

POLI TÉCNICO GUARDA

Escola Superior de Saúde

**ESTÁGIO EM ANÁLISES CLÍNICAS NO
LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DA EGIANÁLISE**

ESTÁGIO EM CONTEXTO DE OBTENÇÃO DE GRAU DE LICENCIADA EM
BIOTECNOLOGIA MEDICINAL

Daniela Sofia Cardoso Pedro

Setembro de 2023

POLI TÉCNICO GUARDA

Escola Superior de Saúde

ESTÁGIO EM ANÁLISES CLÍNICAS

LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DA EGIANÁLISE

ESTÁGIO EM CONTEXTO DE OBTENÇÃO DE GRAU DE LICENCIADA EM

BIOTECNOLOGIA MEDICINAL

Supervisor: Dr. Jorge Moreira

Docente Orientador: Dr. Ricardo Marques

AGRADECIMENTO

Com o culminar desta etapa da minha vida prestes a chegar ao fim, sinto estar a concluir um desejo e um objetivo pessoal, e por esse mesmo motivo quero agradecer a todos os que tiveram de alguma forma envolvidos neste processo desde família, amigos e claro ao Instituto Politécnico da Guarda - Escola Superior de Saúde como instituição e a todos os professores com os quais me cruzei e que me ajudaram a evoluir e a melhorar de formas diferentes.

Primeiramente quero agradecer à minha mãe por todas as palavras de apoio, carinho e coragem que sempre me deu para alcançar o que mais quero ao longo da minha vida. Aproveito ainda, para agradecer ao meu noivo por toda a força ao longo destes três anos e me dar sempre uma palavra de apoio quando mais precisei. Por último, mas não menos importante, agradeço aos meus avós por me ajudarem em tudo o que lhes foi possível bem como a toda a família que comemora as minhas vitórias como se tratasse das deles. Gostaria de aproveitar ainda para agradecer ao Dr. Jorge Moreira por me ter permitido realizar o estágio no seu laboratório de análises clínicas e pela oportunidade que me deu de realizar as tarefas que são feitas no dia-a-dia num laboratório. Faço também um agradecimento muito especial, ainda que não permita representar tudo que fez por mim, à Dra. Daniela Barreiros, pelo apoio que me providenciou ao longo desta jornada que foi o estágio, por me desafiar a saber sempre mais e por me ajudar a concretizar todas as metas que tinha proposto a mim própria antes de entrar nesta caminhada. Agradeço ainda a todas as pessoas que trabalham no laboratório pelo carinho e dedicação com que cada uma delas me ajudou a compreender como tudo funcionava.

Aproveito também para agradecer ao Professor Doutor Ricardo Marques por toda a ajuda prestada ao longo destes meses de estágio e ao longo do processo de realização do relatório final.

E por fim agradeço também às duas pessoas que foram as minhas companheiras de curso e que estiveram lá para mim independentemente da situação e que me ajudaram em tudo o que lhes foi possível, um obrigado do fundo do meu coração a vocês Cláudia e Rita.

RESUMO

Com este relatório de estágio pretende-se descrever as atividades realizadas no Laboratório de Análises Clínicas Egianálise (LACE), no âmbito do estágio realizado para a finalização da licenciatura em Biotecnologia Medicinal. O LACE é uma empresa que oferece uma variedade de serviços, incluindo hematologia, bioquímica, serologia, imunologia e microbiologia. Ao longo deste relatório, será possível compreender as informações fornecidas por cada uma dessas áreas em relação à saúde dos utentes que solicitam os testes, bem como a forma como cada teste é realizado.

Será possível compreender os procedimentos de colheita das amostras, os instrumentos utilizados para realizar as diversas análises oferecidas pelo laboratório, sendo fornecidas imagens ilustrativas das análises realizadas no local.

Além disso, será discutida a importância das fases pré-analítica, analítica e pós-analítica no laboratório, destacando-se a importância da manutenção do rigor nessas fases, o que contribui para a qualidade dos resultados obtidos. Será apresentada uma visão geral sobre o funcionamento de cada equipamento utilizado no laboratório, bem como uma compreensão detalhada sobre a realização de cada teste.

No estágio foi possível melhorar e consolidar técnicas específicas relacionadas com o laboratório, bem como aplicar conhecimentos adquiridos ao longo de três anos de licenciatura, assim com o contato com a realidade de trabalhar num laboratório de análises clínicas.

Palavras-Chave: LACE, Colheitas, Fase pré-analítica, Fase analítica, Fase pós-analítica

ABSTRACT

This internship report aims to describe the activities carried out at the Clinical Analysis Laboratory Egianálise (LACE), as part of completing the degree in Medicinal Biotechnology. LACE is a company that offers various services, including hematology, biochemistry, serology, immunology, and microbiology. Throughout this report, it will be possible to understand the information provided by each of these areas in relation to the health of the users requesting the tests, as well as how each test is performed.

It will be possible to understand the sample collection procedures, and the instruments used to perform the various tests offered by the laboratory, and illustrative images of the tests performed on site will be provided.

In addition, the importance of the pre-analytical, analytical, and post-analytical phases in the laboratory will be discussed, highlighting the importance of maintaining rigor in these phases, and contributing to the results' quality. An overview of the operation of each piece of equipment used in the laboratory will be presented, as well as a detailed understanding of how to perform each test.

During this internship, it was possible to improve and consolidate specific techniques related to the laboratory, as well as to apply knowledge acquired over three years of my degree, and to get to know the reality of working in a clinical analysis laboratory.

Keywords: LACE, Collections, Pre-analytical stage, Analytical stage, Post-analytical stage

LISTA DE SIGLAS

LACE - Laboratório de Análises Clínicas da Egianálise

CQI - Controlo de Qualidade Interna

CQE - Controlo de Qualidade Externo

PT - Tempo de Protombina

APTT - Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado

CID - *Clostridium difficile*

RGPD - Regulamento Geral de Proteção de Dados

VDRL – Laboratório de investigação das doenças venéreas

TPHA – *Treponema pallidum*

VHA- Hepatite A

FBG- Fibrinogénio

UFC- Circuito unificado de fluidos

RET- Canal de reticulócitos

PMT- Tubo fotomultiplicador

HCG- Hormona gonadotrofina coriónica humana

SPR- Partículas Super Paramagnéticas

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO | 5 |
| 3. CONTROLO DE QUALIDADE | 7 |
| 3.1. CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO..... | 7 |
| 3.2. CONTROLO DE QUALIDADE EXTERNO | 8 |
| 4. RESÍDUOS..... | 11 |
| 5. VALIDAÇÃO DOS RESULTADOS E SIGILO PROFISSIONAL..... | 13 |
| 6. COLHEITA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS | 15 |
| 7. EQUIPAMENTOS LABORATORIAIS | 21 |
| 7.1 Analisadores da área da Hematologia | 21 |
| 7.2 Analisadores da área da Bioquímica..... | 25 |
| 7.3 Analisadores da área da Serologia | 27 |
| 8. HEMATOLOGIA | 29 |
| 8.1 HEMOGRAMA | 31 |
| 8.2 ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO | 33 |
| 9. BIOQUÍMICA | 37 |
| 10. SEROLOGIA | 41 |
| 10.1 HEPATITE A..... | 41 |
| 10.2 SÍFILIS | 43 |
| 10.2.1 Ensaio do laboratório de investigação das doenças venéreas..... | 43 |
| 10.2.2 Ensaio de hemaglutinação de treponema paladium..... | 44 |
| 10.3 COOMBS..... | 45 |
| 10.4 SALMONELLA (REAÇÃO WIDAL)..... | 47 |
| 10.5 RICKETTSIA (WEIL-FELIX) | 48 |
| 10.6 BRUCELLA (REAÇÃO WRIGHT/ ROSA BENGALA)..... | 49 |

| | |
|--|----|
| 10.6.1 Princípio da técnica (Reação de Wright) | 49 |
| 10.6.2 Princípio da técnica (Rosa Bengala)..... | 50 |
| 10.7 MONONUCLEOSE (REAÇÃO PAUL-BUNNELL) | 50 |
| 10.8 TESTE FATORES REUMATOIDES (WAALER ROSE) | 51 |
| 10.9 GRUPOS SANGUÍNEOS | 52 |
| 11. MICROBIOLOGIA..... | 55 |
| 11.1 URINA..... | 56 |
| 11.1.1 Citobacteriológico..... | 56 |
| 11.1.2 Urocultura..... | 57 |
| 11.2 FEZES..... | 58 |
| 11.2.1 Coprocultura | 58 |
| 11.2.2. Pesquisa de sangue oculto nas fezes..... | 59 |
| 11.2.3. Pesquisa de calprotectina | 61 |
| 12. CONCLUSÃO..... | 63 |
| 13. BIBLIOGRAFIA | 65 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1-Materiais para colheita de sangue e exemplo de soro sem hemólise e hemolisado. | 16 |
| Figura 2-Informação do conteúdo presente nos tubos das colheitas de sangue e imagem representativa. | 17 |
| Figura 3-Equipamento YHLO usado na determinação da velocidade de sedimentação. | 21 |
| Figura 4-Equipamento Bio Rad D-10 utilizado para determinação de glicose no sangue. | 22 |
| Figura 5-Equipamento Advia 120 utilizado para realizar análises de sangue total. | 23 |
| Figura 6-Equipamento Minicap Sebia utilizado para realizar análises de proteínas no sangue. | 24 |
| Figura 7-Equipamento CA-600 utilizado para realizar análises de coagulação do sangue. | 24 |
| Figura 8-Equipamento Atellica Solution utilizado para realizar análises de química clínica e imunoensaio. | 25 |
| Figura 9-Equipamento Immulite 2000 utilizado na deteção de alergénicos. | 26 |
| Figura 10-Equipamento Mini Vidas utilizado na deteção da Hormona HCG e marcador cardíaco. | 27 |
| Figura 11-Representação da linhagem Linfoide e Mieloide. | 30 |
| Figura 12-Representação do modo de realização de um esfregaço sanguíneo. | 33 |
| Figura 13-Esquema de avaliação de esfregaços sanguíneos ao microscópio. | 34 |
| Figura 14-Rack e tubos de análise usados no equipamento Atellica Solution. | 38 |
| Figura 15-Testes realizados para determinação de Hepatite A. | 42 |
| Figura 16-Teste VDRL para determinação da presença de sífilis. | 44 |
| Figura 17-Teste TPHA para determinação da presença de sífilis. | 45 |
| Figura 18-Teste Coombs indireto e reagente utilizado. | 46 |

| | |
|--|----|
| Figura 19-Teste realizado para determinar a presença de <i>Salmonella</i> | 47 |
| Figura 20-Teste Weil-Felix e reagentes utilizados na detecção de <i>Rickettsia</i> | 48 |
| Figura 21-Teste realizado para determinar a presença de <i>Brucella</i> (Reação de Wright)... | 49 |
| Figura 22-Reação de Paul-Bunnell realizada na determinação de mononucleose..... | 51 |
| Figura 23-Avaliação dos grupos sanguíneos. | 53 |
| Figura 24-Diferentes parâmetros numa amostra de urina observados ao microscópio..... | 57 |
| Figura 25-Pesquisa de <i>Clostridium</i> em fezes. | 59 |
| Figura 26-Pesquisa de sangue oculto nas fezes. | 60 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1- <i>Postos de colheitas de amostras e número por conelho pertencentes ao LACE.</i> | 5 |
| Tabela 2- <i>Tipo de contentores utilizados para o encaminhamento de resíduos.</i> | 11 |
| Tabela 3- <i>Valores de referência de Velocidade de Sedimentação por grupo etário e género.</i> | 22 |
| Tabela 4- <i>Parâmetros das análises realizados no LACE, teste e método de deteção.</i> | 25 |
| Tabela 5- <i>Parâmetros determinados no setor da Hematologia.</i> | 30 |
| Tabela 6- <i>Valores de referência de parâmetros determinados na Hematologia.</i> | 32 |
| Tabela 7- <i>Parâmetros determinados na química e imunologia no setor da Bioquímica.</i> | 37 |
| Tabela 8- <i>Valores de referência de parâmetros determinados na área da Bioquímica.</i> | 38 |
| Tabela 9- <i>Doenças e grupos sanguíneos avaliados na Serologia.</i> | 41 |
| Tabela 10- <i>Sub-áreas e amostras estudadas na Microbiologia.</i> | 55 |

1. INTRODUÇÃO

A área de atuação das análises clínicas é bastante ampla permitindo a determinação de diversos parâmetros os quais são um importante auxílio na prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças. Assim, esta é uma área bastante complexa, exigindo conhecimento profundo de todos os procedimentos e execução rigorosa, desde a colheita e processamento das amostras à interpretação adequada dos resultados obtidos (Dra. Eduarda Comenda, n.d.).

As análises clínicas representam um meio complementar de diagnóstico e do estado de saúde, abrangendo a avaliação de uma variedade de amostras biológicas, tais como sangue, fezes e urina. Estes fluidos biológicos são os mais comumente utilizados para nas análises clínicas (Ferreira, 2017).

Geralmente os médicos de família, após uma consulta médica de avaliação, prescrevem análises clínicas ao utente que as pode realizar num hospital ou laboratório da sua escolha. Porém, em alguns laboratórios privados, o utente paciente pode realizar análises por aconselhamento de um médico do laboratório. Ao escolher o Laboratório de Análises Clínicas da Egianálise (LACE), o utente pode receber aconselhamento das análises a realizar, no caso de ainda não ter análises recomendadas pelo seu médico, o médico presente no laboratório assina a prescrição das análises (Dra. Eduarda Comenda, n.d.).

