação), mas convertido em mg/dL ou g/L (quantificação da concentração de fibrinogénio na amostra). Esta análise baseia-se no Método de Clauss, onde se adiciona um excesso de trombina a uma amostra de plasma diluída e onde o tempo de coagulação é medido. Uma deficiência em fibrinogénio sem histórico clínico pode estar relacionada com uma doença genética, mas também pode significar causas adquiridas, como coagulação intravascular, fibrinólise, doenças hepáticas e algumas terapias. (30)

Os seus valores de referência são de 200-393 mg/dL, mas, sendo o fibrinogénio um agente de fase aguda, este estará aumentado em diversos quadros inflamatórios, como diabetes, obesidade, síndrome nefrótica, doenças inflamatórias agudas ou crónicas, entre outros. (31)

Quantificação de D-dímeros

Os D-dímeros são um resultado da degradação dos coágulos de fibrina pela plasmina induzidas pela ativação de plasminogénio durante a fibrinólise. Assim, este

analito é um biomarcador da formação e degradação da fibrina, neste caso no plasma. (32) Estes podem ser quantificados utilizando imunoensaios turbidimétricos e utilizando o reagente *D-Dimer HS 500*, composto por um *Latex reagent* e um *Reagent buffer*. (33)

Os D-dímeros podem estar aumentados em diversas patologias, entre elas, doença renal crónica, trombose venosa profunda, acidente vascular cerebral (AVC), embolismo pulmonar, infeção viral por COVID-19, hemorragia, entre outros. Assim sendo, este parâmetro é muito sensível, mas muito pouco específico. A determinação de D-dímeros pode conter um papel crucial no diagnóstico de patologias, mas com um valor preditivo negativo. (34)

ACL TOP^{CTS}

O ACL TOP^{CTS} (**Figura 11**) é um equipamento hematológico altamente automatizado da Werfen com que pode trabalhar e que visa apresentar um diagnóstico *in vitro* utilizando os testes de coagulação e fibrinólise.

Neste laboratório, o ACL TOP^{CTS} está equipado para realizar os parâmetros de aPTT, TP, quantificação de fibrinogénio e quantificação de D-dímeros. (35) Para os testes de coagulação é utilizado plasma do utente, que foi obtido após centrifugação do sangue total num tubo com o anticoagulante citrato de sódio. Neste laboratório existem dois destes equipamentos, o ACL TOP^{CTS 500} usado na rotina e o ACL TOP^{CTS 300} usado como equipamento de urgência.



Figura 11 - Equipamento hematológico ACL TOP^{CTS 500}, Werfen. Cedido por ULISO – Hospital de Torres Vedras

Medição coagulométrica (TP, aPTT, fibrinogénio)

A medição coagulométrica baseia-se no tempo necessário para uma amostra de plasma coagular através da alteração da densidade ótica, mensurada através da turbidimetria. (35,36) Enquanto a amostra coagula progressivamente, a absorção de luz a 671 nm por esta aumenta, pelo que a luz que chega ao fotodetector diminui continuamente. O equipamento contém um computador que processa os resultados analíticos e determina o momento exato da coagulação.

Medição imunológica (D-dímeros)

A medição imunológica também utiliza a turbidimetria como base, mas, em vez de determinar o tempo necessário para se formar um coágulo (atividade de um analito), é avaliada a concentração física do analito, através da formação de complexos anticorpo-antigénio que vão afetar a transmissão de luz (também a 671 nm) até ao fotodetector. O grau de aglutinação entre o analito e o seu anticorpo é medida pela diminuição de transmissão de luz ao fotodetector causada pelos agregados e será diretamente proporcional à concentração de D-dímeros na amostra.

Outros reagentes e consumíveis

Este equipamento, além dos reagentes dos ensaios já referidos, também utiliza outros reagentes e consumíveis necessário ao seu funcionamento e que pode repor sempre que necessário, como por exemplo:

- Fator diluente
- *Cleaning agent* (Clean B)
- *Rinse solution*
- *Cleaning solution*
- Caixas de cuvetes de plástico descartável

Controlo de Qualidade Interno

Os controlos internos destes equipamentos são realizados sempre que há mudança de lote de reagente ou que se justifique. Das 4 provas de coagulação realizadas neste

laboratório, apenas o aPTT não requer calibração. São usados 2 calibradores: 1 que calibra os D-dímeros e 1 que calibra o Fibrinogénio e o TP (**Tabela 10**).

Tabela 10 - Controlos de qualidade internos realizados nos equipamentos ACL TOP e respetiva periodicidade de troca e de execução diária

		aPTT	TP	Fibrinogénio	D-dímeros
Controlos de qualidade internos		<i>Low abnormal control assayed</i> <i>Normal control assayed</i>			Nível 1 Nível 2
Periodicidade de troca		Diariamente novos controlos no ACL TOP ^{CTS 300} e os antigos passam para o ACL TOP ^{CTS 500}			Diariamente
Periodicidade de execução diária	ACL TOP ^{CTS 500}	1x/dia		-	-
	ACL TOP ^{CTS 300}	3x/dia			

Manutenções

Este equipamento contém muitas manutenções que podem ser necessárias e estas variam na sua periodicidade, tal como descrito na **Tabela 11**.

Tabela 11 - Manutenções executadas com mais frequência no equipamento ACL TOP

Manutenção	Periodicidade
Esvaziar desperdício de cuvete	Diárias
Limpeza reforçada para todas as sondas	
Limpeza reforçada para sonda do reagente (automática)	
Limpeza da gaveta de desperdício de cuvets	Semanais
Limpeza da área de limpeza aprofundada e área de cuvets	
Esvaziar fluido desperdício	
Limpar sonda de amostra	
Substituir filtro CTS e limpar área de cuvete limpa	Às 5.000 punções

5. Química Clínica

A Química Clínica é parte integrante das Análises Clínicas e baseia-se na pesquisa e doseamento de analitos principalmente no soro, mas também na urina, sangue total ou LCR. Assim, é possível obter respostas em relação às importantes funções do organismo humano. (37) Nesta secção, foi-me possível aprender, acompanhar e participar ativamente na rotina diária, incluindo na reposição de reagentes, processamento de controlos e

calibradores e respetiva interpretação, processamento das amostras, manutenção dos equipamentos e acompanhar a interpretação e validação dos resultados.

5.1. Alinity ci-series

O Alinity ci-series (**Figura 12**) é um equipamento automatizado da Abbott que integra totalmente os ensaios de Química Clínica e Imunologia.



Figura 12 - Equipamento Alinity ci-serie, Abbott. Adaptado de Abbott, 2023 (38)

Neste laboratório existem 2 Alinity ci-series, ambos constituídos por um módulo de Química Clínica e um módulo de Imunologia. Os módulos da química e da imunologia são semelhantes no seu funcionamento, diferindo em alguns aspetos, como o princípio analítico que utiliza, nomeadamente reagentes, consumíveis e alguns componentes internos.

Fotometria (princípio analítico da Química Clínica)

A fotometria é uma medição da intensidade ou quantidade de luz que atinge um fotodetetor. Ou seja, uma determinada quantidade luz atravessa a cuvete com a amostra, e, dependendo da concentração do analito em questão, a luz irá ser absorvida. A luz não absorvida continuará o seu trajeto, chegando a um detetor que converte a energia luminosa em energia elétrica, que é registada.

Nesta técnica, existem 2 tipos de ensaios:

- Ensaio de ponto final - As medições da absorvância são feitas após todo o agente da reação ter sido consumido e a absorvância for estável;

- Ensaio cinético - Quando a reação atinge uma cinética estável, onde a variação da absorvância é constante e se deve medir pelo menos 3 pontos fotométricos.

Potenciometria (princípio analítico dos ionogramas)

A potenciometria é uma técnica que mede a diferença de potencial elétrico entre dois eletrodos conectados por uma solução eletrolítica. A presença de íões na amostra (Na^+ , K^+ e Cl^-) gera uma diferença de potencial que é medida pelo eletrodo do íão seletivo e será comparado com um eletrodo de referência.

O Alinity utiliza a tecnologia ICT (*integrated chip technology*) que mede os 3 íões simultaneamente, através do uso de eletrodos seletivos semicondutores contidos num único circuito. Cada íão medido terá o seu próprio eletrodo e o seu próprio ionóforo e o eletrodo de referência é de cloreto de prata e é imerso num gel de cloreto de potássio (KCl). Esta integração confere a vantagem da redução das manutenções necessárias.

Imunoensaios por quimioluminescência (princípio analítico da Imunologia)

A quimioluminescência refere-se à emissão de luz derivada de uma reação química onde um dos produtos ou um intermediário da reação é excitado e emite luz quando volta ao seu estado fundamental/basal.

Neste equipamento, a amostra é combinada com micropartículas paramagnéticas revestidas de anticorpo específico para o analito pretendido, formando um complexo antígeno-anticorpo. Depois da adição de um anticorpo conjugado com acridina, a adição de uma solução pré-ativadora separa a matéria corante da acridina. De seguida, a solução ativadora é adicionada e fornece um meio alcalino que é necessário à oxidação da acridina pelo peróxido de hidrogénio da solução pré-ativadora, tornando-se N-metilacridona. Quando esta volta ao seu estado fundamental liberta energia em forma de luz. Esta é medida em unidades relativas de luz (RLU) e convertida em concentração, através das curvas de calibração.

Calibradores e controlos de qualidade internos

Todas as manhãs, no início da rotina diária, é verificada a quantidade de reagentes a bordo do equipamento e garantida a quantidade suficiente para o dia. De seguida, são

verificadas as calibrações. Dependendo da estabilidade de cada reagente e do próprio teste, as calibrações podem ter diferentes validades e os parâmetros com calibrações expiradas bem como reagentes de um novo lote são calibrados no início do dia.

Após as calibrações, são processados os controlos internos, que são executados em todos os parâmetros, quer tenham sido calibrados no dia ou não. Os valores dados pela análise dos controlos internos integram gráficos de Levey-Jennings e, se todos os valores estiverem dentro das regras de Westgard, inicia-se o processamento de amostras. No entanto, se algum controlo interno indicar um valor fora dessas regras, devemos confirmar:

- A validade e a estabilidade do controlo e utilizar um novo, ou eventualmente trocar de nível de controlo interno;
- Realizar nova calibração quando a suspeita não for o controlo.

Os controlos internos e as calibrações são uma parte extremamente importante num laboratório de análises clínicas pois garantem a exatidão dos resultados de cada utente. Cada parâmetro tem um calibrador e um controlo interno. No entanto, existem calibradores e controlos que são comuns a vários parâmetros.

Eu pude participar ativamente nestes procedimentos diariamente, pelo que retive a importância deste passo e aprendi a ter o sentido crítico necessário para compreender possíveis erros que podem acontecer durante uma calibração e passagem de controlo e solucionar esses problemas.

Consumíveis

Os módulos de Química e de Imunologia contêm uma lista de consumíveis, especificados na **Tabela 12**, que são repostos no início do dia ou sempre que necessário.

Tabela 12 - Consumíveis e respetiva descrição dos dois módulos do Alinity

	Química Clínica		Imunologia	
	Consumível	Descrição	Consumível	Descrição
Soluções Genéricas	Solução de lavagem alcalina	Solução lavagem das cuvetes	Solução pré-ativadora	Solução de peróxido de hidrogénio fotossensível
	Solução de lavagem ácida		Solução ativadora	Solução de hidróxido de sódio
	Solução de referência ICT	Fornecer uma concentração de referência para os ionogramas	Tampão de lavagem concentrado	Tampão de descontaminação dos braços de pipetagem

	Solução de lavagem ácida das sondas	Lavagem de sondas	-	-
	Detergente A		-	-
	Detergente B		-	-
Soluções de Manutenção	<i>Water Bath Additive</i>	Usadas para a manutenção diária	<i>Probe Conditioning Solution</i>	Manutenção Diária
	Solução de limpeza ICT			
Módulo ICT	Utiliza a potenciometria para a medição dos ionogramas		-	-
Cuvetes de Reação	-	-	Carregadas no sistema para os imunoensaios por quimioluminescência.	

Manutenções

Este equipamento requer manutenções diárias, semanais, mensais, trimestrais e semestrais. Enquanto que as manutenções diárias, semanais e mensais são realizadas pelos técnicos, as restantes estão a cargo dos engenheiros da casa comercial. Na **Tabela 13**, estão resumidas as manutenções feitas pelos técnicos. (39)

Tabela 13 - Resumo das manutenções realizadas no equipamento *Alinity* e respetiva periodicidade

Periodicidade	Equipamento	Manutenção
Diária	Alinity c-series	Mudar a água e adicionar aditivo ao banho de incubação
		Lavar a sonda ICT
		Esvaziar e encher o copo de solução de referência ICT
		Lavar as sondas de amostra
	Alinity i-series	Limpar a sonda do braço de pipetagem
		Limpar o exterior das sondas das zonas de lavagem
		Purgar as soluções pré-ativadora e ativadora
Semanal	Alinity c-series	Lavagem das cuvetes de reação com detergente A
	Alinity i-series	Limpar o exterior das sondas dos braços de pipetagem
		Limpar o exterior das sondas das zonas de lavagem
		Limpar os copos de lavagem de amostras
Mensal	Alinity c-series	Limpar a ponta de drenagem ICT

Parâmetros: significado clínico e metodologia

De notar que todos os valores de referência apresentados, referem-se a adultos, exceto quando for especificada a faixa etária.

1. Metabolismo dos lípidos e hidratos de carbono (Tabela 14)

A **glicose** é um monossacarídeo utilizado para o diagnóstico de *diabetes mellitus*, juntamente com a determinação da hemoglobina glicada (HgA1C) que permite avaliar a média de glicemia nos últimos 90-120 dias. Outra prova que pode ser usada para diagnóstico é a PTGO (prova de tolerância à glucose oral), onde é doseada a glicose em jejum e passado 2h, depois da ingestão de 75g de glucose. (40)

A **microalbuminúria** é importante para o diagnóstico de nefropatia diabética, onde os utentes demonstram lesões renais e proteinúria persistente. Para a avaliação deste parâmetro, foi convencionado que se utilizaria a microalbuminúria numa amostra ocasional para se determinar a microalbuminúria de baixa concentração, onde se calcula o rácio albumina/creatinina urinárias para evitar limitações, como a taxa de filtração glomerular (41).

O **colesterol** é sintetizado no fígado, no intestino e também nas células dos vários tecidos, sendo transportado na corrente sanguínea por lipoproteínas, entre elas o **HDL** (*high density lipoprotein*) e o **LDL** (*low density lipoprotein*). Além de doenças adquiridas relacionadas a lipoproteínas, existem também doenças genéticas deste metabolismo, como é o exemplo da hipercolesterolemia familiar. Os **triglicéridos** são ésteres de glicerol que constituem o principal componente do armazenamento de gordura no tecido adiposo. Distúrbios do metabolismo destas lipoproteínas são chamadas dislipidemias e são caracterizados pelo aumento dos valores de colesterol e/ou triglicéridos. A principal razão para o diagnóstico das dislipidemias são o risco cardiovascular aumentado. (42)

Metodologias de determinação dos parâmetros

- **Glucose** - Metodologia: Hexoquinase/G-6-PDH - Através de uma metodologia enzimática que utiliza a hexoquinase e a glucose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH), haverá a redução de NAD a NADH. O aumento da absorvância a 340 nm do NADH irá correlacionar diretamente com a concentração de glucose.

- **Colesterol total** - Metodologia: colesterol esterase e colesterol oxidase - Metodologia enzimática através de colesterol esterase e colesterol oxidase e formação de

peróxido de hidrogénio. Haverá formação de um cromóforo (corante de quinoneimina) e a absorção a 500 nm deste é diretamente proporcional à concentração de colesterol total.

- **Colesterol LDL** - Metodologia: detergente seletivo líquido - Princípio semelhante ao colesterol total. A solubilização do LDL e a presença de um acoplador cromogénio induzirá a formação de cor.

- **Colesterol HDL** – Metodologia detergente seletivo líquido - O método é semelhante ao colesterol LDL, mas aplicado ao colesterol HDL.

- **Triglicéridos** - Metodologia: glicerol fosfato oxidase - Metodologia enzimática usando glicerol fosfato oxidase (GPO) depois da ação da glicerol quinase (GK). Produção de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) que, na reação posterior catalisada pela peroxidase, produz um composto corado. A absorção do corante é diretamente proporcional à concentração de triglicéridos na amostra.

- **Microalbumina** - Metodologia: imunoturbidimetria - A combinação da albumina com um anticorpo anti-albumina humana forma um agregado insolúvel que provoca turvação. O grau de turvação é diretamente proporcional à concentração de albumina na amostra. (41,43)

Tabela 14 - Parâmetros relacionados com hidratos de carbono e lípidos e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência		Unidades	Método
		Mulher	Homem		
Glucose	Soro	70-105		mg/dL	Espectrofotometria
	Urina tipo 2	1,0-15,0		mg/dL	
	Urina 24h	< 0,5		g/24h	
	LCR	40-70		mg/dL	
Colesterol total	Soro	< 200		mg/dL	
Colesterol LDL		< 130			
Colesterol HDL		40-60			
Triglicéridos		<150			
Microalbumina / Creatinina (Albumina de baixa concentração)	Urina tipo 2	< 30		mg/g	Turbidimetria
Microalbumina	Urina 24h	< 30		mL	

2. Ionogramas (Tabela 15)

Os íões **sódio**, **cloro** e **potássio** são fundamentais para a manutenção do equilíbrio eletrolítico e funcionalidade celular do organismo. Enquanto que o sódio é um íão predominantemente extracelular, o potássio é o principal eletrólito intracelular, sendo os valores muito influenciados pela hemólise da amostra. A quantificação dos eletrólitos é importante uma vez que estes estão envolvidos na homeostase da água e do pH, várias reações fisiológicas e ainda são cofatores de algumas enzimas. (42,43)

Metodologia de determinação dos parâmetros

Os íões são analisados pela metodologia elétrodos iono-seletivos diluídos (indireta) – os elétrodos são seletivos para cada íão e o potencial elétrico é desenvolvido através das membranas entre os elétrodos de referência e de medição. A diferença de potencial é comparada com a referência e depois é convertida na concentração dos íões. (43)

Tabela 15 - Parâmetros relacionados ao ionograma e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada.