O LACE é um laboratório situado na Guarda que realiza análises de hematologia, imunoquímica, serologia e microbiologia. A execução das técnicas de acordo com os procedimentos internos implementados de forma correta e a utilização de controlos de qualidade permitem garantir a obtenção de valores confiáveis.

Este relatório aborda as diferentes áreas nas quais houve contato direto durante o estágio, os testes analíticos realizados, o conhecimento dos procedimentos internos do laboratório, a aquisição e validação dos resultados, para além do cumprimento do sigilo profissional e funcionamento geral do LACE. No total, o estágio teve uma duração de 414,5 horas, tendo a hematologia e bioquímica sido as áreas de maior contato, logo seguidas da serologia e microbiologia. Foi ainda possível observar e

treinar procedimento de recolha de sangue. O tempo despendido em cada uma das áreas permitiu aprender com os colegas os métodos de trabalho, os procedimentos, assim como a correta utilização e funcionamento dos equipamentos laboratoriais de modo a se obterem resultados confiáveis.

Neste estágio houve a oportunidade de trabalhar com profissionais com imensa experiência na área que transmitiram os seus conhecimentos de forma clara e perceptível, ajudando ao crescimento de competências essenciais a um profissional da área. Foi ainda possível ter contato com equipamentos que, até à data, nunca tinha havido a oportunidade de utilizar. Assim, o estágio foi uma parte essencial do final da licenciatura pois permitiu um contato com a realidade do “mercado” de trabalho e uma ajuda fundamental no desenvolvimento técnico e profissional.

2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

O laboratório LACE está aberto ao público das 7:30h às 18:30h de segunda-feira a sexta-feira com horário de colheitas das 8h às 18h. No sábado, o LACE funciona das 8h às 12:30h. O laboratório atende em média 40 utentes diariamente.

O LACE possui uma zona de receção/atendimento, três zonas para realizar colheitas, dois gabinetes de consulta, uma zona para a Microbiologia, bem como uma zona para a Hematologia, Serologia e a Bioquímica. No laboratório existem três responsáveis pelas áreas acima descritas. Nas áreas de Hematologia e Serologia a responsável é a Dr^a Daniela Barreiros, na área da Imunoquímica o responsável é o Dr. Carlos Almeida, enquanto a Microbiologia tem como responsável a Dr^a Catarina Ribeiro.

O LACE tem vários postos de colheitas de amostras em várias zonas. No total, existem aproximadamente 25 postos cuja distribuição é possível observar na tabela 1.

Tabela 1

Postos de colheitas de amostras e número por concelho pertencentes ao LACE.

| Postos | Número de postos |
|----------------------|------------------|
| Guarda | 3 |
| Covilhã | 2 |
| Belmonte | 1 |
| Teixoso | 1 |
| Tortosendo | 1 |
| Fundão | 1 |
| Sabugal | 1 |
| Fornos de Algodres | 1 |
| Celorico da Beira | 1 |
| Meda | 1 |
| Bragança | 1 |
| Vimioso | 1 |
| Macedo de Cavaleiros | 1 |
| Miranda | 1 |
| Foz Côa | 1 |
| Trancoso | 1 |
| Mogadouro | 1 |
| Aguiar da Beira | 1 |
| Sernacelhe | 1 |
| Trinta | 1 |

Nota. Elaboração própria.

3. CONTROLO DE QUALIDADE

No processo analítico, existem três fases importantes a serem destacadas: a fase pré-analítica, analítica e pós-analítica. A fase pré-analítica abrange a criação da ficha do paciente, a colheita adequada das amostras e a correta identificação das mesmas (Content, 2020a). A fase analítica compreende a análise propriamente dita das amostras, envolvendo o uso de equipamentos e técnicas laboratoriais para as análises que necessitam de trabalho manual (Content, 2020a). Nesta fase, o controlo de qualidade interno (CQI) desempenha um papel crucial para aumentar a confiabilidade dos resultados obtidos por diminuição do erro (Content, 2020a). A fase pós-analítica é quando as análises são concluídas e os resultados são validados, ou seja, ocorre a interpretação dos resultados e o envio dos mesmos aos pacientes (Content, 2020).

Cada uma dessas fases é essencial para o processo laboratorial, requerendo atenção e cuidados adequados para a obtenção de resultados fiáveis. Erros ou falhas em qualquer uma destas fases pode afetar a qualidade dos resultados obtidos.

Através do controlo de qualidade pretende-se identificar, prevenir e corrigir possíveis falhas. Deste modo, validam-se os procedimentos do laboratório e a conformidade de funcionamento dos equipamentos, para a obtenção de resultados precisos, exatos e reprodutíveis.

O controlo de qualidade é, portanto, um processo essencial para monitorizar a qualidade dos resultados fornecidos aos pacientes.

3.1. CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO

No LACE, o controlo de qualidade interno (CQI) trata-se de uma avaliação que é realizada diariamente para que haja um controlo rigoroso dos resultados das análises, sendo para tal colocado em cada equipamento um controlo adquirido comercialmente com valores analíticos conhecidos. A função desses controlos é verificar a precisão dos ensaios se os valores obtidos estiverem dentro dos valores conhecidos. Esse

procedimento é realizado diariamente, antes de iniciar a utilização dos equipamentos para as análises.

3.2. CONTROLO DE QUALIDADE EXTERNO

No controlo de qualidade externa (CQE) o objetivo é verificar e validar a exatidão dos valores obtidos no laboratório em comparação com os valores obtidos por outros laboratórios. Para isso, o LACE também recebe amostras liofilizadas com concentração desconhecida. Após a sua hidratação e repouso no escuro por duas horas para evitar interferências, a amostra é avaliada no equipamento de forma idêntica as restantes amostras, sendo os valores obtidos enviados para a empresa contratada (Lumilabo, 2022). Este tipo de controlo é realizado mensalmente e os resultados são devolvidos ao laboratório por email. Os valores enviados são médias dos valores obtidos pelos vários laboratórios que participaram no CQE e o valor real permite aos laboratórios verificar se os seus valores são aceitáveis.

Em suma, embora o CQI e o CQE funcionem de maneiras um pouco distintas, o seu objetivo final é o mesmo: assegurar a confiabilidade dos resultados fornecidos aos pacientes.

4. RESÍDUOS

O tratamento de resíduos no LACE é realizado em conformidade com as normas e regulamentos estabelecidos pela legislação em vigor. Para garantir a colheita adequada dos resíduos, o laboratório conta com uma empresa especializada no transporte desse tipo de resíduo, a fim de garantir o correto acondicionamento e eliminação dos mesmos.

No LACE, é adotada a prática de separação dos diferentes tipos de resíduos. Isso significa que os resíduos são classificados de acordo com suas características específicas, visando uma gestão mais eficiente e segura. A separação de resíduos pode incluir, por exemplo, a separação de materiais perfuro cortantes, materiais químicos, resíduos biológicos e outros materiais específicos (tabela 2).

Tabela 2

Tipo de contentores utilizados para o encaminhamento de resíduos.

| | |
|-----------------------------|--|
| Contentores Abertos | Papel/ Cartão reciclável ("limpo") |
| Contentores Tapados | Resíduos do grupo I + II (Serviços gerais, embalagens e invólucros comuns e recipientes não contaminados) |
| Contentores Verdes | Resíduos do grupo III (Recipientes c/ fluidos orgânicos, sistemas e culturas microbiológicos) |
| Contentores Amarelos | Resíduos do grupo IV (Seringas, lâminas, agulhas e outro material perfurante) |

Nota. Elaboração própria.

A separação adequada dos resíduos permite que cada tipo de resíduo seja tratado e descartado de acordo com os requisitos legais e ambientais aplicáveis. Isso contribui para minimizar impactos negativos ao meio ambiente e proteger a saúde e segurança dos profissionais envolvidos na gestão dos resíduos.

5. VALIDAÇÃO DOS RESULTADOS E SIGILO PROFISSIONAL

No LACE, após a conclusão da análise das amostras pelos equipamentos sendo os resultados validados automaticamente se estiverem dentro dos valores de referência. No entanto, se os resultados estiverem fora dos valores de referência, não conformes, são verificados individualmente por um dos técnicos. Neste caso, poderá ser necessário repetir a análise ou até mesmo repetir a colheita. Após a reanálise das amostras os resultados obtidos seguem de novo o procedimento de validação.

No caso do aparelho ADVIA 120 (Hematologia), os resultados que não sejam validados automaticamente são impressos em folhas para avaliação individual e determinar o motivo de serem não conformes, como por exemplo, valores de plaquetas baixas.

O sigilo profissional é rigorosamente mantido pelo LACE de acordo com o regulamento geral de proteção de dados (RGPD). Os colaboradores/profissionais têm o dever de sigilo, ou seja, não divulgar ou comentar os resultados dos testes realizados com qualquer outra pessoa que não o próprio utente que realizou as análises. Para estar em conformidade com RGPD, o paciente tem a opção de escolher como deseja receber o resultado da análise, seja por carta selada ou e-mail com senha. Isso garante uma maior segurança e privacidade dos resultados.

6. COLHEITA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

A colheita de amostras é uma parte de grande importância no campo das análises clínicas, podendo um procedimento incorreto de colheita influenciar os valores obtidos.

Das amostras utilizadas com frequência para as análises, a colheita de sangue é feita por profissionais com experiência, enquanto as colheitas de urina e as fezes são feitas pelo próprio utente mediante a instrução de algumas regras para efetuarem uma boa técnica de colheita. No caso das colheitas da urina tipo I e tipo II é fornecido um frasco esterilizado ao utente que deve desprezar o primeiro jato de urina e recolher a urina seguinte para o frasco. Após selar bem o frasco, a amostra deve ser entregue no laboratório.

Para a urina de 24 horas a colheita é feita para um frasco de dimensão apropriada. A colheita é feita desprezando o primeiro jato de urina e a partir daí toda a restante deve ser feita para o frasco, uma vez que a colheita é durante 24 horas. Nesse período, o frasco deve ser bem fechado e guardado no frio, sendo a primeira urina da manhã do dia seguinte também recolhida para o frasco a ser entregue no laboratório.

A colheita das fezes também pode ser feita pelo utente. O laboratório fornece um frasco com uma espátula para auxiliar a colheita de uma pequena quantidade de fezes para o frasco, dado ser necessário uma quantidade reduzida para análise. Caso se trate de um exame de coprocultura ou pesquisa de sangue oculto, o procedimento de colheita é semelhante, com a diferença de ser necessário recolher três frascos de fezes. No caso de ser necessário guardar as fezes, as amostras têm que ser bem acondicionadas e guardadas no frio. Se as recomendações não forem convenientemente seguidas isso pode resultar em colheitas mal feitas e em contaminações que podem interferir nos resultados obtidos.

Para se obter uma boa colheita de sangue, é necessário considerar vários aspetos e efetuar o seguinte procedimento. A agulha é inserida no adaptador de agulha e de seguida aplica-se o garrote no braço do paciente sendo-lhe solicitado que feche mão. A veia é palpada com o dedo e, caso não exista uma veia adequada no braço

inicialmente selecionado, é procurada outra veia no outro braço. Após se encontrar uma veia adequada, a área é limpa com um algodão embebido em álcool a 70% para desinfetar o local da punção. Em seguida a veia é perfurada, utilizando o adaptador de agulha, e é colocado o tubo a vácuo no suporte, permitindo a colheita de amostras para os tubos apropriados. Quando a colheita está próxima do fim, o garrote é levemente aliviado e o paciente é instruído a abrir a mão. No fim do procedimento, é aplicado algodão sobre a agulha, a qual é removida da veia e aplicada pressão no local pelo próprio paciente. A agulha é descartada num recipiente de materiais perfurantes. Após algum tempo de espera aplica-se um penso no local da punção. A colocação do penso pode variar dependendo se o paciente toma algum medicamento antiagregante ou anticoagulante, uma vez que o sangue pode estar fluído e demorar tempo até a hemorragia estancar. Na figura 1 é possível observar os materiais utilizados para realizar a colheita de sangue (Fig. 1A) e um tubo com soro sem hemólise (Fig. 1B) e outro com soro hemolisado (Fig. 1C) após centrifugação.

Figura 1

Materiais para colheita de sangue e exemplo de soro sem hemólise e hemolisado.



Nota. A) Adaptador de agulha; B) Tubo com soro sem hemólise após centrifugação; C) Tubo com soro hemolisado após centrifugação do sangue; Elaboração própria.

A atenção dedicada à realização da colheita é de extrema importância, pois uma colheita mal executada pode levar à hemólise do sangue (hemácias) após a centrifugação. Fatores como veias frágeis, que dificultam a colheita, presença de resíduos de álcool no local da punção, uso prolongado do garrote e agitação vigorosa do sangue podem contribuir para a ocorrência de hemólise e a integridade das amostras (DB Diagnósticos, n.d.). A hemólise compromete a qualidade e a confiabilidade dos resultados analíticos por libertação do conteúdo intracelular das

hemácias para o soro, podendo afetar a precisão e a interpretação dos mesmos (DB Diagnósticos, n.d.).

No processo de colheita de amostras de sangue, é crucial considerar que existem tubos com características distintas. Na figura 2 é possível observar os tubos para colheita das amostras e respetivos conteúdos, sendo selecionados em função da análise a realizar.

Figura 2

Informação do conteúdo presente nos tubos das colheitas de sangue e imagem representativa.



Nota. A) conteúdo de cada tubo de colheita; B) Representação dos tipos de tubos de colheitas identificados por um código de cores correspondente ao aditivo presente; Elaboração própria.

De referir que, através da centrifugação do sangue total é possível obter soro ou plasma dependendo do anticoagulante utilizado na colheita. O sangue total refere-se à amostra completa de sangue retirada de uma pessoa, e inclui todos os seus componentes principais: células sanguíneas (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas) e plasma (Ravindra Sarode, 2021). O soro é obtido através da colheita seguida de coagulação e posterior centrifugação (Biomedicina, 2016).