	Amostra	Valores de referência	Unidades	Método
Na⁺ (sódio)	Soro	136-145	mEq/L	Espectrofotometria
Na⁺	Urina	54-190		
K⁺ (potássio)	Soro	3,5-5,1		
K⁺	Urina	20-80		
Cl⁻ (cloro)	Soro	98-107		
Cl⁻	LCR	118-132		

3. Função Hepatobiliar (Tabela 16)

A alanina aminotransferase (**ALT**) e a aspartato aminotransferase (**AST**) são enzimas produzidas maioritariamente pelo fígado. Estas são quantificadas principalmente para o diagnóstico de doenças hepáticas. Os valores estão muito elevados em hepatites virais, em qualquer situação de necrose hepática e estão moderadamente elevados em casos de colestase intra ou extra-hepática. Por estarem presentes dentro dos eritrócitos, são afetadas pela presença de hemólise.

A Lactato desidrogenase (**LDH**) é uma enzima que catalisa a oxidação de lactato em piruvato e é produzida em vários tecidos, como no fígado, coração, rins, músculos e nos eritrócitos. Esta está aumentada em casos diversos, como por exemplo, enfarte do miocárdio, hepatite, hemólise e anemias hemolíticas.

A **fosfatase alcalina** (ALP) é uma enzima que é produzida principalmente no fígado e nos ossos, pelo que o aumento desta enzima sérica pode auxiliar no diagnóstico de doenças hepatobiliares e ósseas. A **γ -GT** (*Gamma*-glutamilttransferase) é uma enzima que também é produzida no fígado e por isso é também utilizada no diagnóstico de doenças hepatobiliares.

A bilirrubina é um pigmento amarelo resultante principalmente da decomposição da hemoglobina. Enquanto que a **bilirrubina indireta** (não conjugada) é a que se liga na corrente sanguínea à albumina, a **bilirrubina direta** (conjugada) é a que já no fígado se conjugua com o ácido glucorónico pela ação da enzima glucoronil-transferase. A **bilirrubina total** é a soma das frações conjugadas e não conjugadas. A bilirrubina é normalmente elevada em casos de hepatite, cirrose, anemias, desequilíbrios hemolíticos e deficiências enzimáticas hereditárias.

A **albumina** é a proteína mais abundante no soro humano e é sintetizada pelas células do parênquima hepático. As principais funções da albumina são manter a pressão osmótica coloidal e o transporte de compostos, como o cálcio, hormonas tiroideias e bilirrubina. Enquanto que concentrações elevadas de albumina pode significar desidratação, valores baixos podem estar relacionados, por exemplo, inflamação, doenças hepáticas, perdas urinárias ou gastrointestinais, desnutrição, edemas e queimaduras graves. (42)

Metodologias de medição dos parâmetros

- **ALT** - Metodologia: reação oxidação-redução - Lactato desidrogenase e NADH - A ALT da amostra catalisa a transferência de um grupo amina da L-alanina com formação de piruvato. A reação de oxidação-redução catalisada pelo lactato desidrogenase provoca a redução do piruvato a lactato e oxidação do NADH em NAD⁺. A taxa da absorvância a 340 nm irá diminuir à medida que a reação ocorre, pelo que quanto maior a oxidação do NADH, maior a concentração de ALT na amostra.

- **AST** – Metodologia: malato desidrogenase e NADH – A AST presente na amostra catalisa a transferência de um grupo amina do L-aspartato com formação de oxaloacetato. Este é reduzido a L-malato num princípio da reação semelhante ao aplicado na ALT, mas a enzima utilizada é o malato desidrogenase.

- **LDH** – Metodologia: reação inversa lactato a piruvato - A reação de oxidação-redução catalisada pelo lactato desidrogenase no sentido inverso provoca a redução de NAD⁺ em NADH. A taxa de aumento da absorvância é medido a 340 nm e será proporcional à atividade do LDH.

- **Fosfatase alcalina** – Metodologia: para-nitrofenil fosfato – Esta enzima catalisa a reação de produção de para-nitrofenol e a taxa de aumento da absorvância a 404 nm é diretamente proporcional à concentração de fosfatase alcalina.

- **Gamma-GT** – Metodologia: L-gama-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida - Esta enzima catalisa a reação de transferência de um grupo *gamma*-glutamil com produção de 3-carboxi-4-nitroanilina e a taxa de aumento da absorvância a 416 nm é diretamente proporcional à concentração de *gamma*-GT.

- **Bilirrubina total** – Metodologia: sal de diazônio – A bilirrubina total (conjugada e não conjugada) é acoplada a um reagente diazo e forma azobilirrubina na presença de um surfactante (agente solubilizante). O aumento da absorvância da azobilirrubina a 548 nm é diretamente proporcional à concentração da bilirrubina total presente na amostra.

- **Bilirrubina direta** – Metodologia: reação diazo – A azobilirrubina é formada pela ligação da bilirrubina direta a um sal de diazônio, na presença do ácido sulfâmico. A azobilirrubina é um composto corado cuja absorvância é medida a 548 nm e aumentará proporcionalmente à concentração de bilirrubina direta na amostra.

- **Bilirrubina indireta** - Diferença entre bilirrubina total e bilirrubina direta.

- **Albumina** – Metodologia: colorimétrica com verde de bromocresol – A albumina liga-se ao verde de bromocresol (BCG) formando um complexo corado que absorve a 628 nm. A absorvância será proporcional à concentração de albumina. (43)

Tabela 16 - Parâmetros relacionados à função hepatobiliar e respectivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência		Unidades	Método
		Mulher	Homem		
ALT	Soro	< 34	< 45	U/L	Fotometria
AST		11-34			
LDH		125-220			
Fosfatase alcalina		42-122	50-116		
Bilirrubina total		0,20-1,20		mg/dL	
Bilirrubina direta		0,0-0,50			
Bilirrubina indireta		0,0-0,60			
Albumina		3,5-5,0		g/dL	
Gama-GT		< 55	< 38	U/L	

4. Função Renal (Tabela 17)

A **creatinina** sérica é um metabolito endógeno de produção relativamente constante, sendo um dos parâmetros mais indicados para a avaliação da função renal. A **clearance de creatinina** é usada para avaliar a taxa de filtração glomerular, relacionando-se o valor de creatinina no soro e na urina de 24h, num dado volume de amostra de urina de 24h, e num intervalo de tempo de 1440 min (minutos em 24h). O valor é dado em mL/min.

A **ureia** é o maior produto do metabolismo proteico no organismo e é maioritariamente excretado na urina. Os valores de ureia sérica e urinária dependem de vários fatores, como o conteúdo proteico da dieta, da síntese hepática, desidratação, perfusão renal ou obstrução. Este parâmetro pode avaliar alterações no catabolismo proteico e patologias renais ou pré-renais. (44)

O **ácido úrico** é um composto nitrogenado que pode ser quantificado na urina e no soro. A quantificação deste parâmetro pode ajudar a direcionar o diagnóstico, seja de doenças hereditárias do metabolismo das purinas, seja de patologias associadas a hiperuricemia, como o caso da gota.

As **proteínas plasmáticas** são um parâmetro que pode estar alterado em situações patológicas. A hipoproteïnemia pode estar relacionado com síndrome nefrótica, hemorragia generalizada, má absorção proteica, entre outros. Já a hiperproteïnemia pode ser causada, por exemplo, por desidratação e patologias como mieloma múltiplo. A avaliação da proteinúria (**proteínas na urina**) é importante para detetar problemas renais, enquanto que a quantificação de **proteínas no LCR** permite avaliar a permeabilidade da barreira hematoencefálica, por exemplo. (42)

Metodologia de determinação de parâmetros

- **Creatinina** – Metodologia picrato alcalino cinético – A creatinina reage com ácido pícrico em meio alcalino formando um complexo creatinina-picrato cuja taxa de aumento da absorvância a 500 nm é diretamente proporcional à concentração de creatinina.

- **Ureia** – Metodologia urease – A ureia vai ser hidrolisada pela urease e a amónia resultante é convertida em glutamato pelo glutamato desidrogenase na presença de α -cetoglutamato. Nesta reação existe a oxidação de NADH a NAD, cuja absorvância é medida a 340 nm. A diminuição da absorvância a 340 nm é proporcional à concentração de ureia na amostra.

- **Ácido úrico – Metodologia uricase** – O ácido úrico é oxidado pela uricase formando alantoína e peróxido de hidrogénio (H₂O₂). Este na presença de peroxidase e de outros intermediários produz um corante quinoneimina que absorve a 604 nm e é proporcional à concentração de ácido úrico.

- **Proteínas Totais no Soro – Metodologia biureto** – Os íons de cobre em meio alcalino (reagente Biureto) reagem com as ligações peptídicas das proteínas séricas e formam um complexo de cor púrpura cuja absorvância é medida a 572 nm e é proporcional à concentração das proteínas totais no soro.

- **Proteínas na Urina e no LCR – Metodologia cloreto de benzetónio** – O cloreto de benzetónio vai desnaturar as proteínas na urina ou no LCR originando uma suspensão. A turvação desta suspensão é medida a 404 nm e é proporcional à concentração de proteínas.

Tabela 17 - Parâmetros relacionados à função renal e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência		Unidades	Medição
		Mulher	Homem		
Clearance de creatinina	Urina 24h	75-115	85-125	mL/min/1,73 m²	Espectrofotometria
Creatinina	Soro	0,5-1,1	0,6-1,2	mg/dL	
	Urina tipo 2	15-278	22-328		
Ureia	Soro	15-40	16-45	mg/dL	
	Urina tipo 2	900-3.000			
	Urina 24h	1500-42.800		mg/24h	
Ácido úrico	Soro	2,5-6,	3,7-7,7	mg/dL	
	Urina tipo 2	37-92			
	Urina 24h	270-750		mg/24h	
Proteínas totais	Soro	6,0-7,8		g/dL	Turbidimetria
Proteínas	Urina	< 300		g/24h	
	LCR	15-45		g/dL	

5. Função Cardíaca (Tabela 18)

A **creatina quinase (CK)** é uma enzima que possui quatro formas: CK-MM, CK-MB, CK-BB e CK mitocondrial, sendo que a quantificação da CK total, pode ajudar no diagnóstico de patologias associadas a lesão muscular. Já a **CK-MB** é mais específico para o músculo cardíaco e é determinado para o diagnóstico de enfarte agudo de miocárdio (EAM). Apesar disso, a **troponina I** é o parâmetro de eleição para o diagnóstico de EAM

pois é o que apresenta mais sensibilidade e especificidade para o músculo cardíaco. A Troponina I é uma das subunidades do complexo troponínico (troponina I, T e C) associado ao filamento fino de actina, com ação reguladora da contração muscular. O **BNP** e o **NT-pro-BNP** são péptidos produzidos em resposta ao esforço ventricular e, por isso, são usados para avaliar insuficiência cardíaca. Os dois péptidos têm comportamento semelhante na detecção e monitorização de patologia, tendo o BNP uma semi-vida inferior ao NT-pro-BNP. Este permanece mais tempo em circulação e, segundo alguns autores, o doseamento é mais afetado em casos de insuficiência renal (**Tabela 19**). (42,43)

Metodologia da determinação de parâmetros

- **Creatina quinase (CK) – Metodologia NAC (N-acetil-L-cisteína)** – Esta enzima irá catalisar uma reação de formação de ATP, que depois atuará em reações consequentes envolvendo hexoquinase e G-6-PDH, terminando na redução de NADP a NADPH. A taxa de formação do NADPH será medida pela absorvência a 340 nm e é proporcional à atividade do CK.

- **Isoenzima MB da creatina quinase, BNP, NT-pro-BNP, hs TnI STAT (troponina I) - Metodologia quimioluminescência com conjugado de anticorpo com acridina** – Estes 4 parâmetros são medidos pela mesma metodologia, onde depois do analito se ligar às partículas paramagnéticas revestidas com anticorpo, é adicionado um anticorpo conjugado com acridina que se liga ao analito ligado às partículas e após a adição das soluções pré-ativadora e ativadora, a luz é medida em RLU. Quanto maior a RLU, maior a concentração de analito na amostra. (43)

Tabela 18 - Parâmetros relacionados à função cardíaca e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência		Unidades	Método
		Mulher	Homem		
CK	Soro	29-168	30-200	U/L	Espetrofotometria
CK-MB		0,0-5,2		U/L	Imunoquimiolumescência
BNP	Plasma	< 100		pg/mL	Imunoquimiolumescência
NT-pro-BNP	Soro	Tabela 21			
hs TnI STAT (troponina I)		0,0-34,2		ng/L	

Tabela 19 - Valores de referência correspondentes ao parâmetro NT-pro-BNP

Idade (anos)		< 50	50-75	> 75
Com dispneia aguda	Improvável	< 300	-	-
	Duvidoso	300-450	300-900	300-1800
	Provável	> 450	> 900	> 1800
Sem dispneia aguda	Improvável	< 125	-	-
	Duvidoso	125-600	-	-
	Provável	> 600	-	-

6. Função Pancreática (Tabela 20)

As enzimas **amílase** e **lipase** são os biomarcadores mais pesquisados no soro para o diagnóstico de doenças pancreáticas, como a pancreatite aguda. A amílase é uma enzima predominantemente produzida pelo pâncreas e pela glândula salivar e a hiperamilasemia pode estar relacionada, por exemplo, com doenças pancreáticas, pulmonares, intra-abdominais geniturinária e neoplasias. Já a lipase é também utilizada para o diagnóstico de pancreatite aguda, demonstrando maior especificidade clínica. (42,43)

Metodologia de determinação de parâmetros

- **Amilase** – Metodologia enzimática/colorimétrica – Esta enzima promove a formação de intermediários que são hidrolisados em monômeros de glucose e no cromóforo do ensaio (4-nitrofenol) pela α -glicosilase. A alteração da absorvância a 404 nm devida à formação do cromóforo será diretamente proporcional à concentração.

- **Lipase** – Metodologia corante quinona – Esta enzima hidrolisa um diglicérido para libertar glicerol. Este é metabolizado em 2 reações enzimáticas com formação de peróxido de hidrogénio pela ação de glicerol-3-fosfato oxidase. A enzima peroxidase atua no H_2O_2 (e em outros intermediários) para formar o corante quinona cuja taxa de formação é medida pela absorvância a 548 nm e é diretamente proporcional à concentração de lipase. (43)

Tabela 20 - Parâmetros relacionados à função pancreática e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência	Unidades	Método
Amilase	Soro	28-100	U/L	Espectrofotometria
	Urina tipo 2	< 460	U/24h	
	Urina 24h	170-2000	U/L	
Lipase	Soro	8-78		

7. Função Tiroideia (Tabela 21)

As hormonas tiroideias **tiroxina (T4)** e **tri-iodotironina (T3)** são produzidas pela glândula tiroide, sendo que a maioria da T3 é formada pela conversão da T4 em T3. Estas hormonas circulam na corrente sanguínea maioritariamente ligadas a proteínas, como a albumina e apenas uma fração circula livre. Apenas a fração livre é metabolicamente ativa. (45,46) A **hormona estimuladora da tiroide (TSH)** é sintetizada pela pituitária anterior em resposta a um feedback negativo derivado de concentrações baixas de T3 e T4 na corrente sanguínea. Esta hormona permite avaliar a resposta tiroideia aos níveis de T3 e T4, bem como auxiliar no diagnóstico de patologias relacionada a esta função. (47) Em casos de hipertiroidismo, estas hormonas estão aumentadas, mas em utentes muito específicos, pode apenas a hormona T3 estar aumentada. Já no hipotiroidismo, estas estão diminuídas. (42)

Metodologia de determinação de parâmetros

- **T3 livre** - Metodologia quimioluminescência com conjugado de T3 com acridina - Depois da T3 presente se ligar às partículas paramagnéticas revestidas com anticorpos anti-T3, é adicionado um conjugado de T3 marcado com acridina que se vai ligar às partículas paramagnéticas disponíveis. Depois da adição das soluções pré-ativadora e ativadora, a luz é medida em RLU. Quanto maior a RLU, menor a concentração de T3 livre.
- **T4 livre** – Metodologia semelhante à do T3 livre, mas aplicado à T4 livre.
- **T3 total** - Metodologia semelhante à do T3 livre, mas aplicado à T3 total.
- **T4 total** - Metodologia semelhante à do T3 livre, mas aplicado à T4 total.
- **TSH** – Metodologia quimioluminescência com conjugado de anticorpo com acridina – Depois do analito se ligar às partículas paramagnéticas, é adicionado um anticorpo conjugado com acridina que se liga à TSH ligada às partículas e depois da adição das soluções pré-ativadora e ativadora, a luz é medida em RLU. Quanto maior a RLU, maior a concentração de analito na amostra. (38) (43)

Tabela 21 - Parâmetros relacionados à função tiroideia e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência	Unidades	Método
T3 livre	Soro	1,73-3,71	pg/mL	Imunoquimiolumescência
T3 total		0,58-1,59	ng/mL	
T4 livre		0,70-1,48	ng/dL	
T4 total		4,9-11,7	µg/dL	
TSH		0,35-4,94	µUI/mL	

8. Metabolismo do Ferro e Anemias (Tabela 22)

O **ferro** é obtido pela dieta e é absorvido no intestino. O ferro ferroso (Fe^{2+}) pode ser armazenado por ligação à **ferritina** (proteína de reserva de ferro), ou pode ser exportado das células intestinais, convertido em ferro férrico (Fe^{3+}) e transportado na corrente sanguínea pela **transferrina**. (48) A capacidade latente de fixação do ferro (**UIBC**) é uma determinação indireta de transferrina, pois é determinada indiretamente a quantidade de ferro que se pode ligar a esta. A **haptoglobina** está incluído neste metabolismo uma vez que, em caso de destruição dos glóbulos vermelhos, a haptoglobina irá transportar a hemoglobina para o fígado de modo a haver a reabsorção do ferro. Os **folatos** e a **vitamina B12** são importantes para a síntese de DNA e estão especialmente diminuídos em casos de anemia megaloblástica. (49) Estes parâmetros, juntamente com alguns parâmetros hematológicos, vão auxiliar o diagnóstico das anemias. (42,43)

Metodologia de determinação dos parâmetros

- **Ferro (Fe)** – Metodologia ferene – O ferro liberta-se da transferrina em pH ácido e, depois de ser reduzido ao estado ferroso, forma um complexo colorido com o ferene-S. A intensidade da cor do complexo colorido a 604 nm é proporcional à quantidade de ferro na amostra.

- **UIBC** – Metodologia ferene – Um tampão alcalino de concentração de ferro conhecida é adicionado para saturar os locais de ligação da transferrina. O ferro livre depois desta saturação é reduzido ao estado ferroso e complexado com o ferene-S. A intensidade da cor do complexo colorido é medida a 604 nm e é inversamente proporcional à UIBC.