O plasma é obtido a partir do sangue num tubo com citrato de sódio ou K₃EDTA e centrifugação (Biomedicina, 2016).

No contexto do LACE, os tubos vermelhos contendo gel e ativador de coagulação são usados para análises bioquímicas. Para a realização de hemogramas, velocidade de sedimentação e medição de hemoglobina glicada, a recolha de sangue é feita num

tubo roxo contendo K_3EDTA , um anticoagulante, que ajuda a preservar a morfologia celular, inibindo a formação de coágulos, agregados plaquetários e inibe a coagulação (Brunetti, 2020). Na avaliação da coagulação, o tubo contendo citrato de sódio (azul claro) impede a coagulação do sangue e mantém a integridade do sangue. Essa distinção de tubos baseada é baseada nos conteúdos (aditivos) sendo a sua escolha fundamental para assegurar a obtenção de resultados precisos e confiáveis em cada tipo de análise (Brunetti, 2020).

7. EQUIPAMENTOS LABORATORIAIS

A fim de otimizar a eficiência de um laboratório e atender a um grande número de pacientes diariamente, é necessário utilizar equipamentos que auxiliem na realização das análises de forma mais rápida. Com esse objetivo em mente, os equipamentos empregues nas análises clínicas passaram por uma significativa evolução ao longo do tempo. Esses equipamentos desempenham um papel fundamental na aceleração dos processos analíticos, permitindo uma maior produtividade e precisão no diagnóstico clínico.

7.1 Analisadores da área da Hematologia

A figura 3 ilustra o equipamento *YHLO* que efetua medições das velocidades de sedimentação. Este dispositivo opera de acordo com um fenómeno físico de agregação dos eritrócitos em formações designadas *rouleaux*, seguido da sedimentação sob a influência da gravidade. A velocidade de sedimentação correlaciona-se de maneira direta com a redução das interações eletrostáticas negativas existentes na superfície dos eritrócitos. Esse conjunto de eventos é sensível à composição plasmática, considerando a presença das imunoglobulinas, a densidade de eritrócitos e plasma, a proporção entre os volumes dos eritrócitos e plasma, as variações nas dimensões e conformações eritrocitárias e à viscosidade do plasma (Velocidade de Sedimentação (vs) (Sangue Total): Descrição, 2015).

Figura 3

Equipamento YHLO usado na determinação da velocidade de sedimentação.



Nota. Elaboração própria.

Em resumo, o equipamento permite medir a taxa de sedimentação dos eritrócitos, parâmetro útil, por exemplo, na detecção e monitorização de doenças inflamatórias. De realçar que na avaliação dos valores, dentro ou fora do intervalo dos valores de referência, são considerados os valores específicos de cada género e faixa etária (tabela 3).

Tabela 3

Valores de referência de Velocidade de Sedimentação por grupo etário e género.

| Grupos Etários | Masculino | Feminino |
|-----------------------|------------------|-----------------|
| Recém-nascidos | < 2mm | < 2mm |
| Adultos | < 10mm | < 20 mm |
| Idosos | < 40mm | < 50mm |

Nota. (Adaptado de Santos et al., 2000).

O equipamento Bio Rad-D 10 (Fig. 4) é utilizado na determinação da percentagem de hemoglobina glicada no sangue total de forma precisa permitindo assim avaliar a presença de diabetes no utente. A determinação é feita usando cromatografia líquida de alta eficiência por troca iónica. As amostras são diluídas e injetadas automaticamente no cartucho analítico, que oferece um gradiente de tampão com força iónica, e permite a separação das diferentes formas de hemoglobina com base nas interações iónicas o cartucho. As medições são realizadas a um comprimento de onda de 415 nm (Bio- Rad, n.d.).

Figura 4

Equipamento Bio Rad D-10 utilizado para determinação de glicose no sangue.



Nota. Elaboração própria.

O equipamento Advia 120 é utilizado na realização de hemogramas, ou seja, para análise das células constituintes do sangue (Fig. 5). O Advia 120 possui vários canais de análise e utiliza tecnologia de circuito unificado de fluidos (UFC), a qual consiste num circuito fechado com válvulas, bomba de fluidos e junções de placas onde as reações ocorrem (Gonçalves & Almeida Braga, 2014).

No canal de eritrócitos/ plaquetas (RBC/PL), é utilizado dodecil sulfato de sódio permitindo transformar as plaquetas e os eritrócitos em formas esféricas. Posteriormente, as duas populações são distinguidas com base no seu volume utilizando um laser de diodo (Gonçalves & Almeida Braga, 2014).

No canal reticulócitos (RET), utiliza-se um reagente que torna os eritrócitos esféricos e cora as células de acordo com o seu conteúdo de RNA, utilizando um corante catiónico de oxazina (Gonçalves & Almeida Braga, 2014).

No canal PEROX ocorre a lise dos eritrócitos por ação de um surfactante e stress térmico, sendo os glóbulos brancos corados ao possuírem atividade peroxidase. A reação da peroxidase com um substrato específico na presença de peróxido 1 e 2 leva à formação de uma coloração dos neutrófilos, eosinófilos e monócitos. A absorvância observada depende pois da atividade peroxidase de cada célula (Gonçalves & Almeida Braga, 2014) (SIEMENS, 2010).

Por fim, contagem dos basófilos ocorre no canal BASO após lise dos eritrócitos e leucócitos, enquanto os basófilos são resistentes ao surfactante (Gonçalves & Almeida Braga, 2014).

Figura 5

Equipamento Advia 120 utilizado para realizar análises de sangue total.



Nota. Elaboração própria.

O equipamento *Minicap Sebia* (Fig. 6) é usado na realização de proteinogramas onde as quantidades de proteínas presentes são determinadas por uso de eletroforese

capilar em solução livre. As moléculas carregadas são separadas pela mobilidade eletroforética a um pH específico. A detecção das proteínas ocorre a 200 nm na extremidade catódica do capilar (Sebia, 2019).

O sistema está equipado com dois capilares que funcionam em paralelo, permitindo a realização em simultâneo de duas amostras facilitando o processamento e a análise das amostras por aumento da eficiência e a produtividade do teste (Sebia, 2019).

Figura 6

Equipamento Minicap Sebia utilizado para realizar análises de proteínas no sangue.



Nota. Elaboração própria.

Na figura 7 o equipamento *CA-600 series* permite a análise automática da coagulação sanguínea ao possuir uma série de analisadores automáticos capazes de realizar análises de cinco parâmetros distintos. A escolha do método de análise varia entre o método de coagulação, cromogénico ou imunoensaio, dependendo do parâmetro específico a avaliar (Sysmex, 2011).

Figura 7

Equipamento CA-600 utilizado para realizar análises de coagulação do sangue.



Nota. Elaboração própria.

No laboratório, o equipamento CA-600 é utilizado para realizar as análises de tempo de protombina (PT), do tempo de tromboplastina parcial ativado (APTT) e do fibrinogénio (FBG) pelo método de coagulação (tabela 4) (Sysmex, 2011).

Tabela 4

Parâmetros das análises realizados no LACE, teste e método de deteção.

| Parâmetros | Nome do teste | Método |
|---|---------------|------------|
| Tempo de Protrombina | PT | Coagulação |
| Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado | APTT | Coagulação |
| Fibrinogénio | FBG | Coagulação |

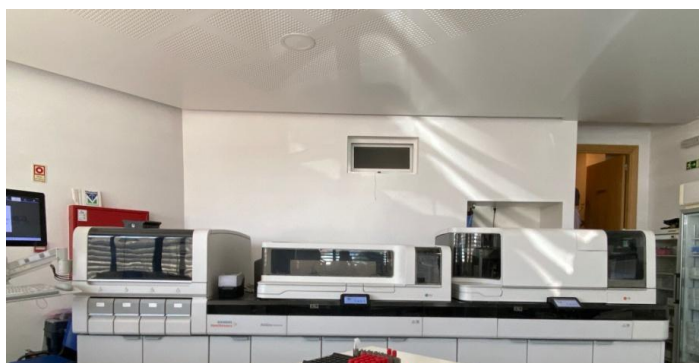
Nota. Elaboração própria.

7.2 Analisadores da área da Bioquímica

O equipamento *Atellica Solution* usado nas análises bioquímicas estando dividido em duas partes, a da química e da imunologia (Fig. 8). É um sistema com vários componentes destinados à análise qualitativa e quantitativa de diversos fluidos corporais (Atellica[®] Solution, 2017).

Figura 8

Equipamento *Atellica Solution* utilizado para realizar análises de química clínica e imunoensaio.



Nota. Elaboração própria.

O componente de processamento de amostras (*sample handler*) identifica, movimenta e armazena as amostras dos calibradores e controlos (Atellica[®] Solution, 2017). A

componente da química utiliza tecnologias de elétrodos fotométricos, turbidimétricos e seletivos de iões, enquanto a parte da imunologia utiliza tecnologia quimioluminescente (Atellica[®] Solution, 2017). Em função deste funcionamento é possível realizar testes de diagnóstico in-vitro em amostras clínicas, nomeadamente numa ampla variedade de análises ao soro e urina. Na urina é realizada apenas análise à componente química da amostra. Cada parâmetro analisado possui um valor de referência ao qual a amostra deve corresponder. No caso de existirem discrepâncias nos valores, isso é indicativo de alguma anormalidade na testagem da amostra ou, por exemplo, por a amostra de sangue estar hemolisado (Atellica[®] Solution, 2017).

A figura 9 representa o equipamento Immulite 2000 utilizado na análise de citomegalovírus, rubéola, IgE total, toxoplasmose, testosterona e alergénios. Para a execução dessas análises, o dispositivo utiliza esferas de poliestireno revestidas com anticorpos ou antigénios específicos (Siemens, 2007). Cada esfera ao ser colocada num tubo de reação passa por uma série de processos e a amostra é incubada com um anticorpo ligado à fosfatase alcalina (Siemens, 2007). A mistura é separada da esfera e, após vários processos antes de ser quantificada, o substrato quimioluminescente reage com a fosfatase alcalina ligada à esfera, ocorrendo a emissão de luz. A quantidade de luz emitida é detetada pelo tubo fotomultiplicador (PMT) e proporcional à quantidade de analito presente na amostra (Siemens, 2007).

Figura 9

Equipamento Immulite 2000 utilizado na deteção de alergénios.



Nota. Elaboração própria.

7.3 Analisadores da área da Serologia

A figura 10 representa o equipamento Mini Vidas que é utilizado na realização de dois testes: o ensaio de detecção da hormona gonadotrofina coriônica humana (HCG) e o teste de marcador cardíaco (NT-proBNP2). Contudo, é também possível realizar testes para os D-Dímeros, Troponina e Mioglobina. O ensaio VIDAS HCG é um imunoensaio fluorescente ligado a enzima com temperatura e procedimento controlados pelo dispositivo. A realização do teste requer uma tira SPR (Partículas Super Paramagnéticas) revestida com anticorpos monoclonais de rato anti-HCG. A amostra é transferida para o poço contendo o anticorpo anti-HCG conjugado com fosfatase alcalina (Biomérieux, 2015b). O valor da intensidade da fluorescência é medido a 450 nm e permite obter a concentração da hormona na amostra (Biomérieux, 2015b).

O teste de NT-proBNP2 utiliza um método de imunoensaio com detecção final fluorescente semelhante ao HCG. A amostra a ser analisada é transferida para o poço contendo o anticorpo anti-NT-proBNP2 marcado com fosfatase alcalina. No final do ensaio, a fluorescência medida a 450 nm é proporcional à concentração do antígeno presente na amostra, sendo o resultado determinado automaticamente (Fig. 10) (Biomérieux, 2015a).

Figura 10

Equipamento Mini Vidas utilizado na detecção da Hormona HCG e marcador cardíaco.



Nota. Elaboração própria.

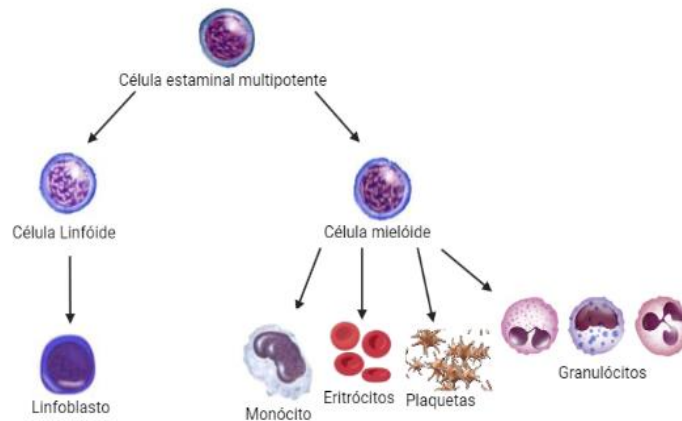
8. HEMATOLOGIA

A hematologia é um ramo de uma especialidade médica dedicada ao estudo do sangue, os seus componentes celulares e não celulares, assim como dos órgãos responsáveis pela formação do sangue. Além disso, abrange o estudo das doenças relacionadas com o sangue, bem como as suas formas de tratamento e prevenção. O sangue é composto por quatro componentes distintos, cada um com funções específicas: glóbulos vermelhos (eritrócitos), glóbulos brancos (leucócitos), plaquetas e plasma (Sanar, 2023). Os glóbulos vermelhos são as células mais numerosas e têm a função de transportar oxigénio e remover dióxido de carbono, devido à presença da proteína hemoglobina que confere a cor vermelha característica (Sanar, 2023). Os glóbulos brancos são responsáveis pela defesa do organismo contra infeções e fatores exógenos (Sanar, 2023). As plaquetas são fragmentos de células produzidos na medula óssea e desempenham um papel essencial na coagulação sanguínea, ou seja, formam um tampão para interromper o sangramento (Sanar, 2023). O plasma é a parte líquida do sangue, responsável por transportar os glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas pelo corpo, além de desempenhar funções reguladoras na pressão osmótica, pH e volume sanguíneo (Hospital da luz, 2019).