- **Transferrina** – Imunoturbidimetria - A combinação da transferrina com um anticorpo anti-transferrina forma um imunocomplexo insolúvel que provoca turvação. O grau de turvação é diretamente proporcional à concentração de transferrina na amostra.

- **Haptoglobina** - A combinação da haptoglobina com um anticorpo anti-haptoglobina forma um imunocomplexo insolúvel que provoca turvação. O grau de turvação é diretamente proporcional à concentração de haptoglobina na amostra

- **Ferritina** - Metodologia quimioluminescência com conjugado de anticorpo com acridina – Depois do analito se ligar às partículas paramagnéticas, é adicionado um anticorpo conjugado com acridina que se liga à ferritina ligada às partículas e depois da adição das soluções pré-ativadora e ativadora, a luz é medida em RLU. Quanto maior a RLU, maior a concentração de analito na amostra.

- **Folato** – Metodologia quimioluminescência com conjugado de ácido pterico com acridina - Depois do folato presente se ligar às partículas paramagnéticas através de uma proteína de ligação aos folatos (PLF), é adicionado um conjugado de ácido pterico marcado com acridina e vai ligar-se às partículas paramagnéticas disponíveis. Depois da adição das soluções pré-ativadora e ativadora, a luz é medida em RLU. Quanto maior a RLU, menor a concentração de folatos na amostra.

- **Vitamina 12** – Metodologia quimioluminescência com conjugado de vitamina B12 com acridina - Depois da vitamina B12 presente se ligar às partículas paramagnéticas revestidas com um fator intrínseco, é adicionado um conjugado de vitamina B12 marcado com acridina e vai ligar-se às partículas paramagnéticas disponíveis. Depois da adição das soluções pré-ativadora e ativadora, a luz é medida em RLU. Quanto maior a RLU, menor a concentração de folatos na amostra. (43)

Tabela 22 - Parâmetros relacionados ao metabolismo do ferro e anemias e respectivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência		Unidades	Método
		Mulher	Homem		
Fe (ferro)	Soro	50-100	65-175	mg/dL	Espetrofotometria
UIBC		70-310	69-240	µg/dL	
Transferrina		174-364		mg/dL	Imunoturbidimetria
Ferritina		21,8-274,6		ng/mL	Imunoquimiolumescência
Vitamina B12		187-1059		pg/mL	
Folato		5,3-14,4		ng/mL	
Haptoglobina		14-258		mg/dL	Imunoturbidimetria

9. Metabolismo Ósseo (Tabela 23)

O **cálcio** e o **fósforo** presentes no organismo estão abundantemente presentes nos ossos na forma de cristais de hidroxiapatite e apenas uma parte está na corrente sanguínea. Enquanto que o cálcio está envolvido, por exemplo, no processo de coagulação, onde atua como cofator, no metabolismo ósseo e também na liberação de neurotransmissores, o fósforo desempenha funções em doenças renais, tireoideias e ósseas. O **magnésio** desempenha um papel estrutural nos ácidos nucleicos, como co-ativador na ativação de enzimas e participa no processo de fosforilação oxidativa. Este ião também se encontra na constituição óssea, apesar de não tanto quanto o cálcio e o fósforo. (42,43)

Desta forma, a concentração plasmática destes íons irá depender da formação e reabsorção óssea, absorção intestinal derivado da dieta e da excreção renal. (49)

Metodologia da determinação de parâmetros

- **Cálcio (Ca)** – Metodologia arsenazo III – O corante arsenazo III reage com o Ca em solução ácida e forma um complexo azul-lilás, cuja cor formada é medida a 660 nm e é diretamente proporcional à concentração de cálcio.

- **Magnésio (Mg)** – Metodologia isocitrato desidrogenase – O magnésio é um cofator na reação catalisada pelo isocitrato desidrogenase onde o NADP é reduzido a NADPH. A taxa de formação do NADPH é medida pela absorvância a 340 nm e é proporcional à concentração de magnésio.

- **Fósforo (P)** – Metodologia fosfomolibdato – O fosfato inorgânico reage com o molibdato de amônio e forma um complexo hétero-poli-ácido cuja absorvância a 340 nm é diretamente proporcional à concentração de fósforo. (43)

Tabela 23 - Parâmetros relacionados ao metabolismo ósseo e respectivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência		Unidades	Método
		Mulher	Homem		
Cálcio	Soro	8,40-10,20	8,8-10,00	mg/dL	Espectrofotometria
	Urina ocasional	6,8-21,3		mg/dL	
	Urina 24h	42,00-353,00		mg/24h	
Magnésio	Soro	1,60-2,60		mg/dL	
	Urina ocasional				
	Urina 24h	24,00-255,00		mg/24h	
Fósforo	Soro	2,3-4,7		mg/dL	
	Urina ocasional	40-140			
	Urina 24h	400,00-1300,00		mg/24h	

10. Marcadores Tumorais (Tabela 25)

Um marcador tumoral é uma substância produzida pelo hospedeiro em resposta a um tumor ou pelas próprias células neoplásicas e que pode ser usado para detectar a sua presença, evolução da doença e diferenciar de outros tipos de tumores. Assim, existem alguns marcadores que estão relacionados apenas com um tipo de cancro e outros que

podem estar envolvidos em mais que um. Na **Tabela 24**, podemos relacionar cada marcador tumoral, com o tipo de cancro a que pode estar relacionado. (42)

Tabela 24 - Parâmetros analisados e tipos de cancro com os quais estão mais relacionados

Parâmetros	Uso
AFP (α -fetoproteína)	Cancro de células germinativas Cancro hepatocelular
CA 125	Cancro do ovário
CA 15-3	Cancro da mama Tumor pulmonar, do colon, pancreático, hepático, ovário, cervical e endometrial
CA 19-9XR	Carcinoma pancreático, colorretal, gástrico e hepático
CEA	Tumores do trato gastrointestinal Carcinoma colorretal, da mama e pulmonar
PSA	Cancro da próstata
PSA livre	

Metodologia Quimioluminescência com conjugado de anticorpo com acridina

– Estes parâmetros são medidos pela mesma metodologia, onde depois do analito se ligar às partículas paramagnéticas revestidas com anti-corpo, é adicionado um anticorpo conjugado com acridina e depois da adição das soluções pré-ativadora e ativadora, a luz é medida em RLU. Quanto maior a RLU, maior a concentração de analito na amostra. (43)

Tabela 25 - Parâmetros de marcadores tumorais e respetivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência	Unidades	Método
AFP	Soro	0,89-8,78	ng/mL	Imunoquimiolumescência
CA 125		< 35,0	U/L	
CA 15.3		< 31,3		
CA 19.9		< 37,0		
CEA		< 3,0	ng/mL	
PSA		0-4		
PSA livre		0,0-2,50		
Razão PSA livre/PSA total			< 10 – patológico > 20 - normal	-

11. Drogas de Abuso e Fármacos (Tabela 25)

As **benzodiazepinas** são fármacos hipnótico-sedativos e normalmente administrados para aliviar a ansiedade ou induzir o sono, mas que podem ser usadas como

drogas de abuso. (50) Já o **fenobarbital** foi introduzido para o tratamento de epilepsia para controlar a sua sintomatologia.

Tanto a **vancomicina** como a **gentamicina** são antibióticos, sendo que a gentamicina é usada para infecções por organismos sensíveis aos aminoglicosídeos, como por exemplo as bactérias gram negativas e a vancomicina para infecções por organismos sensíveis aos glicopeptídeos, como o caso de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA). A quantificação destes parâmetros é principalmente relevante para monitorizar a terapêutica e assegurar que está a ser adequada.

A **digoxina** é um glicosídeo cardíaco usado no tratamento de arritmias e insuficiência cardíaca e, devido a ter uma pequena janela terapêutica, implica uma monitorização mais frequente. O mesmo acontece com a **teofilina**, que é um fármaco antiasmático utilizado para tratar casos como asma persistente. Neste caso, efeitos tóxicos da teofilina são atingidos com pequenas variações de concentração sérica do fármaco. (42,43)

Metodologia de determinação de parâmetros

- **Digoxina** – Metodologia imunoturbidimetria de inibição otimizado pela utilização de partículas (PETINIA) – A digoxina presente na amostra vai competir com a digoxina ligada a micropartículas para a ligação a anticorpos anti-digoxina. Na ausência de digoxina na amostra, as micropartículas com digoxina ligam-se aos anticorpos causando aglutinação na amostra. O consequente aumento da absorvância é medido por espectrofotometria e é indiretamente proporcional à concentração de digoxina na amostra.

- **Teofilina** – Metodologia imunoensaio enzimático – A teofilina presente na amostra vai competir com teofilina marcada com a enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) para se ligar a anticorpos anti-teofilina. Na ausência de teofilina na amostra, a teofilina marcada com a enzima liga-se ao anticorpo e a atividade da G6PDH é inibida. Com a consequente redução da formação de NADH, a sua absorvância a 340 nm vai diminuir. Na presença de teofilina, esta liga-se aos anticorpos, a atividade da G6PDH não é inibida e absorvância da NADH vai aumentar. Quanto mais absorvância houver, maior a concentração de teofilina.

- **Benzodiazepina** – Metodologia imunoensaio enzimático – Metodologia semelhante ao ensaio da teofilina, mas aplicado à benzodiazepina.

- **Vancomicina** – Metodologia imunoturbidimetria de inibição otimizado pela utilização de partículas (PETINIA) – Metodologia semelhante ao ensaio da digoxina, mas aplicado à vancomicina.

- **Gentamicina** – Metodologia Imunoturbidimetria de inibição otimizado pela utilização de partículas (PETINIA) – Metodologia semelhante ao ensaio da digoxina, mas aplicado à gentamicina.

- **Fenobarbital** – Metodologia imunoturbidimetria de inibição otimizado pela utilização de partículas (PETINIA) – Metodologia semelhante ao ensaio da digoxina, mas aplicado ao fenobarbital. (43)

Tabela 26 - Parâmetros relacionados a fármacos e drogas de abuso e respectivos valores de referência, metodologia aplicada e amostra utilizada

	Amostra	Valores de referência	Unidades	Método
Digoxina	Soro	0,80-2,00	ng/mL	Imunoturbidimetria
Teofilina		Terapêutico (8-20)	µg/mL	Espetrofotometria
Benzodiazepinas	Urina			
Vancomicina	Soro	Vale: 5-10	µg/mL	Imunoturbidimetria
Gentamicina		Vale: <2	µg/mL	
Fenobarbital		15,0-40,0	µg/mL	

12. Marcadores Inflamatórios

Tal como a ferritina e a haptoglobina, outra proteína de fase aguda é a **proteína C reativa** (PCR) cujos valores de referência são inferiores a 0,5 mg/dL. Este parâmetro aumenta os seus valores inespecificamente em resposta a uma inflamação. Assim, além de ser utilizada como um marcador de diagnóstico de infeção ou inflamação, pode ainda ser usado para monitorizar a resposta à terapêutica ou após cirurgia. (42) A **procalcitonina** é uma pró-hormona da calcitonina cujos valores séricos aumentam significativamente em resposta a estímulos inflamatórios, podendo manter-se elevados até 48 horas. Quando a causa da inflamação ou infeção estiver controlada, os seus valores descem para os valores de referência (0,50-2,00 ng/mL) ao longo de vários dias. Este parâmetro é, então, útil, por exemplo, para o diagnóstico e prognóstico de infeção bacteriana. (38)

- **Proteína C reativa** – Imunoturbidimetria - A combinação da PCR com um anticorpo anti-PCR adsorvido em partículas de latex forma um imunocomplexo insolúvel que provoca turvação. O grau de turvação a 572 nm é diretamente proporcional à concentração de PCR na amostra. (43)

- **Procalcitonina** - Metodologia quimioluminescência com conjugado de anticorpo com acridina – Estes parâmetros são medidos pela mesma metodologia, onde depois do analito se ligar às partículas paramagnéticas, é adicionado um anticorpo conjugado com

acridina que se liga à procalcitonina ligada às partículas e depois da adição das soluções pré-ativadora e ativadora, a luz é medida em RLU. Quanto maior a RLU, maior a concentração de analito na amostra. (38)

5.2. Sorologia

Testes imunocromatográficos

Testes imunocromatográficos são testes de rápida execução que detetam a presença de anticorpos ou antígenos numa dada amostra. (51,52) Os testes imunocromatográficos com os quais tive contacto e que pude realizar neste laboratório são para a pesquisa das drogas de abuso, teste de gravidez e testes virais.

1. Drogas de abuso

Os testes rápidos imunocromatográficos para deteção de drogas de abuso são realizados através de uma amostra de urina fresca e, de seguida, é possível interpretar os resultados, nos quais eu pude participar. As drogas de abuso pesquisadas através de estes testes são cocaína, opiáceos, anfetaminas, metanfetaminas, canabinoides e antidepressivos tricíclicos.

Princípio dos testes: Nas tiras de teste existem anticorpos conjugados com corante e um conjugado da droga em questão. Num resultado positivo, a droga presente na amostra irá competir com o conjugado da droga para se ligar ao anticorpo conjugado com corante, pelo que o conjugado de droga e o anticorpo não se irão ligar e por isso não haverá banda colorida. Num caso de resultado negativo, o conjugado da droga e o anticorpo conjugado com corante ir-se-ão ligar e formar uma banda colorida.

A forma de interpretação destes testes é semelhante em todos e está ilustrada na **Figura 13:**

- Resultado positivo: Formação de apenas 1 banda colorida na zona de controlo. Nenhuma banda colorida na zona de teste;
- Resultado negativo: Formação de 2 bandas coloridas. Uma na zona de controlo e uma na zona de teste;
- Resultado inválido: Sempre que não se formar uma banda colorida na zona de controlo, independentemente de se ter formado uma banda na zona de teste ou não.

De notar que um resultado negativo não indica necessariamente a ausência de droga na amostra, mas sim que a quantidade existente, seja nula ou não, está abaixo do limite de deteção do teste.

2. Teste de gravidez e testes virais

O teste de gravidez realizado no laboratório é usado muitas vezes como despiste, principalmente em mulheres em idade fértil. Neste teste, é pesquisada a gonadotrofina coriónica humana (HCG) que é um marcador de gravidez produzido pela placenta. Os testes virais realizados são SARS-CoV2, vírus da hepatite b (HBV), vírus da hepatite c (HCV) e vírus Epstein-Barr (EBV).

Em qualquer um destes testes, representados na **Figura 13**, um resultado positivo implica a formação de um complexo anticorpo-antigénio entre a amostra e o reagente. Neste caso, serão visíveis 2 bandas coloridas: 1 na zona de controlo e 1 na zona de teste.

Nesse caso, confirma-se a positividade do teste em questão. Já um resultado negativo em qualquer um destes testes implica o aparecimento de apenas uma banda colorida na zona de controlo, confirmando a viabilidade do teste e a ausência de banda na zona de teste. Um resultado inválido implica a inexistência de uma banda de controlo independentemente de haver ou não banda na zona de teste. Neste caso, o teste deve ser rejeitado.

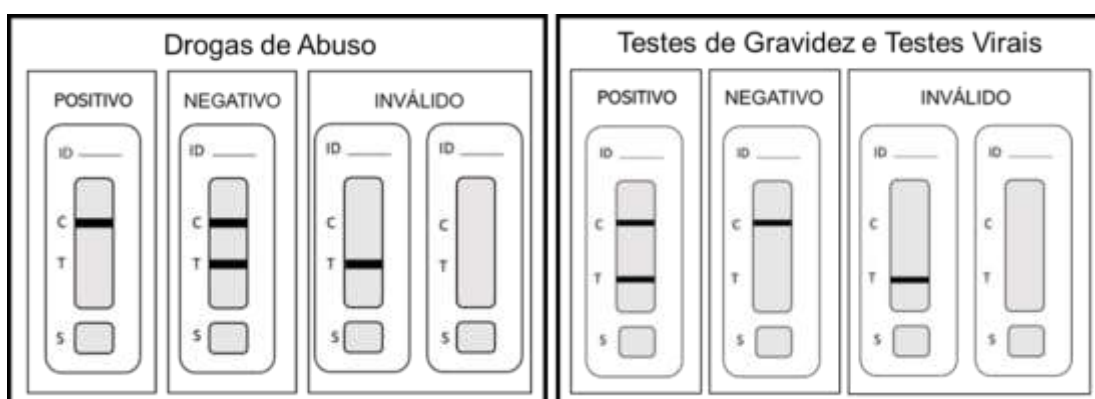


Figura 13 - Possíveis resultados de um teste rápido imunocromatográfico para deteção de drogas de abuso, à esquerda, e para os testes de gravidez e testes virais SARS-CoV2, HBV, HCV e EBV

No caso do teste de deteção de **HIV** (vírus de imunodeficiência humana), causador de SIDA (Distúrbio de Imunodeficiência Adquirida), os anticorpos contra HIV-1 e HIV-2 bem como o antígeno livre HIV-1 são pesquisados numa amostra de sangue capilar, sangue

venoso total, plasma ou soro. (53) É considerado positivo, tal como representado na **Figura 14**, quando está presente uma banda colorida na zona controlo bem como uma banda numa das zonas de testes ou em ambas. Quando apenas existe uma banda colorida na zona do controlo, o resultado é negativo e sempre que a banda na zona de controlo está ausente, o resultado é inválido.

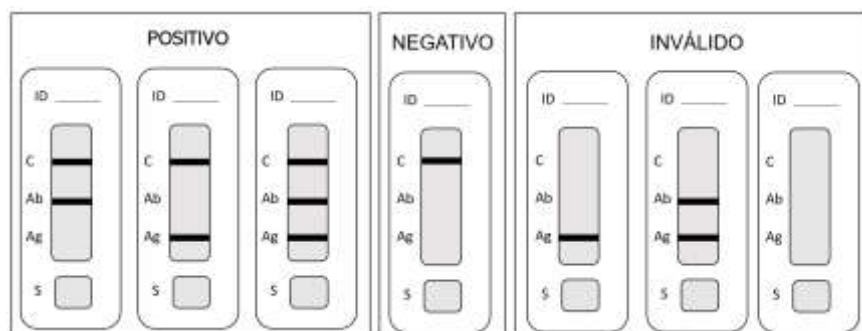


Figura 14 - Possíveis resultados de um teste rápido imunocromatográfico para deteção de antígenos e anticorpos de HIV

Testes de imunoaglutinação

Testes de Imunoaglutinação são testes de protocolo simples e de realização rápida e que se baseiam na aglutinação de anticorpos presentes na amostra de soro na presença de antígenos específicos. (54) Neste laboratório, pude assistir à realização dos 3 testes de imunoaglutinação: Rosa de Bengala, Weil-Félix e Widal (**Tabela 27**).