A formação de novas células sanguíneas ocorre por meio do processo da hematopoiese, que depende de vários fatores de crescimento. Embora a medula óssea seja o local mais importante para a hematopoiese, não é o único onde o processo ocorre (Kenhub, 2023). A hematopoiese inicia-se com a primeira célula precursora de todas as células sanguíneas, as células estaminais multipotentes, que dão origem às duas linhagens celulares: mieloide e linfoide. A linhagem linfoide dá origem aos linfócitos, enquanto a linhagem mieloide dá origem aos eritrócitos, granulócitos, monócitos e plaquetas (Fig. 11) (Sanar, 2023).

Figura 11

Representação da linhagem Linfoide e Mieloide.



Nota. Imagem criada no BioRender; Elaboração própria.

Na tabela 5 é possível observar alguns dos parâmetros determinados na Hematologia.

Tabela 5

Parâmetros determinados no setor da Hematologia.

| Parâmetros | |
|--------------------------|----------------------------|
| Glóbulos vermelhos | Linfócitos |
| Hemoglobina | Monócitos |
| Hematócrito | Eosinófilos |
| Volume corpuscular médio | Basófilos |
| Plaquetas | % Hypo (Hipocromia) |
| Volume plaquetas | % Macro (Macrocitose) |
| Glóbulos brancos | % Micro (Microhematócrito) |
| Neutrófilos | |

Nota. Elaboração própria.

Os linfócitos, também conhecidos como glóbulos brancos, desempenham um papel crucial no sistema imunológico, combatendo agentes infecciosos. Os linfócitos são divididos em três grupos: linfócitos B, linfócitos T e células NK (Mundo da Educação, n.d.).

Os granulócitos também são células de defesa do corpo, caracterizadas pela presença de grânulos no citoplasma. Eles podem ser classificados em quatro categorias: basófilos, eosinófilos, mastócitos e neutrófilos (Sanar, 2023).

Os monócitos são um tipo de leucócito agranular e desempenham a função de defesa do organismo contra corpos estranhos (Mundo da Educação, n.d.).

As plaquetas, também conhecidas como trombócitos, são fragmentos celulares do sistema sanguíneo responsáveis pela coagulação. Em caso de ferimento ou hemorragia, são as plaquetas que desempenham um papel fundamental na cicatrização (Kuter, 2022).

8.1 HEMOGRAMA

Na área da hematologia avaliam-se as características e a quantidade das células sanguíneas presentes no sangue periférico, incluindo os eritrócitos, leucócitos e plaquetas ao realizarem-se hemogramas. Como descrito anteriormente, o equipamento ADVIA 120 é utilizado para a realização deste exame laboratorial. O procedimento de análise ocorre da seguinte forma: as amostras são colocadas em ordem, permitindo verificar se as amostras presentes estão em conformidade com a listagem; as amostras contidas em tubos roxos são agitadas levemente e colocadas numa *rack* (dez amostras por *rack*) para serem inseridas no equipamento e analisadas. Na tabela 6 é possível observar os valores de referência para os resultados dos hemogramas.

Caso sejam encontrados valores fora do intervalo dos valores de referência, o equipamento imprime folhas com o hemograma para se avaliar a necessidade de realizar um esfregaço sanguíneo periférico. Em algumas situações, caso de volume de plaquetas baixas, volume baixo de hemoglobina ou controlo de anemias, realiza-se um esfregaço de sangue periférico.

Durante o tempo que passei na Hematologia auxiliei na verificação das amostras com a ajuda de listas de verificação, colocava as amostras na rack e esta na zona de entrada do equipamento, manipulando-o de seguida para iniciar o processamento das amostras. Na validação apenas os técnicos a realizavam, sendo que tive a oportunidade de observar o processo. Após a validação e caso algum resultado não estivesse dentro dos intervalos esperados realizava, caso fosse necessário, um esfregaço de sangue periférico.

Tabela 6

Valores de referência de parâmetros determinados na Hematologia.

| Hematologia | Intervalos de referência (convencional) | Intervalos de referência (SI) |
|---|--|--|
| Contagem de eritrócitos | Homem: 4,3 - 5,9*10 ⁶ / mm ³ Mulher: 3,5 - 5,5 *10 ⁶ / mm ³ | 4,3 - 5,9*10 ¹² /L 3,5 - 5,5*10 ¹² /L |
| Hemoglobina | Homem: 13,5 – 17,5 g/dL Mulher: 12,0 – 16,0 g/dL | 8,38 - 10,86 mmol/L 7,45 - 9,93 mmol/L |
| Hematócrito | Homem: 41 – 53% Mulher: 36 – 46% | 0,41 - 0,53 0,36 - 0,46 |
| Hemoglobina corpuscular média (HCM) | 25 – 35 pg | 1,55 - 2,17 fmol |
| Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) | 31 - 36 g/dL | 19,25 - 22,36 mmol/L |
| Volume globular médio (VGM) | 80 - 100 µm | 80 - 100 fL |
| Contagem de leucócitos | 4500 - 11 000/ mm ³ | 4,5 - 11*10 ⁹ |
| Contagem diferencial de leucócitos: | | |
| Neutrófilos, segmentados | 54 - 62% | 0,54 - 0,62 |
| Eosinófilos | 1 - 3% | 0,01 - 0,03 |
| Basófilos | 0 - 0,75% | 0 - 0,0075 |
| Linfócitos | 25 - 33% | 0,25 - 0,33 |
| Monócitos | 3 - 7% | 0,03 - 0,07 |
| Plaquetas | 150 000 - 400 000/ mm ³ | 150 - 400*10 ⁹ /L |
| Reticulócitos | 0,5 - 1,5% | 0,005 - 0,015 |
| Velocidade de sedimentação eritrocitária | Homem: 0 - 15 mm/ 1ª h Mulher: 0 - 20 m/1ª h | 0 - 15 mm/ 1ª h 0 - 20 m/1ª h |
| Tempo de protrombina | < 12 s | < 12 s |
| Tempo de tromboplastina parcial ativada | < 28 s | < 28 s |
| Tempo de hemorragia | 2 - 7 m | 2 - 7 m |
| Volume: | | |
| Plasma | Homem: 25 - 43 mL/Kg Mulher: 28 - 45 mL/Kg | 0,025 - 0,043 L/Kg 0,028 - 0,045 L/Kg |
| Eritrócitos | Homem: 20 - 36 mL/Kg Mulher: 19 - 31 mL/Kg | 0,020 - 0,036 L/Kg 0,019 - 0,031 L/Kg |

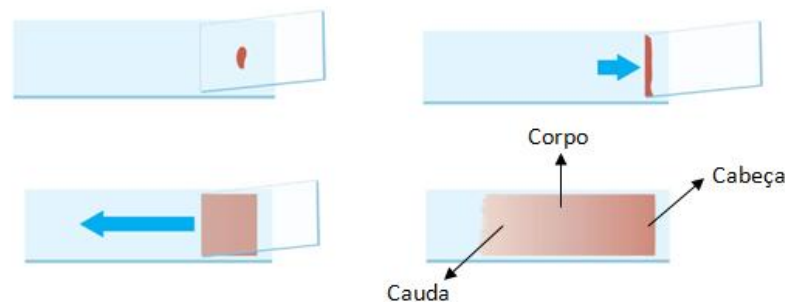
Nota. Adaptado de (Administração central do sistema de saúde, n.d.).

8.2 ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO

O esfregaço sanguíneo é uma técnica utilizada para avaliar os eritrócitos, leucócitos, plaquetas e a morfologia das diferentes linhagens celulares do sangue, permitindo a identificação de células anormais e auxílio na classificação de doenças (Centerlab, 2019). Para realizar o esfregaço coloca-se uma pequena gota de sangue na extremidade de uma lâmina de microscopia fosca, identificada com o número de processo do utente e superfície limpa com um papel para remover possíveis vestígios de gordura. Com uma outra lâmina num ângulo de 45°, desliza-se para a extremidade oposta para espalhar a gota de sangue ao longo da lâmina. Após secar, procede-se à coloração sendo fundamental que o esfregaço apresente três elementos importantes na lâmina: cabeça, corpo e cauda (Fig. 12) (Centerlab, 2019).

Figura 12

Representação do modo de realização de um esfregaço sanguíneo.



Nota. Adaptado de (Centerlab, 2019).

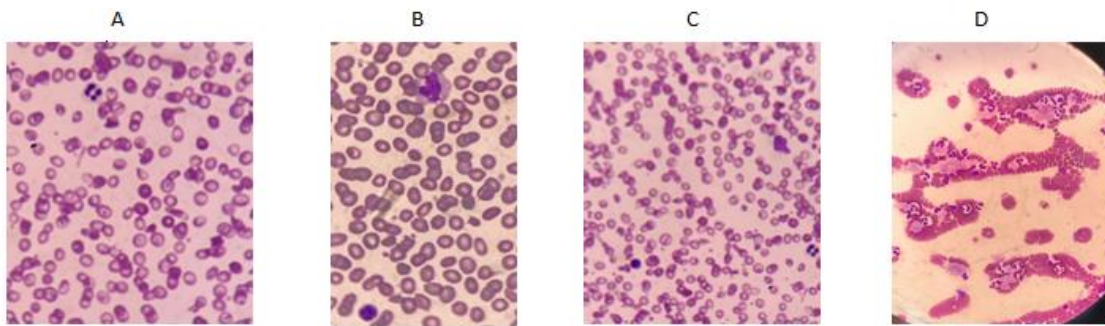
A coloração do esfregaço é realizada usando o Kit Hemacolor® Rapid staining of blood Smear (Merck, n.d.). A amostra é fixada com metanol ao introduzir a lâmina três vezes no líquido. De seguida, a lâmina mergulha-se seis vezes na solução de cor vermelha (eosina) e, posteriormente, doze vezes na solução de cor azul (azul-de-metileno). A eosina cora a hemoglobina e grânulos eosinófilos, enquanto o azul-de-metileno cora o núcleo, RNA citoplasmático e grânulos basofílicos. Após esses passos, a lâmina é enxaguada suavemente em água corrente e deixada a secar.

A distribuição adequada das células sanguíneas na lâmina facilita a visualização e análise das características morfológicas das células (Centerlab, 2019).

A técnica do esfregaço sanguíneo é usada de forma rotineiramente com o propósito de verificar a conformidade dos parâmetros hematológicos do paciente, possibilitando a validação dos valores obtidos. A ausência dessa técnica dificultaria substancialmente a detecção de possíveis anomalias nas análises hematológicas. Com a realização da técnica do esfregaço durante o estágio foi possível observar diversas preparações microscópicas contendo eritrócitos (Fig. 13 A), monócitos e linfócitos (Fig. 13 B), anemia falciforme (Fig. 13 C) e agregação de plaquetas (Fig. 13 D) presentes em algumas lâminas.

Figura 13

Esquema de avaliação de esfregaços sanguíneos ao microscópio.



Nota. A) Lâmina com eritrócitos; B) Lâmina com monócitos e linfócitos; C) Lâmina com Anemia Falciforme; D) Lâmina com plaquetas agregadas; Elaboração própria.

9. BIOQUÍMICA

As análises bioquímicas desempenham um papel fundamental na avaliação de uma ampla variedade de parâmetros, como evidenciado na tabela 7.

Tabela 7

Parâmetros determinados na química e imunologia no setor da Bioquímica.

| Química | Imunologia |
|---------------------------|---|
| Ca ²⁺ (Cálcio) | CHIV (Vírus da imunodeficiência humana) |
| Chol_2 (Colesterol) | CA19_9 (Marcador tumoral do pâncreas) |
| Crea_2 (Creatinina) | VitD (Vitamina D) |
| Iron_2 (Ferro) | Fer (Ferritina) |
| Mg (Magnésio) | Fol (Ácido fólico) |
| Trig_2 (Triglicerídeos) | PSA (Antigénio prostático) |
| WCRP (Proteína C reativa) | VB12 (Vitamina B12) |

Nota. Elaboração própria.

Por meio da análise dos valores obtidos e verificação se estão dentro dos intervalos desejados, estas análises bioquímicas permitem auxiliar na prevenção e no diagnóstico de doenças. No caso do *Atellica Solution*, mencionado anteriormente, apenas amostras de soro e urina são utilizadas. As amostras de sangue são centrifugadas em tubos vermelhos a 3500 rpm por dez minutos, a fim de obter o soro a ser analisado.

Antes do início das análises, o técnico responsável verifica através do computador se os reagentes da parte imunológica e química necessitam de ser repostos ou degradados e verifica se os equipamentos estão calibrados. Caso exista necessidade de calibração esta tem de ser realizada antes do início das análises por utilização de padrões. De salientar que os padrões de calibração mais instáveis exigirão uma calibração mais frequente.

Como na parte da hematologia, a análise bioquímica é conduzida por meio de listas de verificação, as quais têm o propósito de garantir a realização de todas as análises. As

amostras são colocadas numa *rack* sendo posteriormente inserida no aparelho que automaticamente recolhe as amostras e realiza as análises de forma autónoma (Fig. 14).

Figura 14

Rack e tubos de análise usados no equipamento Atellica Solution.



Nota. Elaboração própria.

Na tabela 8 é possível observar alguns parâmetros de bioquímica bem como os seus intervalos de referência.