Tabela 27 - Testes de Imunoaglutinação realizados no laboratório e respetivos anticorpos pesquisados, possíveis diagnósticos e o tempo necessário para realizar cada teste

Teste	Diagnóstico	Anticorpos pesquisados
Rosa de Bengala	Brucelose	Anticorpos IgG e IgM anti-Brucelose
Weil-Félix	Doenças febris	- Anticorpos de diferentes grupos anti-<i>Salmonella</i> spp. - Anticorpos anti-<i>Brucella</i> spp. - Anticorpos anti-<i>Proteus</i> OX2, OX19 e OXK.
Widal	Doenças febris	Anticorpos específicos, somáticos e flagelares anti-<i>Salmonella</i> spp., anti-<i>Brucella</i> spp. e anti-<i>Proteus</i> spp.

Também pude interpretar estes testes e, para se concluir se um resultado é positivo ou negativo (se existe aglutinação ou não, respetivamente) é necessário ter em conta os

controles positivos e negativos que existem em todos os testes (**Figura 15**) e, assim, diminuir a sua subjetividade.

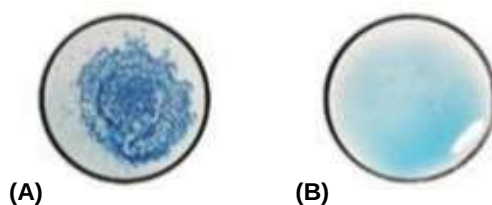


Figura 15 - Exemplo de **(A)** controlo positivo e **(B)** controlo negativo num teste de imunoaglutinação. Adaptado de *Nishanth et al.*, 2023 (55)

6. Alergologia e Autoimunidade

A secção de Alergologia e Autoimunidade tem 3 equipamentos: Phadia 250, EUROBlotMaster e IF Sprinter. Nesta secção, pude acompanhar os ensaios feitos nestes equipamentos, perceber a gestão semanal realizada e acompanhar as passagens de calibradores e controlos de qualidade interno. No entanto, o tempo despendido foi menor do que nas restantes secções, pelo que a aprendizagem foi mais superficial.

Phadia® 250

O equipamento Phadia® 250 (**Figura 16**) é desenhado para realizar testes de alergias e doenças autoimunes de forma relativamente rápida. (56) O Phadia® 250 utiliza os Ensaio Imunoenzimáticos (EIA) indiretos para a deteção e quantificação dos anticorpos presentes no plasma. (57)



Figura 16 - Equipamento Phadia® 250, da Thermo Fisher Scientific. Adaptado de *Thermo Fisher Scientific*, 2024 (58)

Ensaio imunoenzimático indireto

A EIA é uma técnica que usa as propriedades das enzimas para detetar e quantificar reações imunológicas, nomeadamente formação de complexos anticorpo-antigénio. Assim, a amostra é adicionada a uma *cup*, que contem o antigénio de interesse e os anticorpos presentes, se existirem, ir-se-ão ligar. Depois de adicionado um anticorpo secundário anti-imunoglobulina marcado com a enzima β -galactosidase, é adicionado o substrato 4-metilbeliferil- β -D-galactósido com formação de um produto fluorescente. A reação é por fim parada através de carbonato de sódio e é medida a fluorescência. De notar que todas as fases são separadas por incubação e lavagem.

Esta técnica é usada tanto para os ensaios de alergologia como para os de autoimunidade, com a diferença de que, na autoimunidade são pesquisadas imunoglobulinas IgG, IgM e IgA, enquanto que na alergologia apenas se pesquisam IgE.

Parâmetros de Autoimunidade

Na parte de autoimunidade, existem alguns conjuntos de anticorpos que são testados, como:

- Anticorpos anti-nucleares (anti-DNA, anti SSA/RO, antiCENP, anti SSB, ...) relacionados com grande variedade de doenças autoimunes (lupus, doenças mistas de tecido conjuntivo, esclerodermia, síndrome de Sjogren...);
- Anticorpos relacionados com doença celíaca (anticorpos anti-transglutaminase e anti-gliadina);
- Anticorpos ASCA (anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies) e calprotectina 2, relacionados com a doenças inflamatórias intestinais
- Anticorpos relacionados com vasculite, como membrana basal glomerular (GBM) e anticorpos anticitoplasma de neutrófilo (PR3 e MPO);
- Anticorpos relacionados com síndrome anti-fosfolipídica, como anti-cardiolipina e anti- β 2-glicoproteína;
- Anticorpos anti-célula parietal e anti-fator intrínseco, relacionado com anemia perniciosa. (58)

Parâmetros de Alergologia

No que toca às alergias, existem 3 tipos de testes que são: os múltiplos, que são mais gerais e onde são avaliadas diversas alergias diferentes para ajudar a direcionar a pesquisa, como por exemplo, um conjunto de alimentos; os simples, onde se pesquisa um de cada vez, por exemplo, o pêssigo; e os moleculares, onde se deteta a molécula de alergénico que causa alergia e a sua eventual localização, por exemplo, a pele do pêssigo.

Neste laboratório, os principais conjuntos de parâmetros pesquisados são:

- **Alimentos**, como bacalhau, ovo, camarão, pêssigo, trigo, leite, cevada, ...
- **Árvores**, como salgueiro, oliveira, eucalipto, pinheiro, ...
- **Ervas**, como erva de santiago, soda, tanchagem, ...
- **Gramineas**, como panasco, azevém, sargaço bravo, ...
- **Fungos**, como *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, ...
- **Carnes**, como porco, galinha e vaca.
- **Penas aviárias**, como de ganso, galinha, pato e peru.
- **Penas de pássaros**, como periquito, canário, papagaio, ...
- **Antibióticos**, como cefactor, amoxicilina, ampicilina, ...

IF Sprinter

O IF Sprinter (**Figura 17**) é um equipamento automatizado de coloração de lâminas utilizando a técnica de imunofluorescência indireta. (59)



Figura 17 - Equipamento IF Sprinter, EUROIMMUN. Adaptado de *EUROIMMUN*, 2022 (59)

Imunofluorescência indireta

A imunofluorescência indireta é uma técnica bastante semelhante ao ensaio imunoenzimático, mas, neste caso, o conjugado já contém um fluoróforo, pelo que não é necessário adicionar um substrato.

Nesta técnica, depois da adição da amostra de soro diluída aos campos de reação das lâminas contendo antígenos fixados nos tecidos, é adicionado um anticorpo anti-imunoglobulina marcado com fluoresceína (FITC) havendo ligação. Os anticorpos que se ligam são visíveis no comprimento de onda de excitação entre 450 e 490 nm através do microscópio de fluorescência. Todas as fases são separadas por incubação e lavagem.

(60)

Parâmetros e significado clínico

Após a preparação das lâminas, estas são montadas e observadas ao microscópio de fluorescência, onde são avaliados os padrões e intensidade da fluorescência. Os mosaicos e respectivos tecidos, anticorpos pesquisados e exemplos de significados clínicos mais comuns estão esquematizados na **Tabela 28**. De notar que uma positividade pode não se traduzir em nenhuma patologia, principalmente na ausência de sinais clínicos. Em algumas situações, depois deste ser examinado, é realizado um teste confirmatório através do EuroBlotMaster.

Tabela 28 - Mosaicos analisados nos campos das lâminas do equipamento IF Sprinter e respectivos substratos, anticorpos pesquisados e exemplos de possíveis significados clínicos

	Substrato (tecido)	Anticorpos pesquisados	Significado Clínico
Mosaico ANA	Células HEp-2	ANA e citoplasmáticos	- Lupus eritematoso sistêmico - Síndrome de Sharp - Artrite reumatoide - Esclerose sistêmica progressiva - Polimiosite
	Fígado de macaco		
Mosaico hepático	Rim de rato	<u>ASMA</u> <u>AMA</u> <u>ACTINA</u>	- Cirrose hepática biliar primária - Hepatite autoimune crônica ativa - Hepatite viral - Mononucleose infecciosa - Hepatite autoimune do tipo I
	Fígado de rato		
	Estômago de rato		
	Células VSM47		

Mosaico granulocítico	Células HEp-2 + Granulócitos em etanol	<u>ANCA</u> anti-MPO (mieloperoxidase) e anti-RP3 (proteinase-3)	- Poliangite granulomatosa - Poliangite microscópica - Granulomatose eosinófila com poliangite - Vasculites imunocomplexas
	Granulócitos em etanol		
	Granulócitos em formol		

ANA – anticorpos anti-nucleares; ANCA – anticorpos anti-citoplasma de neutrófilos; ASMA – anticorpos anti-músculo liso; AMA – anticorpos anti-mitocôndria.

EUROBlotMaster

O EUROBlotMaster (**Figura 18**) é um equipamento automatizado que processa tiras de imunoblot revestidas com conjuntos de antígenos aplicados à pesquisa de cada perfil. Após as tiras processadas, existe um scanner (flatbed scanner) com um software (EUROLineScan) que digitaliza e avalia as tiras de testes, dando um resultado negativo ou positivo semi-quantitativo. (61) Estes ensaios são usados para pesquisa de anticorpos não doseados por ELISA ou como confirmatório do ensaio de Imunofluorescência Indireta.



Figura 18 - Equipamento EUROBlotMaster, EUROIMMUN. Adaptado de *EUROIMMUN*, 2022 (61)

Imunoblot

Neste equipamento, o teste de imunoblot inicia-se pela presença de antígenos que revestem as membranas da fase sólida e, de seguida, é adicionado um tampão de lavagem. Depois de este ser aspirado, é adicionado um tampão de diluição seguido da amostra. Por fim, é adicionado um anticorpo IgG conjugado com fosfatase alcalina seguido do substrato (NBT/BCIP). Todas as etapas são separadas por incubação e algumas por lavagem. Num caso positivo, forma-se uma banda colorida, que é lida e interpretado pelo flatbed scanner.

Parâmetros e significado clínico

Neste equipamento são estudados 5 perfis, com respectivos conjuntos de antígenos, cujos anticorpos pesquisados irão direcionar o diagnóstico para uma dada patologia (Tabela 29).

Tabela 29 - Perfis de antígenos realizados no equipamento EuroblotMaster e possíveis significados clínicos relacionados a positividade nesses antígenos

Perfil	Significado Clínico
Anticorpos anti-nucleares	Doenças reumáticas, como: - Lúpus eritematoso sistêmico - Síndrome de Sharp - Esclerose sistêmica - Miosite - Síndrome de Sjögren - Artrite reumatoide; e ainda Hepatite autoimune Colangite biliar primária
Doenças hepáticas de 9 antígenos + F-actina	Hepatite autoimune Cirrose biliar primária Cirrose esclerosante primária Síndromes de sobreposição
Doenças hepáticas de 14 antígenos	
Miopatias inflamatórias autoimunes	Tipos de miosites: - Fibrodisplasia ossificante progressiva - Miosites infecciosas bacterianas, virais, parasitárias ou fúngicas - Miopatias inflamatórias idiopáticas
Esclerose sistêmica	Esclerose sistêmica autoimune

7. Urina Tipo II

O sistema laboratorial completo de análise de Urina tipo II é constituído por 2 equipamentos que estão ligados e que funcionam em conjunto: o UC-MAX e o sediMAX conTRUST PRO, ambos totalmente automatizados (**Figura 19**). Durante o estágio, executei o processamento de amostras e acompanhei a reposição de reagentes, a execução das manutenções, visualização das imagens microscópicas e interpretação e validação dos resultados.

O Menasoft é o software de manuseamento dos resultados destes dois equipamentos e passará os resultados para o CLINIdATA®, onde serão posteriormente validados. Assim, no Menasoft é possível visualizar os resultados obtidos nas tiras de reagente de teste do UC-MAX, obtendo para cada parâmetro um resultado semi-

quantitativo, e ainda 15 imagens microscópicas do sedimento através do conTRUST PRO, com legenda do que o equipamento interpreta de cada elemento presente. (62,63)



Figura 19 - Equipamentos UC-MAX e sediMAX conTRUST PRO, A. Menarini diagnostics. Adaptado de A. Menarini Diagnostics, n.d. (64)

UC-MAX

O UC-MAX é um analisador químico de fitas reagentes de urina que são colocadas no equipamento pelo operador e que darão um resultado semi-quantitativo dos parâmetros. Este sistema microquímico baseia-se na existência de blocos individuais para cada parâmetro testado e na mudança de cor de cada bloco quando este mergulha na amostra de urina. Através de um fotômetro de refletância, as mudanças de cor de cada bloco são comparadas com um quadro de cores para a obtenção dos resultados. (62)

É importante garantir a reposição dos consumíveis, que são água destilada e fitas reagentes de urina e que são essenciais para o bom funcionamento do equipamento, bem como realizar várias manutenções, como por exemplo:

- Lavagem do equipamento com uma solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% seguida de uma lavagem com água destilada;
- Esvaziar o recipiente de resíduos e lavagem com NaOCl a 2% seguida de água destilada;
- Limpeza da unidade de transportes;
- Limpeza de peças removíveis (fase de pipetagem de fitas e pente de cronometragem de fitas).

Todos os parâmetros analisados por esta metodologia podem ser úteis para auxiliar no diagnóstico do utente (**Tabela 30**), complementando outros exames e sintomatologia.

Tabela 30 - Parâmetros analisados nas fitas reagentes pelo equipamento UC-MAX e respectivos possíveis significados clínicos (65–68)

Parâmetro	Significado Clínico
Bilirrubina	Disfunção hepática Obstrução biliar
Urobilinogénio	<u>Elevado</u> – Hemólise e doença hepatocelular <u>Baixo</u> – Antibióticos e obstrução do ducto biliar
Cetonas	Gravidez Deficiência em hidratos de carbono Diabetes não controlada
Ácido ascórbico	Suplementação Alimentação rica em vitamina C
Glicose	Diabetes mellitus Síndrome de Cushing Doenças hepáticas e pancreáticas
Proteínas	Desidratação, atividade física intensa, febre, gravidez e doença renal e os seus fatores de risco (diabetes, hipertensão arterial)
Sangue	Infeção do trato urinário (ITU), infeção ou doença renal, litíase renal, exercício físico intenso e fármacos
pH	<u>Elevado</u> – Acidose tubular renal, falência renal, dieta vegetariana, ITU, vômitos, diuréticos <u>Baixo</u> – Cetoacidose diabética, diarreia, fome.
Nitritos	ITU
Leucócitos	Doenças renais, como glomerulonefrite e pielonefrite
Turvação	Fosfatúria, piúria, lipidúria, dieta rica em purinas
Cor	<u>Castanha</u> – Pigmentos biliares, mioglobínúria, fármacos <u>Preta acastanhada</u> – Pigmentos biliares, melatina, metahemoglobina, fármacos <u>Laranja</u> – Pigmentos biliares, fármacos <u>Vermelha</u> – Hematúria, hemoglobínúria, mioglobínúria, alimentos ingeridos na dieta <u>Amarela</u> – Urina concentrada, alimentos ingeridos na dieta
Densidade	<u>Elevado</u> – Desidratação, uso de diuréticos, glicosúria e proteinúria. <u>Baixo</u> – Hidratação, diabetes <i>insipidus</i> , função renal comprometida (défice de filtração)

sediMAX comTRUST PRO

Depois de realizado o teste com a tira reagente, a prateleira com o tubo de amostra de urina tipo II é transferida para o equipamento sediMAX comTRUST PRO. Para a realização do sedimento, este equipamento começa por homogeneizar a amostra de urina utilizando uma pipeta, seguida da aspiração de uma pequena quantidade de urina para uma cuvete descartável. A pipeta é lavada interior e exteriormente de modo a evitar a contaminação cruzada entre amostras. Depois da centrifugação da amostra, o sedimento

estará acumulado no fundo da cuvete, para onde está dirigido o foco da câmara. Esta tira fotografias que correspondem a 10 campos visuais de um microscópio normal em objetiva de 100x. (63)

O software MenaSOFT anteriormente referido deteta e classifica automaticamente os parâmetros avaliados neste equipamento, cujos significados clínicos podem auxiliar o diagnóstico do utente (**Tabela 31**).

Para o funcionamento do equipamento, é necessário repor os consumíveis: as tiras de reação, cuvetes e água de alimentação do instrumento. Além disso, são realizadas as manutenções:

- Lavagem do equipamento com uma solução de NaOCl (hipoclorito de sódio) a 2% seguida de uma lavagem com água destilada;
- Esvaziar o recipiente de resíduos e lavagem com NaOCl a 2%, seguida de água destilada;
- Limpeza da unidade de transportes;
- Limpeza de peças removíveis (guia de cuvetes traseira, tampa e braço da centrífuga);
- Limpeza da objetiva do microscópio com álcool a 70%.

Tabela 31 - Parâmetros analisados no sedimento urinário pelo sediMAX comTRUST PRO e respetivos possíveis significados clínicos (69–72)

Parâmetro	Significado Clínico
Eritrócitos	Isomórficos: atividade física intensa Dismórficos: inflamação e algumas doenças renais
Leucócitos	Indicador de um processo inflamatório
Cilindros hialinos	Pode estar presente em indivíduos saudáveis Hipersecreção da proteína Tamm-Horsfall
Cilindros patológicos	Evidência de comprometimento ou danos renais
Células epiteliais escamosas	Indicador de dano ou irritação de uma parte do trato urinário
Células epiteliais não escamosas	Menstruação Pode indicar uretrite e ferimento mecânico
Bactérias (geral)	Indicador de um processo infeccioso
Leveduras	Infeção fúngica do trato urinário
Cristais de oxalato de cálcio mono-hidratado	Hipercalcúria Distúrbios metabólicos Problemas renais
Cristais de oxalato de cálcio di-hidratado	pH da urina ácido Desidratação Fármacos Distúrbios metabólicos
Cristais de ácido úrico	Dieta rica em proteínas pH ácido da urina

	Em utentes em quimioterapia Gota
Trifosfatos	Inflamação ou ITU
Muco	ITU Doenças sexualmente transmissíveis Colite ulcerosa Litíase Renal
Espermatozoides	Distúrbios ejaculatórios Menor contração do esfíncter uretral interno

8. Microbiologia

A secção de Microbiologia neste laboratório é responsável pelos estudos bacteriológicos, micológicos, parasitológicos, virológicos e micobacteriológicos. Ao contrário do restante laboratório, esta secção é menos automatizada, necessitando de um trabalho mais organizado por parte do profissional.

Durante o meu estágio, tive oportunidade de participar nos estudos bacteriológicos, micológicos, parasitológicos e virológicos, tendo acompanhado e realizado o trabalho da rotina diária, incluindo semear os produtos biológicos, interpretação das placas, realização das provas de identificação presuntiva e testes imunocromatográficos e realizar identificação e antibiogramas. Além disso, pude aprender a trabalhar com os equipamentos presentes na secção e os seus funcionamentos e participar nas manutenções. Em relação à micobacteriologia, ou seja, à pesquisa de bactérias do género *Mycobacterium* é uma parte presente na secção, mas com a qual não tive contacto direto.

Exame microbiológico – rotina laboratorial

Na rotina bacteriológica, quando os produtos biológicos são entregues no laboratório, é confirmada a qualidade da amostra, de forma a se garantir que as exigências de cada produto são respeitadas. Todos os dias, os produtos biológicos são semeados e incubados à temperatura e condições (O₂ ou CO₂) exigidas. No dia seguinte, é avaliado o crescimento em placa.

Quanto à validação dos resultados, no caso das urinas, na ficha de cada utente é colocado o número de colónias, se a cultura é pura ou polimicrobiana (com ou sem predomínio) e verifica-se o antibiograma, histórico do doente e o sedimento urinário. Na folha existente de cada produto biológico, é sempre escrito os passos que são realizados

para que seja sempre possível consultar os testes que já foram realizados e respectivos resultados.

Exame a fresco

No exame a fresco, a amostra é colocada numa lâmina sem coloração e é observada ao microscópio. Este exame é realizado, por exemplo, para a pesquisa de *Trichomonas* spp. e de leveduras.

Coloração de Gram

A coloração de Gram permite diferenciar as bactérias em Gram positivas e Gram negativas, baseando-se na composição da sua parede celular. (73)

Para a execução desta coloração, primeiramente uma colónia isolada é suspensa numa gota de água destilada numa lâmina e, depois de seca, é fixada na chama de um Bico de Bunsen. A coloração de gram é realizada pelo equipamento Aerospray® Gram, EliTechGroup, que automatiza o procedimento de vaporização da lâmina com violeta de cristal, lugol (iodina), de coração com solução álcool-acetona, adição da safranina e por fim lavagem e secagem da lâmina. (74,75)

Assim, a coloração das bactérias dependerá da capacidade das bactérias Gram positivas reterem o violeta de cristal e o Lugol, tornando-se púrpura (**Figura 20.A**). Já as bactérias Gram negativas não irão reter o corante e tornam-se translúcidas, podendo reter a coloração de safranina, tornando-se vermelhas (**Figura 20.B**). (75)

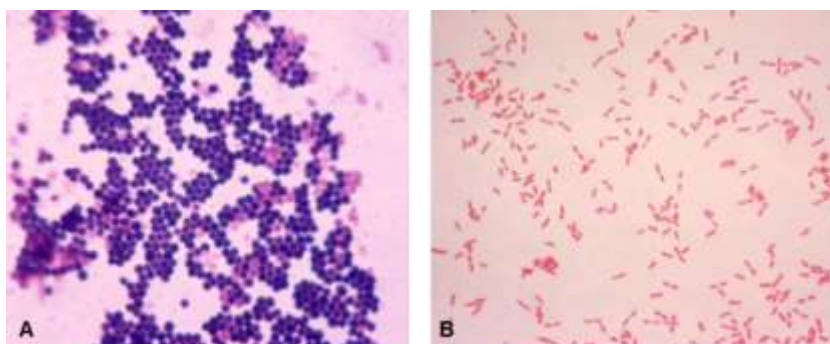


Figura 20 - (A) Cocos gram positivo. **(B)** Bacilos gram negativo. Adaptado de *Ahmad*, 2013 (76) e *Clarck*, 1977 (77)

Exame cultural

Os meios de cultura onde as amostras são semeadas neste laboratório estão listados e caracterizados na **Tabela 33**, em Anexo.

Produtos biológicos

1. Urina

A infecção do trato urinário (ITU) é a infecção mais comum no homem e normalmente é adquirida via ascendente. A urina presente nos rins e na bexiga é um produto estéril. As principais ITU são causadas por *Enterobacterales*, como *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., mas também por *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*.

A verificação da fase pré-analítica da colheita da amostra é essencial, uma vez que se a amostra estiver contaminada, é necessário pedir nova colheita, atrasando o diagnóstico clínico.

- Quando a colheita é feita pelo utente, este deve ser informado das exigências e cuidados a ter, como a boa higienização dos órgãos genitais exteriores antes da colheita da amostra e que se deve colher o jato médio no recipiente assético que lhe é fornecido.
- Nos doentes algaliados, a amostra não deve ser obtida do saco coletor.
- Em crianças é utilizado um saco coletor estéril, enquanto que em recém-nascidos, o ideal é por aspiração supra-púbica. (78)

Devido à rápida multiplicação dos microrganismos na urina à temperatura ambiente, estas amostras devem ser rapidamente transportadas e analisadas ou refrigeradas. Para o exame cultural, é utilizada urina não centrifugada e é semeada por técnica de sementeira de 4 quadrantes com uma ansa de 1 µL em 2 meios previamente identificados: gelose columbia agar+5% sangue de carneiro (COS) e gelose Mac Conkey (MCK). Depois de semeadas, as placas são colocadas a 37°C por 24h em aerobiose.

Quando crescem bactérias de possível interesse clínico (**Figura 21**) que não estão puras ou isoladas, realiza-se o re-isolamento em meios adequados. Por fim, quando se justifica, a amostra segue para realizar a identificação (ID) e teste de suscetibilidade a antibióticos (TSA).



Figura 21 - Colônias de bactérias semeadas a partir de urina assética, em meio Mackonkey. **(A)** Colônias mucoides gram negativas fermentadoras de lactose. **(B)** Colônias gram negativas em forma estrelada e não fermentadores de lactose. **(C)** Colônias não mucoides gram negativas fermentadoras de lactose

2. Sangue (hemocultura)

A hemocultura é o método de referência para confirmar uma infecção na corrente sanguínea. Como o sangue é um produto estéril, quando um microrganismo (bactéria ou fungo) é detetado, é de extrema relevância conseguir identificar rapidamente o agente etiológico e a terapêutica adequada. A utilidade do exame cultural de uma hemocultura dependerá da sua colheita, pois quando a colheita não é colhida de acordo com as exigências, o resultado pode ser falso (falso positivo ou negativo) (79):

- Condições estéreis adequadas do utente, do técnico que faz a colheita e do frasco para onde se colhe.
- Volume de sangue necessário, respeitando a proporção meio líquido/sangue (frasco de adulto – 10 mL máximo e frasco pediátrico – 2-5 mL máximo).
- Hora de colheita, que de preferência, deve ser antes do início de terapêutica de antibióticos e caso não seja possível, colher imediatamente antes da próxima toma.
- Colheita em 2 ou 3 locais anatómicos diferentes e de preferência em horas separadas, aumentado a probabilidade de detetar bacteremias menores.

Os frascos de hemoculturas devem ser entregues ao laboratório num tempo inferior a 2h após a colheita. Depois, são transportados para a secção de bacteriologia e são colocados no equipamento BACT/ALERT 3D durante um período padronizado de 5 dias. Este equipamento deteta a presença de microrganismos nas hemoculturas e caso não os detete, passados os 5 dias, o equipamento transmite-os como negativos. Caso se suspeite de brucelose ou endocardite, o período no equipamento é de, respetivamente, 21 e 12 dias. Quando, antes dos 5 dias, uma hemocultura é dada como positiva, as hemoculturas são

retiradas, semeadas em COS, MCK e gelose Chapman 2 (MAS2), e incubadas por aproximadamente 24h a 37°C em aerobiose. Qualquer crescimento relevante deve ser identificado e feito o TSA.

Ponta de cateter vascular

As contaminações das hemoculturas podem ser causadas pela entrada de microrganismos não patogênicos durante procedimentos cirúrgicos ou terapêuticas endovenosas, como por exemplo por bactérias presentes na microbiota da pele, como *Staphylococcus* coagulase negativos. Nestes casos, fazer uma sementeira a partir do rolamento do cateter vascular pode auxiliar a diferenciar um verdadeiro agente patogénico a causar infeção de apenas um contaminante (79,80).

O método de Maki é adotado para semear o cateter em meio COS e, de seguida, as placas são incubadas a 37°C por 24h. Dependendo das UFC/mL que crescem no meio e do próprio resultado das hemoculturas a que o cateter vem associado, é necessário interpretar se houve uma colonização do cateter e não uma infeção, ou, se realmente existe uma infeção associada ao cateter e por isso prossegue-se com a identificação e TSA.

BACT/ALERT 3D

O BACT/ALERT, representado na **Figura 22**, é um equipamento da bioMérieux, que permite detetar a presença de microrganismos nos frascos de hemocultura. Este equipamento recebe os frascos e mantém-nos em agitação constante e a uma temperatura de $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

Princípio Analítico: Os frascos de hemocultura possuem no seu fundo sensores de emulsão líquida (LES) que mudam visivelmente de cor quando o pH do meio é alterado devido ao aumento de CO₂ produzido pelos microrganismos. Quando mais CO₂ existe na amostra, maior a diminuição do pH e alteração da cor do fundo do frasco e mais luz é emitida ao fotodetector.

O equipamento faz leituras que são constantemente comparadas às leituras iniciais do sensor (consideradas zero). Quando há uma taxa alta e não comum de produção de CO₂ ou uma produção sustentada deste, a amostra é considerada positiva. Contrariamente, se houver pouca ou nenhuma alteração da taxa de produção deste gás, a amostra é dada como negativa. (81)



Figura 22 - Equipamento BACT/ALERT 3D, bioMérieux, automatizado para a detecção de microrganismos em frascos de hemocultura. Adaptado de *bioMérieux*, 2020 (82)

3. Aparelho respiratório superior

As vias respiratórias superiores, que se difere das inferiores no ponto do epiglote, têm uma microbiota natural, incluindo *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* e bactérias potencialmente patogénicas, como *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae*.

A maioria das infeções das vias superiores são causadas por vírus e são autolimitadas, pelo que é importante identificar o agente patogénico para que a terapêutica usada seja adequada. (83)

3.1. Exsudado nasal

A colheita do exsudado nasal utiliza uma zaragatoa estéril que é inserida nas duas cavidades nasais até se sentir resistência e rodado contra as laterais da parede nasal. Este produto é usado como controlo epidemiológico para a detecção de portadores de MRSA (*S. aureus* meticilina resistentes), em relação a *Staphylococcus* coagulase negativo (**Figura 23**).

Quando o crescimento é de valorizar, é de seguida feita a identificação e TSA.

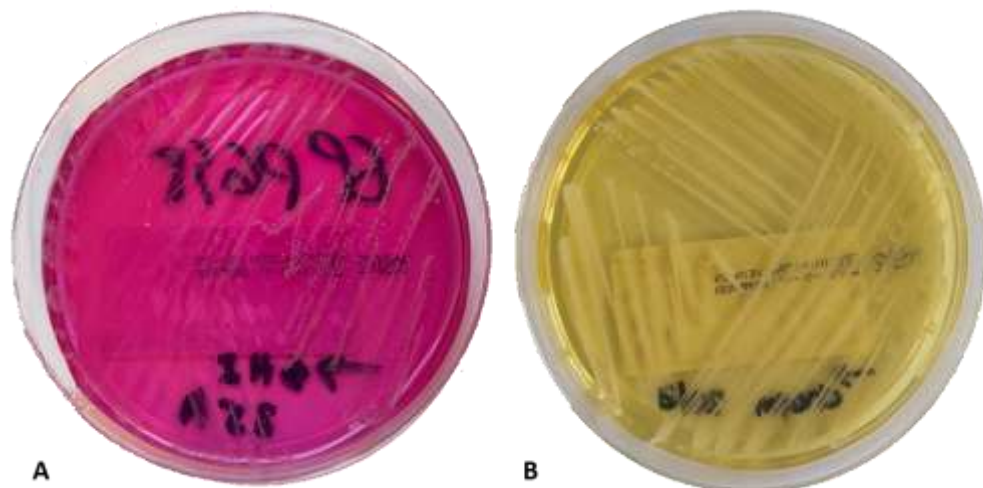


Figura 23 - Meio sólido MAS2. **(A)** Colónias brancas em meio rosa, sugestivo de *Staphylococcus coagulase negativo*. **(B)** Colónias amarelas em meio amarelo sugestivo de *S. aureus*

3.2. Exsudado faríngeo

A colheita deste exsudado deve ser de preferência de manhã, antes do consumo de alimentos, de uso de desinfetantes locais e da toma de antimicrobianos de modo a aumentar a probabilidade de deteção da bactéria. O utente é informado destas exigências e, durante a colheita, a zaragatoa estéril é introduzida até à faringe posterior, sem tocar na língua nem na mucosa bucal. A zaragatoa deve ser conservada à temperatura ambiente e enviada ao laboratório assim que possível em meio de transporte adequado.

Este teste tem como principal objetivo a pesquisa de *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* beta-hemolíticos do grupo A), um dos principais causadores de faringite bacteriana, logo, o exsudado é semeado apenas no meio COS e a placa identificada é incubada entre 24-48h em CO₂ a 37°C.

3.3. Exsudado auricular

O exsudado auricular é um produto utilizado para o diagnóstico de otite externa aguda ou crónica e otite média. Enquanto que num caso de otite externa a amostra é colhida com uma zaragatoa estéril, num caso de otite média pode ser necessário uma timpanocentese. Na maioria dos casos, o tratamento é empírico não recorrendo a análise laboratorial. (84)

Exemplos dos principais causadores de otite externa são *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, entre outros. No que toca a otite média, alguns exemplos dos principais agentes são *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *H. influenzae* e *S. pyogenes*.

O exsudado auricular é semeado em COS e Gelose Chocolate PolyViteX (PVX) a 37°C por 24h em CO₂ e em MCK e MAS2 a 37°C por 24h em aerobiose. Dependendo do local da colheita e do crescimento em si, é realizado a identificação e TSA.

4. Aparelho respiratório inferior

O sistema respiratório inferior começa aproximadamente a seguir ao epiglote e, ao contrário das infeções do trato respiratório superior, são geralmente de origem bacteriana. Como este trato não possui uma microbiota natural, estas infeções são mais facilmente associadas a casos mais graves. (85)

Os principais causadores de estas infeções incluem *Pseudomonas* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus* beta-hemolítico do grupo A, *H. influenzae* e *H. parainfluenzae*. (86,87) As amostras mais frequentes para o estudo de infeções do trato respiratório inferior são:

- Expetorações

A fase pré-analítica da colheita da expetoração é muito importante e todos os aspetos devem ser explicados ao utente. Resumidamente, a expetoração deve ser colhida de manhã, em jejum e antes da toma de qualquer medicação. O utente deve lavar as mãos e de lavar bem a boca com água antes da colheita para retirar bactérias contaminantes. Além disso, recordar o utente de tentar não tocar com a boca nem com as mãos dentro do frasco, no rebordo ou do interior da tampa. A tosse induzida deve ser profunda e deve-se evitar recolher saliva. (88,89)

- Secreções brônquicas e os lavados bronco-alveolares

A sua colheita consiste em procedimentos mais invasivos e são realizados por profissionais especializados nos respetivos setores.

Estes 3 produtos são semeados por técnica de 4 quadrantes em COS e Gelose *Haemophilus* 2 (HAE2) a 37°C em CO₂ e em MCK e MAS2 a 37°C em aerobiose. (**Figura 24**).

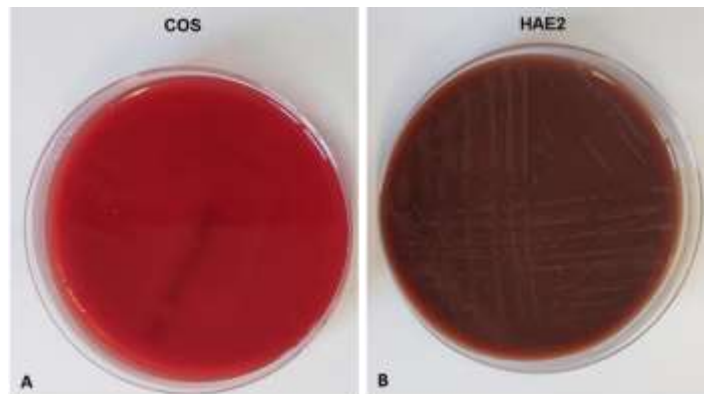


Figura 24 - Visualização de uma identificação presuntiva de *Haemophilus* spp. pela sementeira de expetoração em COS e HAE2 e incubação a 37°C em CO₂. **(A)** Placa de meio COS onde não houve crescimento. **(B)** Placa de meio HAE2 onde houve crescimento

Para a identificação de *S. pneumoniae* é possível observar a sua característica de α -hemólise, derivado da redução da hemoglobina em meta-hemoglobina, que causa uma descoloração verde ou castanha do meio, como é observado na **Figura 25**.



Figura 25 - Visualização de uma placa COS incubada a 37°C em CO₂. Placa não pura com presença de colónias de bactérias α -hemolíticas (exemplo dado pela seta preta). Característica comum de *S. pneumoniae*

5. Aparelho genital

O trato genital feminino é portador de microbiota natural, como *Lactobacillus* spp. que, no caso da vagina, contribuem para a manutenção do pH ácido, evitando o crescimento e estabelecimento de bactérias potencialmente patogénicas. Num caso de vaginose bacteriana, existe um distúrbio da flora vaginal, onde *Lactobacillus* spp. diminuem, levando ao aumento de uma variedade de outras, como *Gardnerella vaginalis* e *Prevotella* spp. Exemplos de bactérias possivelmente patogénicas incluem *S. pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *G. vaginalis*,

ou fungos como *Candida* spp., também presente na flora natural, mas que podem ter crescimento não natural.

5.1. Exsudado uretral

Através deste exsudado é possível investigar infecções exógenas, tanto de bactérias, como já referido, mas também de parasitas como *Trichomonas vaginalis*. As bactérias pesquisadas como causadores de uretrite podem ser bactérias sexualmente transmissíveis, como *Neisseria gonorrhoeae*, mas também fungos como *Candida* spp.