Tabela 8

Valores de referência de parâmetros determinados na área da Bioquímica.

| Bioquímica | Intervalos de referência (convencional) | Intervalos de referência (SI) |
|---------------------------|---|--------------------------------|
| Cálcio | 8,4 – 10,2 mg/dL | 2,1 – 2,55 mmol/L |
| Colesterol: | | |
| Total | < 200 mg/dL | < 5,2 mmol/L |
| HDL | 30 – 70 mg/dL | 0,8 – 1,8 mmol/L |
| LDL | < 160 mg/dL | < 4,2 mmol/L |
| Creatinina | 0,6 – 1,2 mg/dL | 53 – 106 µmol/L |
| Ferro | 50 - 170 | 9 – 30 µmol/L |
| Ferritina | Homem: 15 – 200 ng/mL Mulher: 12 – 150 ng/mL | 15 – 200 µg/L 12 – 150 µg/L |
| Triglicérideos | 35 – 160 mg/dL | 0,4 – 1,81 mmol/L |
| Proteína C reativa | < 10 mg/dL | |
| Magnésio | 1,5 – 2,0 mEq/L | 0,75 – 1,0 mmol/L |

Nota. Adaptado de (Administração central do sistema de saúde, n.d.).

Na área da Bioquímica houve a oportunidade de verificar os reagentes de ambas as partes (imunológica e química), repor os reagentes, efetuar a calibração dos reagentes quando necessário, assistir nas listas de verificação, colocar as amostras na rack e posteriormente no equipamento, tendo manipulado o mesmo para o processamento das amostras. A validação era apenas realizada pelos técnicos tendo a oportunidade de observar e perceber como era feita a verificação. Após a validação caso algum resultado não estivesse dentro dos intervalos esperados programava o equipamento para realizar uma nova análise.

10. SEROLOGIA

A serologia é um setor das análises clínicas que abrange um conjunto de técnicas de diagnóstico de várias doenças, por exemplo, Brucella, mononucleose e grupos sanguíneos, sendo particularmente útil na identificação e detecção de anticorpos e antígenos. No contexto deste laboratório, são empregues várias técnicas manuais que são descritas de seguida.

Na tabela 9 é possível observar as doenças avaliadas e os grupos sanguíneos.

Tabela 9

Doenças e grupos sanguíneos avaliados na Serologia.

| Doenças | Grupos sanguíneos |
|---|--------------------------|
| Hepatite A | A ⁺ |
| TPHA | A ⁻ |
| VDRL | B ⁺ |
| Coombs | B ⁻ |
| Salmonella (Reação Widal) | AB ⁺ |
| Weil-Felix | AB ⁻ |
| Brucella (Reação Wright/Rosa Bengala) | O ⁺ |
| Teste mononucleose (Reação Paul-Bunnell) | O ⁻ |
| Waalser Rose (Teste de fatores reumatóides) | |

Nota. Elaboração própria.

10.1 HEPATITE A

A Hepatite A é uma condição inflamatória do fígado causada pelo vírus da hepatite A (VHA). A transmissão desse vírus ocorre principalmente por meio da ingestão de água ou alimentos contaminados, bem como por via oral-fecal. Os sintomas da hepatite A incluem febre, mal-estar, náuseas, dor abdominal e icterícia (Sns 24, 2022).

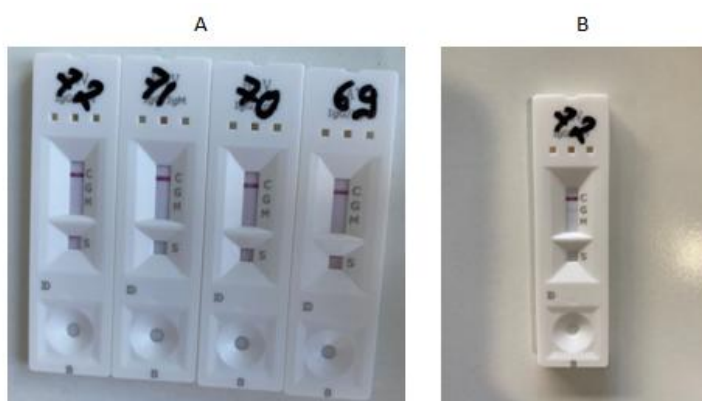
O teste NADAL® HAV IgG/IgM é um imunoensaio cromatográfico de fluxo lateral. O teste decorre numa cassette constituída por uma membrana com um conjugado de cor avermelhada contendo antígenos VHA conjugados com ouro coloidal (conjugados VHA Antígeno) e anticorpos de controlo conjugados com ouro coloidal. A membrana possui duas linhas de teste (M e G) e uma linha de controlo (C). A linha M contém anticorpos IgM anti-humano de rato, a linha G possui anticorpos de rato anti-humanos para IgG, e a linha de controlo C contém anticorpos de controlo.

Após a aplicação de uma quantidade apropriada de amostra na área S, e do buffer (solução diluente) na área B, a amostra de soro migra por capilaridade ao longo da cassette. Se a amostra contiver IgM anti-VHA, os anticorpos ligam-se aos conjugados VHA Antígeno. Os complexos imunológicos formados e capturados na membrana pré-revestida com anticorpos de rato anti-humanos para IgM, resultam numa linha avermelhada na zona M, indicativo de resultado positivo para IgM VHA. Na presença de anticorpos IgG anti-humanos de rato leva ao desenvolvimento de uma linha avermelhada na zona G, indicando um resultado positivo para IgG VHA. A ausência de ambas as linhas (M e G) indica um resultado negativo. É possível observar as zonas descritas acima, bem como comparar um resultado positivo e negativo (Fig. 15) realizado durante o estágio no LACE.

A figura 15 é exemplificativa de trabalho realizado durante o estágio.

Figura 15

Testes realizados para determinação de Hepatite A.



Nota. A) Teste negativo; B) Teste positivo; Elaboração própria.

O teste também inclui um procedimento de controlo interno, que deve sempre exibir uma linha avermelhada na área do controlo, onde está presente o complexo imunológico de anticorpos de controlo, independentemente do desenvolvimento de cor nas linhas M e G. O não desenvolvimento da linha controlo origina um resultado de teste inválido e a amostra deve ser testada novamente noutra cassete de teste.

Como referido anteriormente, o teste de diagnóstico da hepatite A decorre da presença de anticorpos, IgG e IgM. A presença de IgG positiva indica que a infeção ocorreu há mais tempo ou que a pessoa recebeu a vacina contra a hepatite A. Já a presença de IgM positiva indica uma infeção mais recente (Valente et al., 1993). Esses resultados são importantes para determinar o estado da infeção e auxiliar no diagnóstico da hepatite.

10.2 SÍFILIS

A sífilis é uma doença sexualmente transmissível causada pela subespécie *Pallidum* da bactéria *Treponema pallidum*. Os sintomas da sífilis variam de acordo com a fase em que a pessoa infetada se encontra, existindo quatro estádios: primário, secundário, latente e terciário (Hospital da luz, 2023).

Para a deteção da sífilis, são utilizados dois testes: o ensaio designado laboratório de Investigação das Doenças Venéreas (VDRL) e o ensaio de hemaglutinação do *Treponema pallidum* (TPHA). A diferença entre estes testes reside no fato do teste VDRL ser não treponémico, enquanto o TPHA é treponémico (Biomedicina, 2021). Um teste treponémico é um teste qualitativo que permite determinar a presença ou ausência de anticorpos específicos para *Treponema pallidum* na amostra, enquanto o não troponémico deteta anticorpos não específicos da bactéria (Biomedicina, 2021).

10.2.1 Ensaio do laboratório de investigação das doenças venéreas

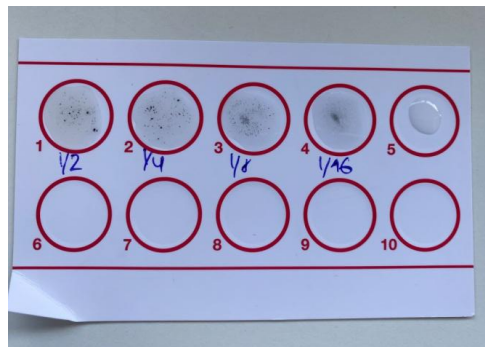
O teste VDRL é um teste semi-quantitativo da sífilis, pois os resultados são fornecidos em diluições e a positividade é avaliada com base na diluição na qual o anticorpo é

detetado. Quanto maior a diluição na qual o anticorpo é detetado, mais positivo é o resultado.

Este teste baseia-se na reação de floculação, a qual ocorre pela interação entre a lecitina, colesterol e a cardiolipina. O soro ao ser misturado com a solução contendo esses componentes por agitação leva à formação de flocos ou aglomerados, reação de floculação, se o resultado for positivo (Fig. 16, poços 1 a 4). Por sua vez, num resultado negativo não ocorrerá a formação de flocos ou aglomerados (Fig. 16, poço 5). É possível observar a formação de flocos num resultado positivo na figura abaixo (Fig. 16). A figura 16 é exemplificativa de trabalho realizado durante o estágio.

Figura 16

Teste VDRL para determinação da presença de sífilis.



Nota. Resultado positivo; Cada poço representa uma diluição, respetivamente 1/2; 1/4; 1/8; 1/16. Poço 5 - negativo; Elaboração própria.

10.2.2 Ensaio de hemaglutinação de *Treponema pallidum*

O TPHA caracteriza-se pela deteção direta de anticorpos específicos direcionados ao *Treponema pallidum*, sendo notavelmente menos suscetível a desencadear resultados falso-positivos. A sua aplicação ocorre frequentemente como procedimento de confirmação subsequente a resultados positivos obtidos por meio de ensaios não treponémicos (Laboratório, n.d.).

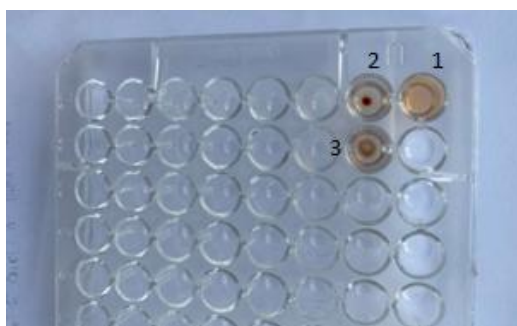
O ensaio do TPHA utiliza eritrócitos de aves revestidos com antigénios específicos e suspensos em solução tampão (Fisher, 2014). Quando as amostras positivas são combinadas com a suspensão de células do teste, ocorre uma reação entre os anticorpos presentes nas amostras e as células revestidas, resultando em

hemaglutinação. As células formam um padrão característico no fundo dos poços da placa de teste (Fisher, 2014). Na ausência de anticorpos específicos, as células revestidas compactam-se e formam um botão no fundo dos poços, o que significa que o teste é negativo. Na presença de anticorpos específicos, as células revestidas formam um botão no fundo do poço que se abre, o que significa que o teste é positivo (Fig. 17). Para as células de controlo, são utilizados eritrócitos de aves tratados, mas sem revestimento com antígenos (Fisher, 2014).

A figura 17 exemplifica trabalho realizado no estágio.

Figura 17

Teste TPHA para determinação da presença de sífilis.



Nota. resultado positivo; Poço 1 - diluição de 10 μ L em 190 μ L de diluente; Poço 2 - amostra mais células de controlo; Poço 3 - amostra com as células teste; Elaboração própria.

10.3 COOMBS

O teste de *Coombs* é um ensaio que visa detetar a presença de anticorpos específicos que podem atacar os glóbulos vermelhos, resultando na sua destruição e causando anemia hemolítica (Tua saúde, 2023). Este teste é amplamente utilizado para diagnosticar anemias hemolíticas.

Existem duas variantes do teste de *Coombs*: o teste direto e o teste indireto (Hematologia laboratorial, 2016).

No teste de *Coombs* direto, as células vermelhas do sangue são avaliadas para identificar a presença de anticorpos ligados a elas. Esses anticorpos podem ser

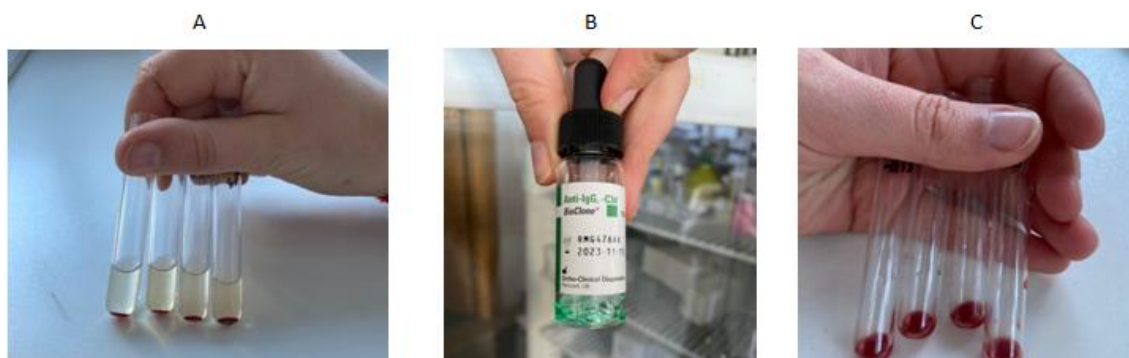
originados do próprio indivíduo ou podem ser resultado de uma transfusão sanguínea (Hematologia laboratorial, 2016).

Por outro lado, o teste de *Coombs* indireto analisa o soro sanguíneo para identificar os anticorpos presentes. Esse teste é comumente utilizado em situações de transfusões sanguíneas para verificar a compatibilidade entre doador e recetor, além de ser aplicado em gestantes para avaliar a compatibilidade sanguínea entre a mãe e o feto (Hematologia laboratorial, 2016).