Este produto é semeado nos meios:

- COS, HAE2 e Gelose de Chocolate PolyViteX VCAT3 (VCA3) 24h a 37°C em CO₂;
- MCK e MAS2 24h a 37°C em aerobiose;
- Gelose Sabourad (SGC2) 24-48h a 37°C em aerobiose.

Dependendo do microrganismo que tenha crescimento, é realizada a sua identificação e TSA.

5.2. Exsudado vaginal/anal

O *Streptococcus* do grupo B (*S. agalactiae*), apesar de poder pertencer à flora vaginal da mulher, em caso de gravidez, esta bactéria pode ser transmitida ao recém-nascido durante o parto, podendo causar septicemia e/ou meningite com altas taxas de mortalidade associadas. Deste modo, a mãe deve realizar este rastreio e, em caso positivo, é submetida a profilaxia antibiótica intraparto ou outras medidas aplicadas pelo seu médico.

Para a realização deste rastreio, o exsudado vaginal/retal é semeado por técnica de 4 quadrantes em Gelose Granada (GRAN) até 48h a 37°C e em CO₂. Neste meio, as colónias de *S. agalactiae*, ao contrário de outras que possam crescer neste meio, são cor-de-laranja/salmão (**Figura 26**). (90)

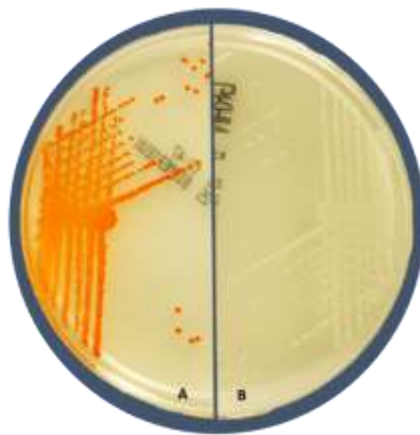


Figura 26 - Meio Granada, diferencial para *S. agalactiae*. **(A)** Colónias laranja características de *S. agalactiae*. **(B)** Exemplos de colónias não relevantes para a pesquisa de *S. agalactiae*. Adaptado de bioMérieux, 2023 (91)

5.3. Exsudado vaginal

O exsudado vaginal tem como objetivo principal diagnosticar vaginoses bacterianas, pesquisar microrganismos patogénicos e pesquisar a presença de *S. agalactiae* do grupo B em grávidas. O exsudado é usado para realizar um exame a fresco e é observado ao microscópio, onde é possível pesquisar a presença do parasita *T. vaginalis*, de leveduras, sendo a mais comum *Candida* spp., e ainda observar se há presença de “clue cells”, que vão poder levantar suspeitas sobre a existência de vaginose bacteriana. (92)

De seguida, o exsudado é semeado por técnica de 4 quadrantes em:

- COS e VCA3 por 24h a 37°C em CO₂;
- GRAN por 24h a 37°C em CO₂ – se a utente estiver grávida;
- MCK, MAS2 por 24h a 37°C em aerobiose;
- SGC2 por 24-48h a 37°C em aerobiose.

Dependendo do microrganismo, procede-se à identificação e TSA.

6. Exsudados purulentos

Os exsudados purulentos são produtos cuja relevância clínica vai depender do tipo e local da infeção, de como é colhido e do próprio historial do utente. Estes são colhidos de formas diferentes, nos respetivos setores e o modo como cada uma é processada está detalhado de seguida.

- **Zaragatoa (Superficial)**

A colheita com zaragatoa deve ser realizada após uma correta descontaminação da superfície e deve-se procurar colher amostra mais profunda para evitar contaminação. Este produto é semeado por técnica de 4 quadrantes em meios COS, MCK e MAS2 a 37°C em aerobiose por 24h. (84)

- **Profundo (Aspiração)**

Ao contrário da zaragatoa, a colheita por aspiração é realizada numa cavidade profunda, idealmente estéril, pelo que qualquer crescimento deve ser valorizado. Este produto é semeado em COS e PVX a 37°C em CO₂ entre 24 e 48h e em MCK e MAS2 a 37°C em aerobiose por 48h. Caso haja crescimento, realiza-se a identificação e o TSA. (84)

- **Biópsia**

As biópsias devem ser obtidas de porções representativas do processo infeccioso e são transportadas num recipiente estéril com tampa rosca. A biópsia é semeada por inteiro em meio líquido calso de coração e cérebro (BHI), agitar no vórtex e incubar durante 48h em aerobiose.

No dia seguinte, o recipiente da biópsia em BHI é agitado novamente no vórtex para promover a saída do conteúdo bacteriano de dentro para fora e, através da técnica de 4 quadrantes, a subcultura é semeada em COS e PVX em CO₂ de 24 a 48h a 37°C e em MCK e MAS2 por 24h a 37°C em aerobiose. As colónias bacterianas isoladas que crescerem, são identificadas e é realizado o TSA.

7. Líquidos biológicos

Os líquidos biológicos, já referidos anteriormente, quando vão sofrer avaliação microbiológica são processados de forma diferente:

- **Líquido pleural e líquido ascítico**

Estes, dependendo da quantidade de produto, podem ser colocados em frasco de hemocultura e incubados por 5 dias no Bact/ALERT ou ser colocados em meio líquido BHI e incubados por 24h a 37°C em aerobiose.

No primeiro caso, se o líquido pleural positivar, este é depois semeado em COS e HAE2 (24h, 37°C, CO₂) e em MCK e MAS2 (24h, 37°C, aerobiose) e o mesmo é feito passado as 24h em BHI. Já o líquido ascítico, se positivar, é depois semeado em COS e PVX (24h, 37°C, CO₂) e em MCK e MAS2 (24h, 37°C, aerobiose) e o mesmo é feito passado as 24h em BHI.

- **Líquido sinovial**

Ao contrário dos anteriores, este é semeado em meios sólidos: COS e PVX a 37°C 24h em CO₂ e em MCK e MAS2 em 37°C, 24h em aerobiose.

Os líquidos biológicos são produtos estéreis, logo é de valorizar qualquer crescimento, prosseguindo com a identificação e TSA.

8. Rastreio EPC – exsudado anal

As EPC (*Enterobacteriales* produtoras de carbapenemases) constituem um problema de saúde pública que tem crescido não só pela sua propagação como pela falta de antibióticos eficazes contra estas, pelo que o seu rastreio é de extrema importância para o controlo destas infeções. As principais EPC pesquisadas são *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., e *Citrobacter* spp. (93,94)

O exsudado anal é o produto utilizado para este propósito e é semeado em gelose CARBA SMART (CARB/OXA) onde o meio OXA é usado para detetar OXA-48 e o lado CARB para detetar outras *Enterobacteriaceae* produtoras de Carbapenemase. É necessário ter em atenção de semear primeiro no meio CARB e depois no meio OXA e o meio é incubado 24h, a 37°C em aerobiose.

9. Fezes

A flora microbiana intestinal é muito diversa, constituída principalmente por *Enterobacteriales* e bactérias anaeróbias. As principais bactérias pesquisadas neste produto são patogénicos, como *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp, causadoras de infeções gastrointestinais.

As amostras de fezes são semeadas em meio líquido de selenite e gelose Hektoen (HEKT), que é incubado a 37°C em aerobiose por 24h e em gelose Campylosel (CAM) até 72h a 42°C em CO₂. Passadas 24h, o meio líquido é passado para meio HEKT que é depois incubado nas mesmas condições. Neste meio é de valorizar as colónias azuis/verdes com centro negro ou não, pois são produtoras de H₂S (sulfeto de hidrogénio) (**Figura 27**). Este produto é também semeado em CAM, seletivo para *Campylobacter* spp. e a presença de colónias pequenas e esverdeadas pode ser indicativos da presença desta bactéria. (95,96)

Quando este tipo de bactérias tem crescimento neste meio, é importante prosseguir com identificação e TSA. Já outros tipos de bactérias são desvalorizados.

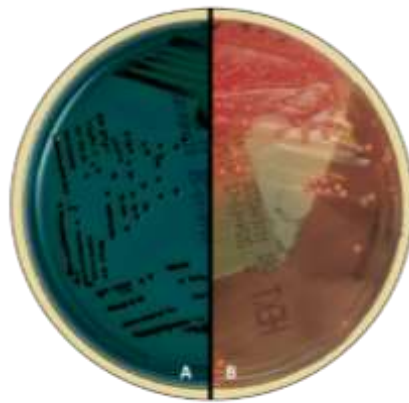


Figura 27 - Meios Hektoen, bioMérieux. **(A)** Bactérias azuis escuras sugestivas de *Salmonella* spp. ou *Shigella* spp. **(B)** Colônias amarelas/rosa desvalorizadas na pesquisa de bactérias nas fezes

Testes de identificação presuntiva

1. Oxidase

O teste da Oxidase detecta a presença da enzima citocromo oxidase da cadeia de respiração aeróbia das bactérias. Ao teste são adicionadas umas colônias de bactérias isoladas e, num caso positivo, é produzido uma pigmentação azul/roxa, representado na **Figura 28**. (97)

Este teste permite distinguir as *Enterobacteriales*, bactérias que contêm a enzima, sendo oxidase positivas, das outras bactérias oxidase negativas. A *Enterobacteriales* mais pesquisada pela sua relevância clínica é *Pseudomonas* spp. (75)

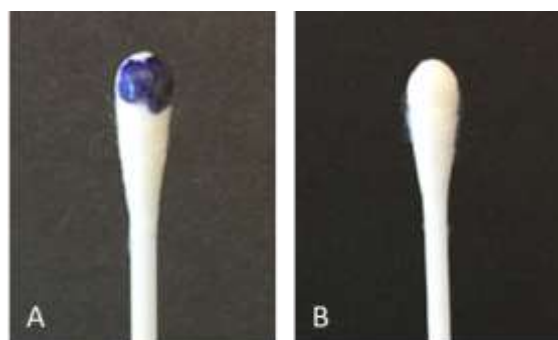


Figura 28 - Teste Oxidase. **(A)** Resultado positivo com formação de cor azul/roxa. **(B)** Resultado negativo sem alteração de cor. Adaptado de Kaiser n.d. (98)

2. Coagulase

No teste de coagulase são pesquisados os microrganismos que produzem coagulase. Esta torna os microrganismos potencialmente patogênicos invasivos pois permite-os persistir nos tecidos e protege-os de fagocitose. Este teste é utilizado para diferenciar espécies de *Staphylococcus* spp., pois apenas *S. aureus* é coagulase positivo (**Figura 29.A**). (75,99,100)

As colônias são adicionadas a um tubo com plasma de coelho em EDTA e este é incubado em aerobiose a 37°C. Se houver formação de um coágulo, o resultado é dado como positivo. Caso contrário, é colocado novamente a incubar e interpretado no dia seguinte e se continuar, o resultado é negativo (**Figura 29.B**). De notar que devido ao processo de fibrinólise, se o tubo for incubado por demasiado tempo, o coágulo pode ser digerido e resultar num falso negativo. (101)

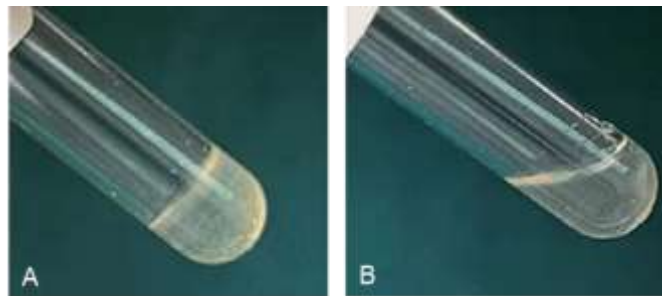


Figura 29 - Teste coagulase. **(A)** Resultado positivo, presença de coágulo. **(B)** Resultado negativo. Ausência de coágulo. Adaptado de Sapkota, 2022 (102)

3. Optoquina

A optoquina é um antibiótico derivado da quinina que é utilizado para a identificação de *S. pneumoniae* devido à sua sensibilidade a esta (**Figura 30.B**). As restantes espécies de *Streptococcus* spp. α -hemolíticos são resistentes a esta (**Figura 30.A**). Neste teste, os discos de papel impregnados com optoquina são aplicados diretamente em placas semeadas a partir de colônias isoladas. Depois, a placa é incubada a 37°C durante aproximadamente 24h em CO₂. Passado esse tempo, é realizada a leitura e interpretação e, se existir um halo de inibição ≥ 19 mm, o teste é dado como positivo. Caso não exista um halo de inibição e exista crescimento bacteriano em toda a placa, o teste é negativo. (75,101,103)

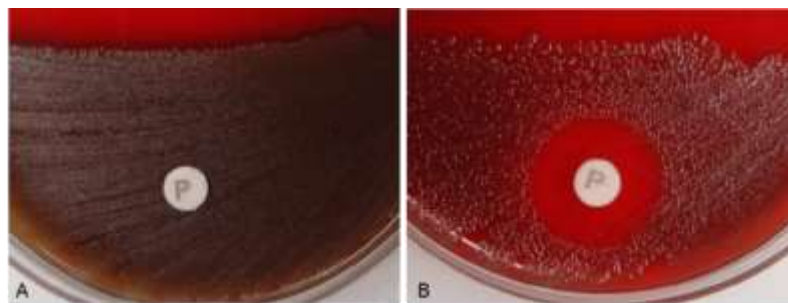


Figura 30 - Teste de Optoquina. **(A)** Resultado negativo, ausência de halo de inibição. **(B)** Resultado positivo, presença de halo de inibição. Adaptado de *Talip Al-mohanna*, 2006 (104)

Testes imunocromatográficos de identificação

O princípio dos testes imunocromatográficos para a deteção de *Legionella* spp., *S. pneumoniae* e *Campylobacter* spp. são semelhantes entre si à exceção do teste de *Clostridium difficile*.

Princípio dos testes: Na membrana do teste estão adsorvidos anticorpos anti-bactéria testada, conjugados com partículas visualizadoras na zona de teste e foram também adsorvidos anticorpos para a zona de controlo. O teste pode ser interpretado após passar o tempo indicado, neste caso, 15 minutos.

Interpretação: Num caso positivo, os antígenos presentes na amostra irão formar um complexo anticorpo-antígeno, formando 2 bandas coloridas: uma na zona de teste e uma na zona controlo. Num resultado negativo, apenas aparecerá uma banda na zona de controlo. Caso na zona de controlo não exista uma banda colorida, o teste é considerado inválido.

- ***Legionella* spp.**

A legionelose é um tipo de pneumonia grave causada pela bactéria do género *Legionella*, sendo que a maioria das infeções são causadas por *L. pneumophila*. Este teste imunocromatográfico permite detetar a presença de um antígeno específico de *L. pneumophila* do serogrupo 1 solúvel na urina de utentes infetados. (105)

- ***S. pneumoniae***

Este teste imunocromatográfico permite a deteção de antígenos de *S. pneumoniae* em amostras de urina. Este microrganismo é o principal causador de pneumonia adquirida em comunidade. (106,107)

- ***Campylobacter* spp.**

Este teste imunocromatográfico permite a deteção de antígenos de *Campylobacter* spp. em amostras de fezes. A espécie de *Campylobacter* que mais infeta o humano é *C. jejuni* e *C. coli*. (108,109)

- ***C. difficile***

C. difficile é uma bactéria anaeróbia que atua como um patógeno oportunista e a doença é causada por duas toxinas (Toxina A e B). As estirpes podem ser produtoras das duas Toxinas ou apenas de uma delas. A GDH (Glutamato Desidrogenase) é um marcador da proliferação de *C. difficile* pois esta enzima é produzida pelas colónias. (110)

Este teste imunocromatográfico tem um princípio semelhante aos anteriores, mas contém 3 zonas de teste para a pesquisa de GDH, Toxina A e Toxina B em amostras de fezes. Em casos positivos, formam-se pelos menos duas bandas coloridas, em pelo menos uma zona de teste e uma no controlo. Um teste apenas é válido quando existe uma banda colorida na zona controlo e caso contrário, o teste é inválido. (111,112)

Testes de suscetibilidade a antibióticos

1. ATB™ HAEMO

Como o equipamento utilizado não realiza antibiogramas para *Haemophilus* spp. e *Moxarella* spp, quando uma bactéria é identificada como uma destas, é realizado este antibiograma manual. Primeiro, as colónias isoladas recentemente da bactéria são inoculadas numa solução de NaCl até uma turvação específica na escala de McFarland. Depois, parte desta suspensão é colocada numa ampola de ATB S Medium disponibilizada, homogeneizada e inoculada nas cúpulas da galeria.

O ATB™ HAEMO consiste numa galeria de 16 pares de cúpulas, onde são testadas duas concentrações de uma vasta gama de antibióticos (c e C) e, dependendo do seu resultado, esse antibiótico é dado como Sensível (S) ou Resistente (R). O termo (I) significa suscetível com aumento de exposição (dose aumentada ou maior número de doses ou via de administração). (113)

2. E-Teste

O E-teste consiste em tiras de gradiente de Concentração Mínima Inibitória (CMI) numa escala de diluições de antibióticos usadas para complementar os testes

automatizados de suscetibilidade a antibióticos. O Etest Ceftazidime/Avibactam determina a suscetibilidade de espécies de *Enterobacteriales*, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. e é utilizado pois demonstrou ser ativo contra estes microorganismos *in vitro*.

Para a realização deste teste, primeiro é criado um inóculo com uma turvação da escala de McFarland específica e, com uma zaragatoa estéril, é semeado numa placa de Gelose de Muller Hinton E (MHE). De seguida, a tira de teste é aplicada com extremo cuidado (colocar a tira virada para cima e aplicar de uma só vez sem arrastar a tira pela placa). Por fim, procede-se à leitura da placa, onde, após a incubação, aparecerá uma elipse de inibição de crescimento bacteriano, como representado na **Figura 31**. Onde a elipse termina corresponde ao valor de CMI. (114)



Figura 31 - Imagem representativa de um halo de inibição de um E-Teste. Adaptado de bioMérieux, 2023 (115)

3. O.K.N.V.I. RESIST-5

Este teste imunocromatográfico é utilizado para detetar a presença de bactérias produtoras de carbapenemases e os seus padrões de resistência, que representam uma preocupação ao nível da saúde pública. Neste teste são testados 5 carbapenemases: KPC, NDM e OXA-48 no *card* 1 e VIM e IMP no *card* 2, ambos com uma linha destinada ao controlo onde está um reagente de captura.

O princípio deste teste é semelhante aos anteriormente mencionados. Depois de homogeneizar umas colónias da bactéria pura com o tampão fornecido, a amostra diluída é adicionada ao poço “*sample*”. A forma de leitura também é semelhante aos anteriores, mas, havendo várias zonas de teste, um resultado positivo pode apresentar uma ou mais bandas coloridas. (94)

Exame parasitológico

O teste parasitológico é realizado com amostras de fezes frescas e refrigeradas que devem ser colhidas em 3 dias consecutivos devido ao período negativo de eliminação parasitológica. Para a realização deste teste, é usado 3 zonas diferentes da amostra e são adicionados uma solução de formol e o acetato de etilo para separação e coloração. Depois a amostra é filtrada por um filtro num segundo tubo e por centrifugação. O sobrenadante, que contém apenas material orgânico fecal, é descartado, ficando apenas com o sedimento, que terá o material de interesse clínico. Por fim, este é re-suspendido e observado entre lâmina e lamela a microscópio ótico. (116)

Automatização

1. VITEK 2 XL

O VITEK2 XL (**Figura 32**) é um equipamento automatizado que realiza a identificação microbiana (ID) e o teste de suscetibilidade a antibióticos (TSA) de organismos isolados que cresceram nos meios semeados.



Figura 32 - Equipamento VITEK2 XL, BioMérieux, automatizado para a identificação microbiana e teste de suscetibilidade a antimicrobianos. Adaptado de bioMérieux, 2024 (117)

Enquanto que as cartas de ID contêm micropoços com reagentes bioquímicos desidratados, as cartas de TSA contêm antimicrobianos desidratados. As reações nos micropoços irão formar um dado padrão, que, comparado com padrões-teste característicos, dará a identidade de uma dada estirpe de microrganismo associado a uma percentagem de probabilidade (ID) ou a suscetibilidade que esta apresenta a cada

antimicrobiano testado bem como a indicação da existência ou ausência de resistências (TSA). (118,119)

As cartas ID utilizadas são:

- GN ID – Bactérias gram-negativas fermentadores e não fermentadores;
- GP ID – Bactérias gram-positivas;
- YST ID – Leveduras e organismos semelhantes;
- NH ID – *Neisseria* spp., *Haemophilus* spp. e outras bactérias fastidiosas.

As cartas de TSA utilizadas são:

- AST-N355 - Bactérias gram-negativas fermentadores e não fermentadores;
- AST-N427 – Bactérias gram-negativas não fermentadoras (*Pseudomonas* spp.);
- AST-P648 – Bactérias gram-positivas (*Staphylococcus* spp.);
- AST-P586 – Bactérias gram-positivas (*Enterococcus* spp.)
- AST-ST03 – *Streptococcus* spp.
- AST-YS08 – Leveduras e organismos semelhantes.

O VITEK DENSICHEK é um equipamento que auxilia na preparação de um inóculo com uma escala de turbidez específica e que é necessário para que o VITEK 2 XL consiga realizar a ID e TSA. (120) O software associado ao VITEK2 lê a placa inicial com identificação do utente bem como as cartas de ID e TSA utilizadas, organizando toda a informação e disponibilizando os resultados depois de estarem concluídos. (121)

2. [GeneXpert®](#)

O GeneXpert, da Cepheid é um equipamento de biologia molecular que utiliza a técnica de *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) e PCR a tempo real para quantificar o RNA viral presente na amostra. (122) O modo e princípio de funcionamento deste equipamento foi estudado superficialmente devido ao tempo de contacto reduzido.

Neste laboratório, este equipamento é utilizado para diagnósticos de doenças virais respiratórias, nomeadamente Covid-19 (SARS-CoV-2), Gripe A (Influenza A), Gripe B (Influenza B) e Vírus Sincicial Respiratório (RSV). Os 3 principais testes realizados são:

- Xpert® Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV (123)
- Xpert® Xpress CoV-2 plus (124)
- Xpert® Xpress Flu/RSV (125)

A amostra normalmente utilizada é um exsudado nasofaríngeo ou nasal colocado num tubo contendo meio de transporte viral. Esta é adicionada a um cartucho específico que contém os reagentes necessários e onde vai ocorrer o processo de PCR para cada teste. Este é carregado no equipamento, que processa a amostra automaticamente.

9. Controlo de qualidade externo

A avaliação externa de qualidade é um ponto essencial num contexto laboratorial para a avaliação do desempenho analítico de um laboratório através da comparação entre pares, mas também para a deteção de erros sistemáticos. O objetivo é garantir a comparabilidade, repetibilidade e uniformidade interlaboratorial dos resultados. O laboratório avaliado recebe uma amostra liofilizada e um conjunto de instruções de processamento e, depois de processadas, os resultados são devolvidos ao organizador que realizará uma análise estatística. (126)

Este laboratório participa na Avaliação Externa de Qualidade pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) que coordena o Programa Nacional de Avaliação Externa de Qualidade Laboratorial (PNAEQ) e ainda na *RANDOX International Quality Assessment* (RIQAS), coordenado pela RANDOX. Apenas a microbiologia é ainda avaliada pela UK NEQAS (*United Kingdom National External Quality Assessment Scheme*). Os parâmetros avaliados e a periodicidade de cada um estão listados na **Tabela 32**.

Tabela 32 – Parâmetros de cada secção avaliados pelo controlo de qualidade externa realizados pelo INSA, RANDOX e UK NEQAS e respetiva periodicidade

Secção		PNAEQ (INSA)	RIQAS (RANDOX)	UK NEQAS
Hematologia	Hemograma	4x / ano	12x / ano	-
	Provas de Coagulação	8x / ano	12x / ano	-
	Reticulócitos	2x / ano	-	-
	VS	4x / ano		-
	Morfologia	3x / ano		-
Química Clínica	Parâmetros de rotina	6x / ano	12x / ano	-
	Urina tipo II	3x / ano	-	-
Microbiologia	Crescimento em meios de cultura em placa; Identificação e TSA	-	-	12x / ano
	Parasitologia	3x / ano	-	-

10. Conclusão

Atualmente, as análises clínicas assumem um papel crescente nos cuidados de saúde, sendo fundamentais para o diagnóstico e tratamento de patologias e monitorização de utentes. Durante o período do meu estágio curricular, pude acompanhar, praticar e aprender sobre as áreas incluídas nas análises clínicas, como hematologia, química clínica, imunologia, alergologia e autoimunidade e microbiologia. A experiência proporcionada permitiu não apenas a consolidação teórica, mas também a aplicação prática laboratorial e de tudo o que esta envolve, desde os equipamentos e as suas manutenções, controlos internos e externos, manuseamento de amostras, realização de testes e outros procedimentos. A conjugação entre teoria e prática, aliada à supervisão dos meus orientadores, foi essencial para o aperfeiçoamento do meu conhecimento e para a minha formação.

Referências Bibliográficas

1. Simundic AM, Lippi G. Preanalytical phase - a continuous challenge for laboratory professionals. *Biochem Med (Zagreb)*. 2012;22(2):145–54.
2. McPherson R, Pincus M. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 23.^a ed. Elsevier Health Sciences; 2017.
3. Everildo Domingues. Critérios para rejeição de amostras biológicas na fase pré analítica [Internet]. 2020 [citado 9 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.linkedin.com/pulse/crit%C3%A9rios-para-rejei%C3%A7%C3%A3o-de-amostras-biol%C3%B3gicas-na-fase-domingues/?originalSubdomain=pt>
4. Ho CKM, Chen C, Setoh JWS, Yap WWT, Hawkins RCW. Optimization of hemolysis, icterus and lipemia interference thresholds for 35 clinical chemistry assays. *Pract Lab Med*. Maio de 2021;25:e00232.
5. DP Lokwani. Introduction and Significance of CBC. Em: *The ABC of CBC: Interpretation of Complete Blood Count and Histograms*. 1^o Edition. Jaypee Brothers Medical Pub; 2013.
6. Smock KJ. Examination of the Blood and Bone Marrow. Em: *Wintrobe's Clinical Hematology*. 14.^a ed. 2019. p. 182–231.

7. LabVW. Como entender o resultado de exame de sangue [Internet]. 2019 [citado 10 de Janeiro de 2024]. Disponível em: <https://labvw.com.br/como-entender-o-resultado-de-exame-de-sangue-2/>
8. Mayo Clinic. Complete blood count (CBC) [Internet]. 2023 [citado 11 de Janeiro de 2024]. Disponível em: <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/complete-blood-count/about/pac-20384919>
9. Hoffbrand A. Plaquetas, Coagulação do sangue e Hemostasia. Em: Fundamentos Em Hematologia De Hoffbrand. 7.^a ed. São Paulo: Artmed; 2018.
10. Lichtman MA. Reflections on the Reticulocyte Count: The Importance of a “Complete” Blood Count. *The Hematologist*. 2021;18(6).
11. Siatkowski M, Dahyot S, Pestel-Caron M, Boyer S. Performance evaluation of UF-4000 body fluid mode for automated body fluid cell counting. *Clinica Chimica Acta*. 4 de Abril de 2022;531:152–6.
12. Coulter International Corporation. COULTER® 3-D VCS TECHNOLOGY [Internet]. 1996 [citado 31 de Janeiro de 2024]. Disponível em: <http://www.cyto.purdue.edu/cdroms/cyto2/6/coulter/ss000125.htm>
13. Kaur V, Kare P, Madaan H. Quality Control in a Clinical Laboratory. Em: Shrestha R, editor. *Advances in Biochemistry & Applications in Medicine*1. USA: Open Access eBooks; 2018. p. 1–9.
14. Karkalousos P, Evangelopoulos A. Quality Control in Clinical Laboratories. Em: Ivanov O, editor. *Applications and experiences of quality control* [Internet]. InTech; 2011 [citado 11 de Janeiro de 2024]. p. 331–60. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/applications-and-experiences-of-quality-control/quality-control-in-clinical-laboratories>
15. Beckman Coulter. DxH 900 Hematology Analyzer [Internet]. [citado 3 de Janeiro de 2024]. Disponível em: <https://www.beckmancoulter.com/products/hematology/dxh-900?id=C23651>
16. Mendonça da Silva Chakr R, Alegretti AP. Velocidade de sedimentação globular (VSG): informações úteis para o dia a dia Erythrocyte sedimentation rate (ESR): useful information for daily practice [Internet]. Porto Alegre; 2011. p. 390–1. Disponível em: <http://seer.ufrgs.br/hcpa>
17. Mayo Clinic. Sed rate (erythrocyte sedimentation rate) [Internet]. 2023 [citado 15 de Janeiro de 2024]. Disponível em: <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/sed-rate/about/pac-20384797>
18. Grzybowski A, Sak J. Edmund Biernacki (1866-1911): Discoverer of the erythrocyte sedimentation rate. On the 100th anniversary of his death. *Clin Dermatol*. Novembro de 2011;29(6):697–703.

19. Steinvil A, Shapira I, Arbel Y, Justo D, Berliner S, Rogowski O. Determinants of the Erythrocyte Sedimentation Rate in the Era of Microinflammation. *Am J Clin Pathol*. 2008;129(3).
20. Hashemi R, Majidi A, Motamed H, Amini A, Najari F, Tabatabaey A. Erythrocyte Sedimentation Rate Measurement Using as a Rapid Alternative to the Westergren Method. *Emerg (Tehran)*. 2015;3(2).
21. Sysmex Alifax. ALIFAX® Analisadores de Velocidade de Hemosedimentação (VHS) [Internet]. [citado 15 de Janeiro de 2024]. Disponível em: <https://sysmex-alifax.com/alifax-po/>
22. ALIFAX. Folheto Informativo - LATEX Controls.
23. Ciesla B, Finnegan K, Lentowski L. Basic Procedures in a Hematology Laboratory. Em: Fratantoro C, editor. *Hematology in Practice*. 2.^a ed. F.A Davis Company; 2012.
24. Adewoyin AS, Nwogoh B. Peripheral blood film - a review. *Ann Ib Postgrad Med*. Dezembro de 2014;12(2):71–9.
25. Instrumentation Laboratory. Folheto Informativo, HemosIL (Reagente de TP). Warfen; 2019.
26. Taghizadeh M. Introduction to Thrombosis and Anticoagulant Therapy. Em: *Hematology in Practice*. 2.^a ed. F.A Davis Company; 2012. p. 283–96.
27. Castellone D. Overview of Hemostasis and Platelet Physiology. Em: *Hematology in Practice*. 2.^a ed. F.A Davis Company; 2012. p. 233–48.
28. MAYO CLINIC LABORATORIES. Clinical & Interpretative. Activated Partial Thromboplastin Time (APTT), Plasma.
29. Instrumentation Laboratory. Folheto Informativo, SynthASil (Reagente de aPTT). Warfen; 2017.
30. MAYO CLINIC LABORATORIES. Clinical & Interpretative. Fibrinogen, Plasma [Internet]. [citado 29 de Janeiro de 2024]. Disponível em: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/40937#Performance>
31. Instrumentation Laboratory. Folheto Informativo, HemosIL (Reagente de Fibrinogénio). Warfen; 2017.
32. Weitz JI, Fredenburgh JC, Eikelboom JW. A Test in Context: D-Dimer. Vol. 70, *Journal of the American College of Cardiology*. 2017.
33. Instrumentation Laboratory. Folheto Informativo, D-Dimer HS 500 (Reagente de D-Dímeros). Warfen; 2018.
34. MAYO CLINIC LABORATORIES. Clinical & Interpretative. D-Dimer, Plasma [Internet]. [citado 29 de Janeiro de 2024]. Disponível em: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/40936#Clinical-and-Interpretive>

35. Instrumentation Laboratory Co. Manual do Operador Família ACL TOP. Bedford, MA; 2011.
36. Wiencek J, Duh SH, Christenson R. Proteins: analysis and interpretation in serum, urine, and cerebrospinal fluid. Em: Clarke W, Marzinke M, editores. Contemporary Practice in Clinical Chemistry. 4.^a ed. Elsevier Inc.; 2020. p. 365–90.
37. Medical College of Wisconsin. MCW Pathology & Laboratory Medicine - Clinical Chemistry/Toxicology [Internet]. 2024 [citado 5 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.mcw.edu/departments/pathology-and-laboratory-medicine/patient-care/clinical-pathology/clinical-chemistry-toxicology>
38. Abbott. Alinity ci-series [Internet]. 2023 [citado 5 de Abril de 2024]. Disponível em: https://cdn.pepperapps.io/diagnostics-cms/public/5fc5489b0bc133350e91065a?signature=eyJhbGciOiJkaXIiLCJlbmMiOiJBMTI4Q0JDLUhTMjU2In0..K8DpTF6D180wNAYKg4TQcQ.17kSBurshn7p52cg46r-1XjiBQ1j_ROWmJm9louPBNT56QWWJZYIeRli_EH-3q6bL8AVzbgFLr5Y5xAtqiMpX1iWQm7PyZmzEFRPuvCXFuY8FJcJ_Gkq_mDOW_Z8ID-hVndNKMxgaBotQhVl-r-st2wAngVDS9wnuJvyNYGTRq9hZ6QfkPYueei_V6-eQ8CS.BSevHFipbuOQwF_rLjicog
39. Abbott. Guia de Formação - Alinity ci-series.
40. Hospital da Luz. Diabetes: como se faz o diagnóstico? [Internet]. 2019 [citado 20 de Fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://www.hospitaldaluz.pt/pt/dicionario-de-saude/diabetes-diagnostico>
41. Alataş ÖD, Biteker M, Demir A, Yıldırım B, Acar E, Gökçek K, et al. Microalbuminúria e seu Significado Prognóstico em Pacientes com Insuficiência Cardíaca Aguda com Fração de Ejeção Preservada, Intermediária e Reduzida. Arq Bras Cardiol. 22 de Dezembro de 2021;
42. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentos De Química Clínica E Diagnóstico Molecular. 7.^a ed. 2016.
43. Abbott. Diagnostics Panels, Alinity. 2024 [citado 13 de Março de 2024]; Disponível em: <https://www.corelaboratory.abbott/us/en/offerings/brands/alinity.html>
44. MAYO CLINIC LABORATORIES. Clinical & Interpretative. Urea, Random, Urine [Internet]. 2024 [citado 8 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/614061#Clinical-and-Interpretative>
45. MAYO CLINIC LABORATORIES. Cinical & Interpretative. T4 (Thyroxine), Total and Free, Serum [Internet]. 2024 [citado 27 de Fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/36108>

46. MAYO CLINIC LABORATORIES. Clinical & Interpretative. T3 (Triiodothyronine), Total, Serum [Internet]. 2024 [citado 27 de Fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/8613#Clinical-and-Interpretative>
47. MAYO CLINIC LABORATORIES. Clinical & Interpretative. Thyroid-Stimulating Hormone-Sensitive (s-TSH), Serum [Internet]. 2024 [citado 27 de Fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/8939#Clinical-and-Interpretative>
48. Grotto HZW. Iron metabolism: An overview on the main mechanisms involved in its homeostasis. Rev Bras Hematol Hemoter. 2008;30(5).
49. Dennis L. Kasper, Anthony S. Fauci, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, Joseph Loscalzo. Harrison's Principles of Internal Medicine. 20.^a ed. 2018.
50. Administração Regional De Saúde De Lisboa e Vale do Tejo. Centro Hospitalar Psiquiátrico de Lisboa. 2020 [citado 4 de Março de 2024]. Benzodiazepinas. Disponível em: <https://www.chpl.min-saude.pt/wp-content/uploads/sites/39/2020/07/benzodiazepinas.pdf>
51. Yasukawa T, Mizutani F, Suzuki M. Point of care testing apparatus for immunosensing. Chemical, Gas, and Biosensors for Internet of Things and Related Applications. 1 de Janeiro de 2019;193–205.
52. Watson ID. CLINICAL DIAGNOSIS: CHROMATOGRAPHY. Encyclopedia of Separation Science. 1 de Janeiro de 2000;2484–90.
53. Abbott. Determine HIV Products User Training Presentation (English) [Internet]. 2022 [citado 26 de Março de 2024]. Disponível em: https://view.officeapps.live.com/op/view.aspx?src=https%3A%2F%2Fcontent.veeabb.com%2F1d09429b-8373-419f-8f1a-d28f9586863a%2F449c7961-f944-4623-bfe6-38270e7a4766%2F449c7961-f944-4623-bfe6-38270e7a4766_source__v.pptx&wdOrigin=BROWSELINK
54. Zhang S, Ma Z, Zhang Y, Wang Y, Cheng Y, Wang W, et al. On-chip immuno-agglutination assay based on a dynamic magnetic bead clump and a sheath-less flow cytometry. Biomicrofluidics. 1 de Julho de 2019;13(4).
55. Nishanth MAD, Gourkhede D, Paidipally L, Borse R, Pollumahanti N, Nair A, et al. Comparative evaluation of in-house developed latex agglutination test (LAT) with World Organisation for Animal Health (WOAH) -recommended methods for the detection of Bacillus anthracis spores from the soil. J Microbiol Methods. Agosto de 2023;211:106778.
56. Alhajj M, Zubair M, Farhana A. Enzyme Linked Immunosorbent Assay. 2024.
57. Thermo Scientific. Folheto Informativo: Phadia® 250. 2017.