No teste de *Coombs* indireto é preparado o soro do utente e eritrócitos zero positivo. Este tipo de eritrócitos são utilizados por este tipo de sangue não possuir antígenos A e B o que o torna menos propenso a causar reações imunológicas ou interferências no teste. Este teste permite avaliar a presença de anticorpos irregulares ou antígenos específicos. Logo, usando sangue zero positivo não haverá interferência de antígeno presente no soro, o que permite que haja uma deteção precisa das reações imunológicas que estão a ser investigadas no teste. Após a adição de soro do utente e do sangue zero positivo com uma diluição de 3% - 5% ao tubo de ensaio, o mesmo é incubado a 37°C durante uns minutos, centrifugado a baixa rotação. O sobrenadante resultante é descartado e adicionada uma gota de Anti-IgG. Num resultado positivo o sangue coagula, enquanto se for negativo o sangue fica líquido (Fig. 18).

Figura 18

Teste Coombs indireto e reagente utilizado.



Nota. Coombs Indireto após centrifugação (A); Reagente Anti-IgG (B); Coombs Indireto após gota de Anti-IgG (C).

10.4 SALMONELLA (REAÇÃO WIDAL)

A *Salmonella* é um gênero de bactérias pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Essas bactérias são conhecidas por contaminar uma ampla variedade de alimentos, incluindo carnes e ovos crus ou mal cozidos. A ingestão de alimentos contaminados com *Salmonella* pode levar ao desenvolvimento de infecções gastrointestinais em humanos (Sns, 2023).

Os sintomas mais comuns associados à infecção por *Salmonella* incluem cólicas abdominais, náuseas, diarreia e dor abdominal intensa. Em alguns casos mais graves, a infecção por *Salmonella* pode espalhar-se para outras partes do corpo, resultando em complicações sistêmicas (Sns, 2023).

Nesta técnica, são feitas diluições do soro as quais são depois colocadas em contato com reagentes que contêm antígenos somáticos e flagelares de *Salmonella* (Laborclin, 2019). Após a mistura do soro com os antígenos, a presença de *Salmonella* é determinada através da observação da aglutinação por ocorrência da formação de aglomerados visíveis (Laborclin, 2019). A presença de aglutinação indica um resultado positivo, e a ausência de aglutinação indica um resultado negativo (Fig. 19) (Laborclin, 2019).

Figura 19

Teste realizado para determinar a presença de Salmonella.



Nota. Resultado positivo no typhi H; Observam-se as diluições 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 de cima para baixo na primeira coluna, respectivamente; O, H, AO, BO representam os antígenos; Elaboração própria.

10.5 RICKETTSIA (WEIL-FELIX)

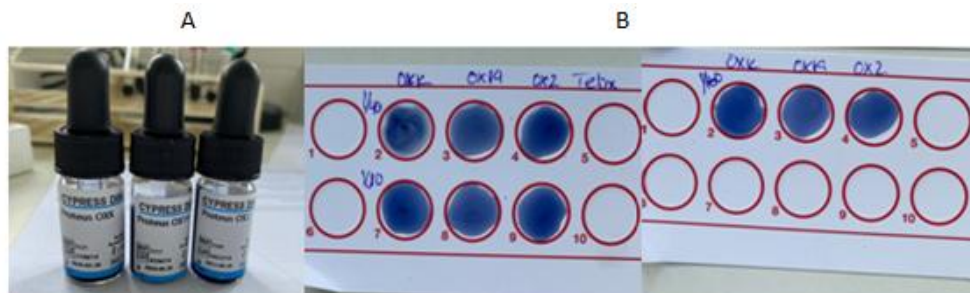
A *Rickettsia* é um género de bactéria gram-negativa da classe *Alphaproteobacteria* e frequentemente associada a parasitas, como carraças, pulgas e piolhos (Brandão Neto, 2016). Esta bactéria é transmitida aos seres humanos por meio da picada destes artrópodes vetores.

Uma vez infetado, o indivíduo pode apresentar uma série de sintomas característicos como febre alta, fadiga intensa e persistente, e cefaleia grave e constante (Tua saúde, 2023b).

O teste Weil-Felix baseia-se na partilha de componentes somáticos entre determinadas estirpes de *Proteus* e algumas espécies de *Rickettsia* (Fisher, 2016). Os soros de indivíduos com infeções causadas por *Rickettsia* têm a capacidade de aglutinar as suspensões das estirpes de *Proteus* (Fisher, 2016). Para realizar o teste, o soro do paciente, devidamente diluído, é misturado com o teste. Caso haja uma quantidade suficiente de anticorpos específicos, a suspensão será aglutinada. Para que o resultado seja considerado positivo, o paciente deve apresentar uma reação positiva na diluição 1/60 (Fig. 20) observando-se um aglutinado semelhante ao teste Widal (Fisher, 2016).

Figura 20

Teste Weil-Felix e reagentes utilizados na deteção de Rickettsia.



Nota. Reagentes utilizados no teste *Weil-Felix* (A); Teste *Weil-Felix* negativo (B); Elaboração própria.

10.6 BRUCELLA (REAÇÃO WRIGHT/ ROSA BENGALA)

A *Brucella* é uma bactéria gram-negativa pertencente à família *Brucellaceae*. É transmitida por contato direto com animais infetados e pela ingestão de produtos lácteos não pasteurizados provenientes de animais contaminados, podendo causar uma variedade de sintomas (Asae, n.d.). Nos sintomas da brucelose inclui-se a ocorrência repentina de calafrios, febre, cefaleia intensa, dores generalizadas e uma sensação de mal-estar geral, no entanto, os sintomas podem variar de pessoa para pessoa (Asae, n.d.). É possível identificar se a pessoa está infetada com *brucella* através de dois testes: Reação de Wright e a Rosa Bengala, ambos os testes são explicados de seguida (Grilo, 2021).

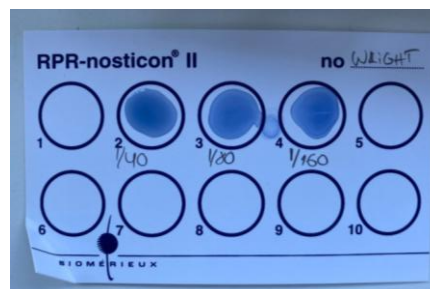
10.6.1 Princípio da técnica (Reação de Wright)

O princípio da reação de *Wright* está diretamente relacionado com a detecção de aglutininas por meio da reação de aglutinação direta com a suspensão de antígenos (Valente et al., 1993).

Essa técnica utiliza a propriedade das aglutininas, que são anticorpos específicos capazes de promover a aglutinação, ou seja, a formação de agrupamentos visíveis semelhantes às aglutinações referidas anteriormente, quando em contato com o antígeno correspondente (Fig. 21) (Valente et al., 1993).

Figura 21

Teste realizado para determinar a presença de Brucella (Reação de Wright).



Nota. Resultado negativo; cada poço representa uma diluição, respetivamente, 1/40, 1/80, 1/160; Elaboração própria.

10.6.2 Princípio da técnica (Rosa Bengala)

Esta técnica Rosa Bengala está relacionada com a aglutinação em placa para a deteção qualitativa e semi-quantitativa de anticorpos anti-Brucella em soro humano ou animal. A suspensão bacteriana é colorida e aglutinada por anticorpos IgG ou IgM presentes no soro do doente (Spinreact, 2014).

10.7 MONONUCLEOSE (REAÇÃO PAUL-BUNNELL)

A mononucleose infecciosa, cientificamente conhecida por infeção pelo vírus *Epstein-Barr*, é uma doença viral caracterizada por uma infeção aguda. Essa infeção é transmitida principalmente por meio do contato oral com saliva contaminada, razão pela qual também é conhecida como "doença do beijo" (Sns 24, 2023).

Os sintomas comuns da mononucleose infecciosa incluem o aparecimento de gânglios linfáticos inchados no pescoço, amigdalite (inflamação das amígdalas), dor de cabeça e febre (Sns 24, 2023).

A reação de PAUL-BUNNELL possibilita a deteção do vírus através da utilização de sangue total, soro ou plasma. Com uma pipeta de pasteur transfere-se uma gota para o poço da amostra (S) na cassete de teste, e evitando a formação de bolhas de ar durante a transferência (Biosynex, 2022).

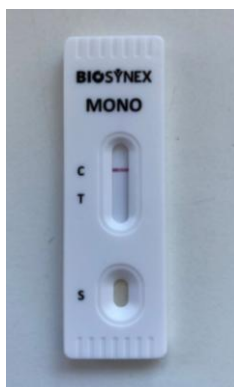
O resultado da análise é obtido ao fim de cinco minutos. É importante ressaltar que a interpretação do resultado não deve ser feita após 10 minutos, uma vez que a validade do teste está limitada a esse intervalo de tempo (Biosynex, 2022).

Para um resultado positivo, é necessário que duas linhas sejam observadas na zona designada para a leitura. Uma linha deve estar presente na zona marcada como controlo (C) e outra na zona marcada como teste (T). Por outro lado, um resultado negativo é indicado pela presença de apenas uma linha na zona marcada como (C). Caso haja um traço na zona (T) sem a presença de uma linha na zona (C), o resultado é considerado inválido. Isso pode ocorrer devido a problemas de execução do teste, e é necessário repetir o procedimento (Biosynex, 2022).

Essa técnica de leitura e interpretação baseada na presença ou ausência de linhas nas zonas designadas é utilizada para obter resultados rápidos e visuais em testes diagnósticos. Ela oferece uma avaliação qualitativa do resultado, indicando a presença ou ausência do analito de interesse na amostra testada (Fig. 22) (Biosynex, 2022).

Figura 22

Reação de Paul-Bunnell realizada na determinação de mononucleose.



Nota. Resultado negativo. Elaboração própria.

10.8 TESTE FATORES REUMATOIDES (WAALER ROSE)

O fator reumatoide é um anticorpo que apresenta reatividade em relação à imunoglobulina G (IgG), resultando na formação de imunocomplexos. Esses imunocomplexos podem ter um efeito prejudicial nos tecidos saudáveis, incluindo a cartilagem das articulações (Sns 24, 2023).

A presença do fator reumatoide está associada a várias condições autoimunes, especialmente a artrite reumatoide, uma doença crônica caracterizada pela inflamação das articulações. Quando o fator reumatoide se liga à IgG, ocorre a formação de complexos imunes que se podem depositar nas articulações, desencadeando uma resposta inflamatória (Spinreact, 2013). Essa inflamação crônica resulta em danos à cartilagem das articulações, levando a sintomas como dor, rigidez e deformidades articulares (Sns 24, 2023).

O teste Waaler Rose é uma técnica de hemaglutinação em placa utilizada para detectar de forma qualitativa e semi-quantitativa a presença de fatores reumatoides no soro

humano. Neste teste, os eritrócitos de ovelha são estabilizados e sensibilizados com IgG de coelho anti-eritrócito de ovelha (Spinreact, 2013).

Durante o teste, se houver fatores reumatoides presentes na amostra do paciente, ocorrerá a aglutinação dos eritrócitos sensibilizados. A aglutinação ocorre devido à ligação dos fatores reumatoides às imunoglobulinas presentes nos eritrócitos sensibilizados (Spinreact, 2013).

Essa técnica é utilizada como um indicador qualitativo para a presença de fatores reumatoides no soro humano, que são anticorpos direcionados contra o próprio organismo (Spinreact, 2013).

10.9 GRUPOS SANGUÍNEOS

O grupo sanguíneo é um sistema de classificação que categoriza os diferentes tipos de sangue com base nas proteínas marcadoras, também conhecidas como antígenos, presentes na superfície das hemácias (glóbulos vermelhos). Essa classificação é essencial durante a realização de transfusões sanguíneas (Ingoh, 2020).

As principais categorias de grupo sanguíneo são A, B, AB e O, e elas são determinadas pela presença ou ausência de antígenos específicos nessas células sanguíneas (Hospital da luz, 2019a).

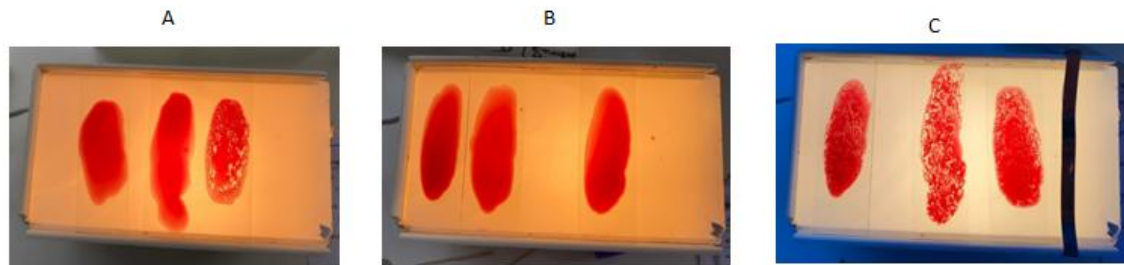
Nesta técnica, são empregues três tipos de reagentes que juntamente com sangue total, permite determinar o grupo sanguíneo e o seu fator Rh (positivo ou negativo). Os reagentes utilizados são o Anti-A, o Anti-B e o Anti-D. O Anti-A é utilizado para identificar a presença do antígeno A no sangue, o Anti-B é utilizado para detetar a presença do antígeno B, e o Anti-D é usado para determinar o fator Rh (positivo ou negativo) (Fig. 23) (Cromatest, n.d.).