58. Thermo Fisher Scientific. EliA product list. 2021.
59. EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG. IF Sprinter [Internet]. 2022 [citado 11 de Março de 2024]. Disponível em: https://www.euroimmun.com/documents/Automation/IFA/IF_Sprinter/YG_0032_I_UK_A.pdf
60. EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG. Indirect immunofluorescence tests (IIFT) [Internet]. 2024 [citado 11 de Março de 2024]. Disponível em: <https://www.euroimmun.com/products/techniques/ifa/>
61. EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG. EUROBlotMaster [Internet]. 2022 [citado 12 de Março de 2024]. Disponível em: https://www.euroimmun.com/documents/Automation/Immunoblot/EUROBlotMaster/YG_0151_I_UK_B.pdf
62. A. Menarini diagnostics. Manual de Utilizador do equipamento UC-MAX.
63. A.Menarini Diagnostics. Manual de Utilizador do equipamento sediMAX conTRUST PRO.
64. A.Menarini Diagnostics. 2024. [citado 10 de Abril de 2024]. UC-MAX - Features. Disponível em: <https://www.menarinidiagnostics.com/en-us/Home/Professional-Diagnostics/Urinalysis/UC-MAX/Features>
65. MAYO CLINIC DIAGNOSTICS. Blood in urine (hematuria) [Internet]. 2023 [citado 3 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/blood-in-urine/symptoms-causes/syc-20353432>
66. American Kidney Fund. Protein in Urine (Proteinuria) Causes, Symptoms, Tests & Treatments [Internet]. 2024 [citado 3 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.kidneyfund.org/all-about-kidneys/other-kidney-problems/protein-urine>
67. UCSF Health. Urine pH test [Internet]. 2021 [citado 3 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.ucsfhealth.org/medical-tests/urine-ph-test#>
68. Simerville JA, Maxted WC, Pahira JJ. Urinalysis: A Comprehensive Review - American Family Physician. Am Fam Physician [Internet]. 15 de Março de 2005 [citado 3 de Abril de 2024];71(6):1153–62. Disponível em: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2005/0315/p1153.html>
69. Gill K, Horsley H, Kupelian AS, Baio G, De Iorio M, Sathiananamoorthy S, et al. Urinary ATP as an indicator of infection and inflammation of the urinary tract in patients with lower urinary tract symptoms. BMC Urol. 21 de Dezembro de 2015;15(1):7.
70. Leonard J, Belingit A. Medical News Today. 2024 [citado 4 de Abril de 2024]. What can you do about mucus in the urine? Disponível em: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/321112>

71. Tomita M, Kikuchi E, Maeda T, Kabeya Y, Katsuki T, Oikawa Y, et al. Clinical Background of Patients with Sperm in Their Urinary Sediment. PLoS One. 11 de Setembro de 2015;10(9):e0136844.
72. Baños-Laredo ME, Núñez-Álvarez CA, Cabiedes J. Urinary sediment analysis. Reumatología Clínica (English Edition). Janeiro de 2010;6(5):268–72.
73. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The Bacterial Cell Envelope. Cold Spring Harb Perspect Biol. 1 de Maio de 2010;2(5):a000414–a000414.
74. EliTechGroup. Aerospray® Gram - Application Manual [Internet]. 2023 [citado 15 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.aerospraystaining.com/gram.php>
75. Brooks GeoF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg. 26.^a ed. artmed; 2014.
76. Ahmad U. MBBS Study Stuff. 2013 [citado 15 de Abril de 2024]. Staphylococcus aureus. Disponível em: <https://mbbsstudystuff.wordpress.com/2013/10/07/staphylococcus-aureus/>
77. Clarck WA. Public Health Image Library (PHIL). 1977 [citado 15 de Abril de 2024]. Alcaligenes faecalis. Disponível em: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=1250>
78. Wong E, et al. APIC guidelines. 2000. Guidelines for Prevention of Catheter – Associated Urinary Tract Infections.
79. BIOMÉRIEUX. Blood Culture: A key investigation for diagnosis of bloodstream infections [Internet]. bioMérieux. 2018 [citado 22 de Abril de 2024]. Disponível em: <http://www.biomerieux-usa.com/>
80. Streck N. MAYO CLINIC LABORATORIES. 2023 [citado 22 de Abril de 2024]. Blood Cultures . Disponível em: <https://news.mayocliniclabs.com/2023/11/15/blood-cultures/>
81. BIOMÉRIEUX. BACT/ALERT 3D - User Manual [Internet]. bioMérieux. 2010 [citado 22 de Abril de 2024]. Disponível em: http://www.frankshospitalworkshop.com/equipment/documents/automated_analyzer/user_manuals/Biomerieux%20Bact-Alert%203D%20-%20User%20Manual.pdf
82. bioMérieux. BACT/ALERT® 3D - Folheto Informativo [Internet]. BIOMÉRIEUX. 2020 [citado 2 de Maio de 2024]. Disponível em: BACT/ALERT® 3D
83. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev. Julho de 1997;10(3):505–20.
84. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Medical Microbiology. 8.^a ed. Elsevier Inc.; 2016.
85. Carroll KC, Adams LL. Lower Respiratory Tract Infections. Microbiol Spectr. 12 de Agosto de 2016;4(4).

86. Naldi J, Rosidah R, Loesnihari R. Identification of bacteria associated with lower respiratory tract among patients attending in general hospital dr. Pirngadi medan. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2018;11(9).
87. Singh S, Sharma A, Nag V. Bacterial pathogens from lower respiratory tract infections: A study from Western Rajasthan. J Family Med Prim Care. 2020;9(3):1407.
88. Centro Hospitalar Universitário de São João. SNS - Serviço Nacional de Saúde. 2020 [citado 23 de Abril de 2024]. Colheita de Expetoração em doentes adultos e crianças colaborantes. Disponível em: https://portal-chsj.min-saude.pt/portalchsj/uploads/writer_file/document/2881/FBQ-IM004-0_-_Colheita_de_Expexctora_o.pdf
89. COVID-19: Diagnóstico Laboratorial - Orientação [Internet]. SNS - Sistema Nacional de Saúde. 2020 [citado 23 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.spmi.pt/wp-content/uploads/2020/04/DGS-Orientac%CC%A7a%CC%83o-diagno%CC%81stica-laboratorial.pdf>
90. Becton Dickinson GmbH. BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium) - Folheto Informativo [Internet]. 2013 [citado 26 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.bd.com/resource.aspx?idx=9111>
91. bioMérieux. Granada agar [Internet]. 2023 [citado 26 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.biomerieux-culturemedia.com/product/12-granada-agar>
92. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Sobel JD, Dörffel Y, Guschin A. Clue Cells and Pseudo Clue Cells in Different Morphotypes of Bacterial Vaginosis. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12.
93. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey's & Scott's Diagnostic Microbiology. 12.^a ed. Mosby, Elsevier; 2007.
94. Coris BioConcept. O.K.N.V.I. RESIST-5 - Folheto Informativo [Internet]. Coris BioConcept. 2023 [citado 18 de Abril de 2024]. Disponível em: www.corisbio.com
95. bioMérieux. Get A Culture Ahead [Internet]. [citado 29 de Abril de 2024]. Disponível em: https://www.biomerieux.es/sites/subsidiary_es/files/02-12_9301631-002-gb-c_catalogue_ppm.pdf
96. bioMérieux. Hektoen agar [Internet]. 2024 [citado 29 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.biomerieux-culturemedia.com/product/38-hektoen-agar>
97. Dharmappa DC, Archana A, Vinay K. Oxidase test: A biochemical method in bacterial identification. AgriCos e-Newsletter. 2022;3(1).
98. Kaiser G. Biology LibreTexts. [citado 16 de Abril de 2024]. Oxidase Test. Disponível em: https://bio.libretexts.org/Learning_Objects/Laboratory_Experiments/Microbiology_L

- abs/Microbiology_Labs_II/12%3A_Isolation_and_Identification_of_Enterobacteriaceae_and_Pseudomonas_Part_1/12.06%3A_Results_from_Testing_Procedures_Used_in_This_Lab/12.6.04%3A_Oxidase_Test
99. Biomedicina UCA. Um convite à Biomedicina. 2011 [citado 16 de Abril de 2024]. Provas para identificação de bactérias: Catalase e Coagulase. Disponível em: <https://umconviteabiomedicina.blogspot.com/2011/04/identificacao-de-bacterias-catalase-e.html>
 100. Reynolds J. Biology LibreTexts. [citado 16 de Abril de 2024]. Coagulase Test. Disponível em: https://bio.libretexts.org/Learning_Objects/Laboratory_Experiments/Microbiology_Labs/Microbiology_Labs_I/31%3A_Coagulase_Test
 101. Collins CH, Lyne PM, Grange JM, Falkinham JO. Collins and Lyne's Microbiological Methods. 8.^a ed. ARNOLD; 2004. 329–333 p.
 102. Sapkota A. Microbe Notes. 2022 [citado 16 de Abril de 2024]. Coagulase Test- Principle, Procedure, Types, Result, Uses. Disponível em: <https://microbenotes.com/coagulase-test-principle-procedure-and-result-interpretation/>
 103. Aryal S. Microbiology Info.com. 2022 [citado 16 de Abril de 2024]. Optochin Susceptibility Test for the identification of Streptococcus pneumoniae. Disponível em: <https://microbiologyinfo.com/optochin-susceptibility-test-for-the-identification-of-streptococcus-pneumoniae/>
 104. Talip Al-mohanna M. University of Al-Qadisiyah. 2006 [citado 16 de Abril de 2024]. Identification and Characterization of Streptococcus pneumoniae. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/315830494_Identification_and_Characterization_of_Streptococcus_pneumoniae
 105. MONLAB. Legionella Monlab Test - Folheto Informativo [Internet]. 2023 [citado 18 de Abril de 2024]. Disponível em: www.monlab.com
 106. MONLAB. S. pneumoniae MonlabTest - Folheto Informativo [Internet]. 2023 [citado 18 de Abril de 2024]. Disponível em: <http://www.monlab.com/>
 107. CerTest BIOTEC. One Step S. pneumoniae Card Test - Folheto Informativo [Internet]. 2017 [citado 18 de Abril de 2024]. Disponível em: www.certest.es
 108. CerTest BIOTEC. One Step Campylobacter CARD TEST - Folheto Informativo [Internet]. 2018 [citado 18 de Abril de 2024]. Disponível em: www.certest.es
 109. MONLAB. Campylobacter MonlabTest - Folheto Informativo. 2023.
 110. MONLAB. C. DIFFICILE Ag (GDH) MonlabTest - Folheto Informativo. 2023.
 111. MONLAB. C. difficile Toxins A+B Monlab Test - Folheto Informativo [Internet]. 2023 [citado 18 de Abril de 2024]. Disponível em: <http://www.monlab.com/>

112. Coris BioConcept. Clostridium K-SeT - Folheto Informativo [Internet]. 2023 Fev. Disponível em: www.corisbio.com
113. bioMérieux. ATBTM HAEMO - Folheto Informativo. BIOMÉRIEUX. 2020.
114. bioMérieux. bioMérieux. 2022 [citado 18 de Abril de 2024]. ETEST®. Disponível em: <https://www.biomerieux.pt/produto/etestr#top>
115. bioMérieux. BIOMÉRIEUX. 2023 [citado 2 de Maio de 2024]. ETEST®. Disponível em: <https://www.biomerieux.pt/produto/etestr>
116. Bailenger Systems. User Manual for Parasitrap®.
117. bioMérieux. BIOMÉRIEUX. 2024 [citado 2 de Maio de 2024]. VITEK2. Disponível em: <https://www.biomerieux.pt/produto/vitekr-2>
118. bioMérieux. bioMérieux. 2024 [citado 30 de Abril de 2024]. VITEK® 2 AST Cards. Disponível em: <https://www.biomerieux.pt/produto/vitek-2-ast-cards>
119. bioMérieux. bioMérieux. 2024 [citado 30 de Abril de 2024]. VITEK® 2 ID Cards. Disponível em: <https://www.biomerieux.pt/produto/vitekr-2-id-cards>
120. bioMérieux. bioMérieux. [citado 30 de Abril de 2024]. VITEK® DENSICHECK®. Disponível em: https://www.biomerieux.com/content/dam/biomerieux-com/03----our-offer/clinical/in-hospital--in-lab/products/vitek-2/documents/VITEK%20DENSICHECK_9316184-002-GB-A.pdf
121. bioMérieux. bioMérieux. 2020 [citado 30 de Abril de 2024]. VITEK 2 Version 9 Software & VITEK DENSICHECK. Disponível em: <https://go.biomerieux.com/vitek-2-software>
122. Cepheid. Cepheid. 2018 [citado 30 de Abril de 2024]. GeneXpert Technology Overview. Disponível em: <https://www.cepheid.com/content/dam/www-cepheid-com/documents/documents/301-training-materials/301-0739%20Rev%20%20D%20System%20User%20Training.pdf>
123. Cepheid. Xpert® Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV - Folheto Informativo [Internet]. Cepheid. 2022 [citado 30 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.cepheid.com/content/dam/www-cepheid-com/documents/package-insert-files/Xpert%20Xpress%20CoV-2%20plus%20PORTUGUESE%20Package%20Insert%20302-7342-PT%20Rev%20C.pdf>
124. Cepheid. Xpert® Xpress CoV-2 plus - Folheto Informativo. Cepheid. 2022.
125. Cepheid. Xpert® Xpress Flu/RSV - Folheto Informativo [Internet]. Cepheid. 2022 [citado 30 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.cepheid.com/content/dam/www-cepheid-com/documents/package-insert-files/Xpress-Flu-RSV-US-IVD-PORTUGUESE-Package-Insert-301-7239-PT-Rev.%20D.pdf>

126. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). Avaliação Externa da Qualidade [Internet]. 2024 [citado 1 de Fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://www.insa.min-saude.pt/category/servicos/avaliacao-externa-da-qualidade/>
127. bioMérieux. BIOMÉRIEUX. 2024 [citado 2 de Maio de 2024]. Meios de Cultura, BioMérieux - Folhetos Informativos. Disponível em: <https://www.biomerieux.pt/produto/meios-de-cultura-convencionais>

Anexos

Tabela 33 - Meios de cultura sólidos e líquidos utilizados e respetiva composição, características e função. (93,127)

	Composição	Características e Função
Columbia agar+5% sangue de carneiro (COS)	Sangue de carneiro; Peptonas	Meio de enriquecimento não seletivo utilizado para o isolamento de bactérias fastidiosas ou não, bem como para a deteção de hemólise
Gelose Mac Conkey (MCK)	Peptonas, violeta de cristal, lactose, vermelho neutro	Meio seletivo para o isolamento de Gram Negativos e diferencial entre fermentadores de lactose e não fermentadores de lactose. Inibidor do crescimento de Gram Positivos.
Gelose Chapman 2 (MAS2)	Peptonas, extrato de leveduras, lactose, D-Manitol, vermelho de fenol e cloreto de sódio	Meio seletivo para o isolamento de <i>Staphylococcus</i> spp. e diferencial entre fermentadores de manitol (identificação presuntiva de <i>S. aureus</i>) e não fermentadores de manitol.
Gelose Haemophilus 2 (HAE2)	Fatores hemina e NAD, hemoglobina, mistura de antibióticos e antifúngicos.	Meio seletivo para o isolamento de <i>Haemophilus</i> spp.
Gelose Chocolate PolyViteX (PVX)	Fatores hemina (X) e NAD (V), hemoglobina	Meio não seletivo, mas diferencial para isolamento de <i>Neisseria</i> spp., <i>Haemophilus</i> spp. e de <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Gelose de Chocolate PolyViteX VCAT3 (VCA3)	Fatores hemina, NAD, hemoglobina, mistura de antibióticos	Meio seletivo para o isolamento de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> e de <i>Neisseria meningitidis</i> .
Gelose Hektoen (HEKT)	Lactose, sacarose, salicina, tiosulfato de sódio, citrato férrico amoniacal, azul de bromotimol e fucsina ácida	Meio seletivo para o isolamento de <i>Salmonella</i> spp. e <i>Shigella</i> spp.

Gelose CARBA SMART (CARB/OXA)	Peptonas, mistura de substratos cromogénicos, mistura de antibióticos seletivos para CARB ou para OXA-48	Meio seletivo para o isolamento de <i>Enterobacterales</i> produtoras de Carbapenemases
Gelose Granada (GRAN)	Peptonas, piruvato e glucose	Meio seletivo para o isolamento e identificação de <i>Streptococcus</i> grupo B (<i>Streptococcus agalactiae</i>)
Gelose de Muller Hinton E (MHE)	Peptona de caseína, extrato de carne	Meio não seletivo utilizado para o estudo manual de sensibilidade a antibióticos em bactérias previamente isoladas
Caldo de coração e cérebro (BHI) Meio Líquido	Nutrientes, glicose, peptonas, vitaminas, cloreto de sódio	Meio de enriquecimento não seletivo utilizado para o crescimento de bactérias existentes através da riqueza nutritiva do meio
Caldo Selenito Meio Líquido	Peptonas, lactose, biosselenito de sódio	Meio de enriquecimento usado para o isolamento e crescimento de <i>Salmonella</i> spp. e <i>Shigella</i> spp. e tóxico para outras <i>Enterobacterales</i>
Gelose Campylosel (CAM)	Sangue de carneiro e mistura de antibióticos	Meio seletivo para o isolamento de <i>Campylobacter</i> spp.
Gelose de Muller Hinton 2 agar + 5% sangue de carneiro	Sangue de carneiro, peptona de caseína e extrato de carne	Meio não seletivo utilizado para o estudo manual de sensibilidade a antibióticos para pneumococcus e outros <i>Streptococcus</i> spp. já isolados
Gelose Sabourad (SGC2)	Peptonas, glucose, gentamicina e gelose ligeiramente ácida	Meio seletivo para o isolamento de fungos e leveduras. Pesquisa de <i>Candida albicans</i>