O procedimento baseia-se no princípio da aglutinação, onde os glóbulos vermelhos irão aglutinar na presença de anticorpos direcionados contra esses antígenos específicos (Cromatest, n.d.). Por exemplo, se o sangue em questão contém o antígeno A, ele irá aglutinar na presença do Anti-A, o procedimento é aplicável para

ambos os antígenos B e C. Nestas situações, obter-se-á um resultado positivo. Caso contrário, se não houver aglutinação, o resultado será negativo.

Figura 23

Avaliação dos grupos sanguíneos.



Nota. Grupo Zero positivo (O^+) (A); Grupo Zero negativo (O^-) (B); Grupo AB positivo (AB^+) (C); Elaboração própria.

Sumariamente, na área da Serologia houve contato com várias técnicas manuais o que permitiu utilizar diferentes reagentes e testes que maioritariamente são utilizados em cassete e resultam de reações de floculação, aglutinação e hemoaglutinação.

11. MICROBIOLOGIA

Neste campo de estudo, são investigados os microrganismos, um grupo diversificado que normalmente mantém uma relação benéfica com o organismo. No entanto, quando o sistema imunológico está enfraquecido pode ocorrer uma disseminação exacerbada dos microrganismos patogênicos, tornando-se necessário adotar medidas para controlar essa propagação no interior do organismo.

No setor de Microbiologia do LACE, embora haja menos automatização, existem equipamentos que auxiliam nas rotinas de trabalho. Assim como nos outros setores, é essencial que todas as amostras estejam devidamente identificadas sendo utilizadas listas de trabalho para registrar as amostras recebidas, garantindo um controle rigoroso do processo.

No LACE são realizadas análises de amostras biológicas, como urina, fezes, expetoração, exsudados.

Na tabela 10 é possível observar as sub-áreas da microbiologia bem como as amostras e os parâmetros avaliados.

Tabela 10

Sub-áreas e amostras estudadas na Microbiologia.

| Sub-área | Amostras/parâmetros |
|----------------------|--|
| Bacteriologia | Coprocultura |
| | Pesquisa de sangue oculto nas fezes |
| | Pesquisa de calprotectina nas fezes |
| | Pesquisa Helicobacter Pylori nas fezes |
| | Exsudado (Vaginal, uretal, orofaríngeo, nasal) |
| | Urocultura |
| | Espermocultura |
| Micologia | Citobacteriológico |
| | Micologia (Unhas, raspados) |
| Parasitologia | Exsudado vaginal |
| | Exsudados (Vaginal/Uretal) |
| | Parasitológico de fezes |

Nota. Elaboração própria.

11.1 URINA

A urina é um líquido excretado pelo organismo, resultante do processo de filtração renal (Mundo da Educação, n.d.-a). É constituída principalmente por água, contendo também uma diversidade de compostos químicos, tais como ureia, creatinina e ácido úrico (Infopedia, n.d.). Tem como função a eliminação de resíduos metabólicos e toxinas (Mundo da Educação, n.d.-a). A aparência da urina pode variar de acordo com vários elementos, incluindo a ingestão de líquidos, presença de doenças ou infeções, bem como o uso de medicamentos específicos (FirstLab, 2022). É crucial estar atento a modificações na cor e odor da urina, pois tais alterações podem ser indicativas de problemas de saúde e pode requerer cuidados médicos. Mediante a forma de recolha da urina é obtido a urina tipo I, urina tipo II e urina 24 horas. Além da observação de leucócitos, eritrócitos e células, a microscopia revela uma ampla variedade de cristais. A formação de cristais na urina pode ser atribuída a múltiplos fatores, incluindo a concentração urinária, pH urinário, presença excessiva de certas substâncias na urina, infeções urinárias e algumas condições médicas subjacentes.

11.1.1 Citobacteriológico

O primeiro passo na análise citobacteriológica consiste em separar as amostras de urina do tipo I e II. As amostras de urina tipo II e de 24 horas são transferidas para tubos de ensaio e inseridas no aparelho Atellica Solution que faz as análises da parte bioquímica, como por exemplo, da creatinina. O volume da urina de 24 horas é registado no tubo para complementar as informações do exame. As amostras de urina do tipo I são colocadas em tubos de centrifugação e, posteriormente, processadas num equipamento. O analisador Clinitek novus deteta o número de eritrócitos, leucócitos, células epiteliais e bactérias presentes na amostra.

Após a análise, as amostras são classificadas como "normal", "anormal" ou "filtro". As marcadas como "filtro" precisam ser submetidas a centrifugação. Após a centrifugação, a urina em excesso é removida, deixando apenas os sedimentos no fundo do tubo, os quais são observados ao microscópio.

11.1.2 Urocultura

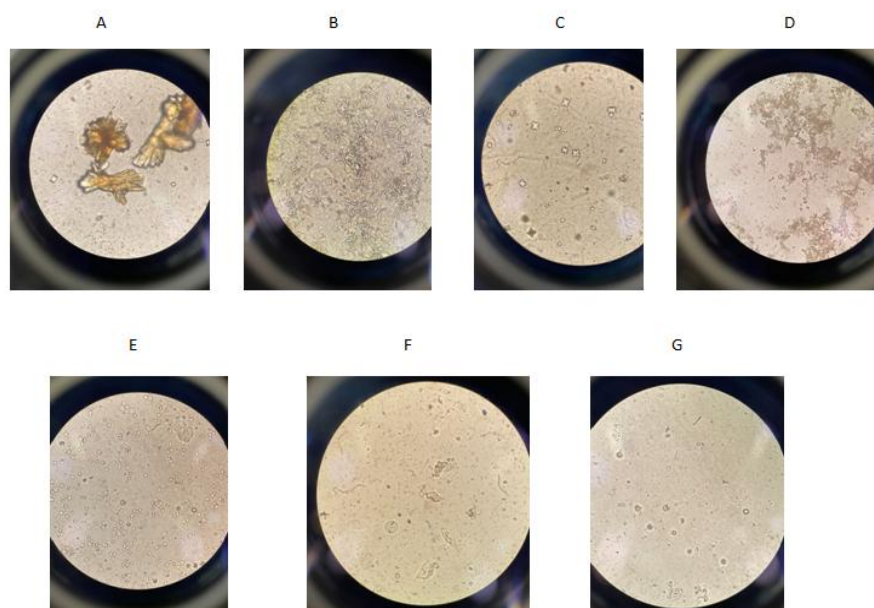
Para realizar a análise de urocultura existem diversas opções de meios de cultura disponíveis, alguns são seletivos o que permite selecionar determinados grupos de bactérias (Campos, 2019). Por outro lado, os meios não-seletivos favorecem o crescimento de todos os tipos de microrganismos. Alguns microrganismos podem requerer meios enriquecidos adicionais, de forma garantir o crescimento de microrganismos mais exigentes (Campos, 2019).

Nesse contexto, a análise utiliza principalmente o meio de cultura cromogénico. Usando uma ansa esterilizada, a urina é semeada no meio de cultura. A placa contendo a amostra do paciente é devidamente identificada com o número do processo e a data do semeio e colocada numa estufa a 37°C. Após a incubação, as placas são observadas para a presença de microrganismos e de seguida descartadas.

Ao microscópio é possível observar vários parâmetros como, por exemplo, o número de hemácias, presença de leveduras e vários tipos de cristais (Fig. 24).

Figura 24

Diferentes parâmetros numa amostra de urina observados ao microscópio.



Nota. Cristais de ácido úrico (A); Cristais de fosfato triplo (B); Cristais de oxalato de cálcio (C); Uratos amorfos (D); Eritrócitos e células (E); Leveduras (F); Leucócitos (G); Elaboração própria.

Do descrito, na área da microbiologia foi possível efetuar o manuseamento da urina, das duas análises descritas, tendo realizado a separação da urina para os tubos, a inoculação da urina no meio de cultura para observação dos microrganismos presentes na amostra e observação de sedimentos da urina ao microscópio.

11.2 FEZES

As fezes humanas são um composto de resíduos sólidos resultantes do processo de digestão e metabolismo, caracterizados pela sua consistência variável e odor desagradável. A sua coloração é influenciada pela presença de bilirrubina, enquanto o seu odor resulta da atividade microbiana presente no intestino (Saude, 2023). As fezes são compostas principalmente por matéria não digerida (Macedo, n.d.). A análise laboratorial das fezes é uma ferramenta de diagnóstico crucial, capaz de detetar uma variedade de doenças e condições médicas relevantes.

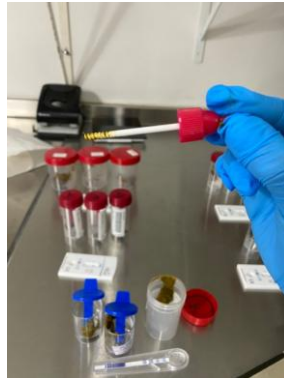
11.2.1 Coprocultura

A análise em questão, também conhecida como coprocultura, consiste num exame realizado para a identificação de microrganismos patogénicos presentes nas fezes (Saoc, n.d.). Para a realização do exame, o paciente recolhe uma pequena quantidade de fezes como descrito anteriormente na secção de “Colheita de amostras biológicas”.

Nesta amostra realiza-se o teste de pesquisa de *Clostridium* (Fig. 25), que são bactérias anaeróbias gram-positivas.

Figura 25

Pesquisa de Clostridium em fezes.



Nota. Elaboração própria.

O teste é realizado numa cassette imunocromatográfica e num tubo contendo uma solução tampão. Com um *stick* aplicador de haste espiral recolhe-se uma pequena quantidade de fezes, o qual é inserido no tubo contendo o buffer. Após agitação, são adicionadas à zona (S) da cassette três gotas da solução, fazendo-se a leitura dos resultados ao fim de dez minutos.

Um resultado positivo é indicado pela presença de duas linhas na zona de leitura, sendo uma linha na posição de controlo (C) e outra linha na posição de teste (T). Para um resultado negativo, deve haver apenas uma linha na posição (C). Se houver apenas uma linha na posição (T), o resultado é considerado inválido e é necessário repetir o teste.

11.2.2. Pesquisa de sangue oculto nas fezes

A pesquisa de sangue oculto nas fezes é um teste laboratorial que visa detetar quantidades mínimas de sangue nas fezes, que podem não ser visíveis a olho nu. A presença de sangue nas fezes pode ser um indicativo de condições médicas que requerem atenção adicional. Portanto, este teste desempenha um papel importante no rastreamento e diagnóstico de uma variedade de condições, como úlceras, pólipos,

doenças inflamatórias intestinais (como a doença de *Crohn* e a colite ulcerosa) e cancro colorretal (A.C. Camargo, 2018).

Esta análise requer uma cassette para a deteção da presença de hemoglobina humana. A deteção do sangue resulta da reação da hemoglobina com anticorpos específicos, os quais estão conjugados com partículas coloridas e pré-revestidos na área de teste da cassette.

O procedimento do teste envolve a inserção do *stick* com fezes do utente no tubo contendo a solução guaiaco, que contém guaiacol que é responsável por reagir com os eritrócitos. Após homogeneização, três gotas da mistura são adicionadas à zona (S) da cassette, e aguardam-se cinco minutos antes de realizar a leitura do resultado. A leitura não deve ser interpretada após dez minutos. A zona de leitura contém informações para interpretar o resultado do teste. Duas linhas, uma na zona de controlo (C) e outra na zona de teste (T), indicam um resultado positivo. Uma linha apenas na zona (C) indica um resultado negativo. Se houver uma linha apenas na zona (T), o resultado é considerado inválido (Fig. 26).

Figura 26

Pesquisa de sangue oculto nas fezes.



Nota. Resultado positivo; Elaboração própria.

11.2.3. Pesquisa de calprotectina

A pesquisa de calprotectina nas fezes é um ensaio laboratorial cujo propósito é quantificar os níveis da proteína calprotectina presente nas fezes. A calprotectina é um biomarcador produzido predominantemente por células inflamatórias, como os neutrófilos. A sua detecção está correlacionada com processos inflamatórios no intestino (Lemos, n.d.).

Este teste utiliza anticorpos monoclonais específicos contra calprotectina que estão revestidos na região da linha de teste da membrana. Durante o teste, a amostra reage com os anticorpos anti-calprotectina humanos, que estão conjugados com partículas coloridas e previamente secos na tira de teste.

Para realizar o teste, o *stick* é inserido na amostra por quatro vezes para fazer uma colheita de uma quantidade adequada da amostra. De seguida, o *stick* é colocado no tubo contendo a solução e após agitação, quatro gotas da mistura são adicionadas à zona (S) da cassette. Ao fim de dez minutos realiza-se a leitura.

Um resultado positivo é indicado pelo aparecimento de duas linhas, uma na zona de controlo (C) e outra na zona de teste (T). Um resultado negativo é indicado pela presença de uma linha apenas na zona (C). Um resultado inválido é indicado pela presença de uma única linha na zona (T).

Na microbiologia foi possível manusear também fezes nas três análises que são realizadas, tendo realizado a testagem das fezes e observar os resultados obtidos nas cassetes de testagem, assim como observar fezes ao microscópio.

12. CONCLUSÃO

A conclusão deste estágio proporcionou uma valiosa contribuição para minha compreensão e conhecimento na área de análises clínicas. Foi uma oportunidade significativa que me permitiu adquirir conhecimentos sobre vários aspectos que antes não estava à vontade. Além disso, este estágio fortaleceu a minha responsabilidade profissional, reforçando a importância desse atributo para exercer a profissão com excelência. É possível reconhecer a necessidade de se estar constantemente atualizado, pois quanto mais informações se conseguir obter, mais rápido se poderá criar conexões entre as diferentes áreas das análises clínicas.

Os três anos de informação adquirida durante a licenciatura nomeadamente, técnicas, procedimentos e conhecimentos vários que obtive demonstraram ser uma grande mais-valia para a minha formação sobre a área das análises clínicas e enquanto futura profissional. O estágio foi também uma excelente forma de consolidar e treinar certas técnicas previamente abordadas ao longo da licenciatura. Para finalizar tanto a licenciatura como o estágio foram extremamente importantes para que houvesse uma aprendizagem e consolidação eficiente.

Confirmei a importância das várias fases do processo analítico, que inclui a fase pré-analítica, analítica e pós-analítica, e como as mesmas impactam a confiabilidade dos resultados entregues ao paciente.

O estágio foi extremamente enriquecedor, pois permitiu-me compreender a complexidade da gestão de um laboratório, incluindo a necessidade de ter sempre os materiais e reagentes necessários para o funcionamento adequado do laboratório, permitiu-me valorizar os detalhes do quotidiano laboratorial e essa experiência contribuiu para o desenvolvimento do meu pensamento crítico.

13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Sns 24. (2022). Vírus da hepatite A (VHA). SNS24.

<https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/virus-da-hepatite-a-vha/>

Sns 24. (2023). Mononucleose infecciosa. SNS24.

<https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/mononucleose-infecciosa/>

Administração central do sistema de saúde. (n.d.). Administração central do sistema de saúde, ip acss gabinete prova nacional de acesso pna valores laboratoriais de referência (adultos) June 15, 2023, from

https://academiapna.com/wp-content/uploads/2019/09/VALORES-DE-REFERENCIA_creado.pdf

Asae. (n.d.). Brucella. Www.asae.gov.pt. Retrieved June 15, 2023, from

<https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/brucella.aspx>

Biomérieux. (2015). 30 405-01 VIDAS[®].

<https://fardavar.com/Upload/%D9%85%D8%B4%D8%AE%D8%B5%D8%A7%D8%AA%20%D9%85%D8%AD%D8%B5%D9%88%D9%84/HCG.pdf>

Biomérieux. (2015a). VIDAS[®] NT-proBNP2 (PBN2).

<https://fardavar.com/Upload/%D9%85%D8%B4%D8%AE%D8%B5%D8%A7%D8%AA%20%D9%85%D8%AD%D8%B5%D9%88%D9%84/PBNP.pdf>

Biosynex. (2022). Brief instructions Biosynex Mono BSS.

<https://www.aidian.fi/uploads/COM-Documents-and-materials/ES-Products/Biosynex/8150-01EN-Biosynex-Mono-BSS-Brief-Instructions-web.pdf>

Sysmex. (2011). Instructions for use automated Blood Coagulation Analyzer CA-600 series.

https://moodle.fondationmerieux.org/pluginfile.php/5032/mod_resource/content/1/CA%20-600%20Sysmex_User%20Manual.pdf

Cuf. (2022, February 9). Por que é importante fazer análises ao sangue | CUF.

[Www.cuf.pt](http://www.cuf.pt).

<https://www.cuf.pt/mais-saude/por-que-e-importante-fazer-analises-ao-sangue>

Dra. Eduarda Comenda. (n.d.). Análises clínicas mais comuns e para que servem - Lusíadas. Lusíadas Saúde. Retrieved June 17, 2023, from

<https://www.lusíadas.pt/blog/prevencao-estilo-vida/saude-familia/analises-clinicas-glossario>

Fisher, T. (2016, March). Suspensões de Proteus Coloridas.

<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/X7799B-PT.pdf>

Grilo, M. T. C. (2021). Identificação de novas espécies de Brucella spp.: novas ameaças para os humanos.

https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/53818/1/TM_Maria_Teresa_Grilo.pdf

Atellica® Solution. (2017). Atellica® Solution Operator's Guide.

https://dmecc.moh.gov.vn/documents/10182/29929418/upload_00064323_1651242713783.pdf

Laborclin. (2019, November). Widal.

<https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2023/04/172010-08-Widal.pdf>

Merck. (n.d.). Hemacolor® Rapid staining of blood smear. Retrieved June 23, 2023, from

https://www.merckmillipore.com/PT/en/product/Hemacolor-Rapid-staining-of-blood-smear,MDA_CHEM

[111661?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F](https://www.merckmillipore.com/PT/en/product/Hemacolor-Rapid-staining-of-blood-smear,MDA_CHEM111661?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F)

Bio- Rad. (n.d.). D-10™ Hemoglobin A1c Program Instruction Manual. Retrieved June 23, 2023, from

<http://mdkhospital.com/documents/Hemoglobin%20A1c%20D10.pdf>

Fisher, T. (2014, February). TPHA Test.

<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/MBD/Instructions/X5203C-PT.pdf>

Sebia. (2019). Minicap protein(e) 6.

<http://www.biosystemsne.com.br/files/product/16230076229171-2203minicaproteine6.pdf>

Shcolnik, wilson. (2019). Erros relacionados ao laboratório. Segurança Do Paciente: Conhecendo Os Riscos Nas Organizações de Saúde, 237–262.

<https://doi.org/10.7476/9788575416419.0014>

Spinreact, S. (2013). Waaler Rose Hemaglutinação em placa RF-WAALER.

https://www.spinreact.com/files/Inserts/inserts_portugues/SGIS05-P - Ref_1200501 WR_2013.pdf

Spinreact. (2014). Alton GC. Techniques for Brucellosis Laboratory INRA Paris, 1988. 3.

Ariza J. Current Opinion in Infectious Diseases, 21(2).

https://www.spinreact.com/files/Inserts/inserts_portugues/SGIS07-P - Ref_1200901 Rosa Bengala.pdf

Santos, V. M. dos, Cunha, S. F. de C. da, & Cunha, D. F. da. (2000). Velocidade de sedimentação das hemácias: utilidade e limitações. Revista Da Associação Médica Brasileira, 46(3).

<https://doi.org/10.1590/s0104-42302000000300008>

Velocidade de Sedimentação (VS) (sangue total): Descrição. (2015).

https://www.ics.pt/upload/monografia2/M_Velocidade_sedimentacao.pdf

Gonçalves, D., & Almeida Braga, P. (2014). Contagem globular automática: parâmetros avaliados, significado clínico e causas de erro.

https://sigarra.up.pt/fep/pt/pub_geral.show_file?pi_doc_id=27068

Centerlab. (2019, June 4). Artigos - Hematologia: Como é realizada a técnica de esfregaço de sangue? Wwww.centerlab.com.

https://www.centerlab.com/blog/Informativo_6/

Siemens. (2007, February). IMMULITE Operator's Manual.

<https://sky2.ch/Doc/l2500.pdf>

Siemens. (2010). Operator's Guide.

<https://startrinity3.com/01/Advia%20Ops%20Guide.pdf>

Ferreira, Z. (2017, September 18). A importância da Análises clínicas. Pt.linkedin.com.

<https://pt.linkedin.com/pulse/import%C3%A2ncia-da-an%C3%A1lises-cl%C3%ADnicas-zilda-ferreira>

Content, D. por R. (2020, September 4). Conheça as três fases dos exames laboratoriais - Concent. Concent Sistemas - Gestão Laboratorial.

<https://blog.concentsistemas.com.br/tres-fases-exames-laboratoriais/>

Sanar. (2023, April 24). Hematologia: Conceitos Básicos | Colunistas - Sanar Medicina. Sanar | Medicina.

<https://www.sanarmed.com/hematologia-conceitos-basicos-colunistas>

Hospital da luz. (2019, May 20). Plasma: o que é | Hospital da Luz.

[Www.hospitaldaluz.pt](http://www.hospitaldaluz.pt).

<https://www.hospitaldaluz.pt/pt/dicionario-de-saude/plasma-o-que-e>

Kenhub. (2023, March 29). Hematopoiese. Kenhub.

<https://www.kenhub.com/pt/library/anatomia/hematopoiese>

Mundo da Educação. (n.d.-b). Linfócitos. Mundo Educação.

<https://mundoeducacao.uol.com.br/biologia/linfocitos.htm>

Mundo da Educação. (n.d.-b). Linfócitos. Mundo Educação.

<https://mundoeducacao.uol.com.br/biologia/linfocitos.htm>

Kuter, D. J. (2022, June 6). Considerações gerais sobre distúrbios plaquetários. Manual MSD Versão Saúde Para a Família; Manuais MSD.

<https://www.msmanuals.com/pt-pt/casa/dist%C3%BArbios-do-sangue/dist%C3%BArbios-das-plaquetas/considera%C3%A7%C3%B5es-gerais-sobre-dist%C3%BArbios-plaquet%C3%A1rios>

Hospital da luz. (2023, March 27). Sífilis | Hospital da Luz. Wwww.hospitaldaluz.pt.

<https://www.hospitaldaluz.pt/pt/dicionario-de-saude/sifilis>

Biomedicina. (2021, October 11). Diferenças entre os testes treponêmicos e não treponêmicos | Biomedicina Padrão. Biomedicina Padrão.

<https://www.biomedicinapadrao.com.br/2021/10/diferencas-entre-os-testes-treponemicos.html>

Tua saúde. (2023, January). Teste de coombs direto e indireto: o que é e para que serve. Tua Saúde.

<https://www.tuasaude.com/teste-de-coombs/>

Sns. (2023, May 11). Infecções por Salmonella. SNS24.

<https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/infecoes-por-salmonella/>

Tua saúde. (2023b, June). Rickettsia: o que é, sintomas e principais doenças. Tua Saúde.

<https://www.tuasaude.com/rickettsia/>

Valente, C., João Faria, M., Trindade, L., José Barros, M. S., Vieira, A. A., Albuquerque, I., & Rodrigues, R. (1993). Artigo de revisão diagnóstico serológico de algumas doenças infecciosas.

<https://actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/download/3165/2504>

Hospital da luz. (2019a, March 14). Tipos de sangue | Hospital da Luz.

Wwww.hospitaldaluz.pt.

<https://www.hospitaldaluz.pt/pt/dicionario-de-saude/tipos-sangue-caracteristicas-regras>

Ingoh. (2020, May 27). Grupos Sanguíneos - INGOH. INGOH.

<https://ingoh.com.br/grupo-sanguineo/>

Cromatest. (n.d.). Quality system certified iso 9001 iso 13485.

<https://www.linear.es/wp-content/uploads/2018/03/34400-I-.pdf>

Mundo da Educação. (n.d.-a). Formação da urina. Mundo Educação.
<https://mundoeducacao.uol.com.br/biologia/formacao-urina.htm>

Infopedia. (n.d.). Urina.
[https://www.infopedia.pt/apoio/artigos/\\$urina](https://www.infopedia.pt/apoio/artigos/$urina)

FirstLab. (2022, November 1). Urinálise: quais são os 3 aspectos analisados da urina. Firstlab.
<https://firstlab.ind.br/urinalise-o-que-e/>

Saúde. (2023, January 4). Fezes: o que a cor e o formato indicam sobre a saúde intestinal? • Summit Saúde Estadão. Summit Saúde Estadão.
<https://summitsaude.estadao.com.br/saude-humanizada/fezes-o-que-a-cor-e-o-formato-indicam-sobre-a-saude-intestinal/>

Macedo, Prof. Dr. G. (n.d.). Como identificar os 7 tipos de fezes? - Lusíadas. Lusíadas Saúde. <https://www.lusiadas.pt/blog/prevencao-estilo-vida/como-identificar-7-tipos-fezes>

Hematologia laboratorial. (2016). Livro: Hematologia laboratorial - silva, alves, comar, henneberg, merlin & stinghen (1ª ed.). livro.
<https://bibliotecadebiomedicina.blogspot.com/2019/01/livro-hematologia-laboratorial-silva.html>

Lumilabo. (2022, December 9). Controlo de Qualidade. Lumilabo.
<https://lumilabo.pt/elementor-698/controlo-de-qualidade/>

Ravindra Sarode. (2021, February 8). *Componentes do sangue*. Manual MSD Versão Saúde Para a Família; Manuais MSD.
<https://www.msmanuals.com/pt-pt/casa/dist%C3%BArbios-do-sangue/biologia-do-sangue/componentes-do-sangue>

Biomedicina. (2016, September 13). *Diferença entre plasma e soro* | Biomedicina Padrão. Biomedicina.
<https://www.biomedicinapadiao.com.br/2016/09/diferenca-entre-plasma-e-soro.html>

Brunetti, B. (2020, August 17). *Anticoagulantes de rotina em Análises Clínicas*.

Pt.linkedin.com.

<https://pt.linkedin.com/pulse/anticoagulantes-de-rotina-em-an%C3%A1lises-cl%C3%ADnicas-bruno-brunetti>

Laboratório, S. N. (n.d.). Tpha- treponema palidum ha. solnascente. retrieved october 21, 2023, from

<https://www.laboratoriosolnascente.com.br/tpha>

Campos, C. (2019, March 12). *Classificação dos meios de cultura*. Pt.linkedin.com.

<https://pt.linkedin.com/pulse/classifica%C3%A7%C3%A3o-dos-meios-de-cultura-camila-campos>

Saoc. (n.d.). *Coprocultura e Parasitológico*. SAOC | Soluções Em Saúde Ocupacional E Segurança Do Trabalho.

<https://saoc.com.br/saude-ocupacional/coprocultura-e-parasitologico/>

A.C.Camargo. (2018, March 19). *O exame de sangue oculto nas fezes é o método ideal para rastreamento do câncer colorretal em grandes populações*. A.C.Camargo Cancer Center.

<https://accamargo.org.br/sobre-o-cancer/noticias/o-exame-de-sangue-oculto-nas-fezes-e-o-metodo-ideal-para-rastreamento-do>

Lemos, M. (n.d.). *Calprotectina: o que é, para que serve e o que significa o resultado*.

Tua Saúde. Retrieved October 21, 2023, from

<https://www.tuasaude.com/calprotectina/>