

Relatório de Estágio no Serviço de Patologia Clínica do Hospital Nossa Senhora da Assunção

Avaliação do Défice de Vitamina D e das Patologias Associadas nos Utentes do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Nossa Senhora da Assunção, Seia

Versão final após defesa

Micaela Maria Henriques Mendes

Relatório de estágio para obtenção do Grau de Mestre em
Bioquímica
2º ciclo de estudos

Orientador: Doutor Bruno Joel Santos Marques
Co-orientadora: Prof. Doutora Cândida Ascensão Teixeira Tomaz

julho de 2024

Folha em branco

Declaração de Integridade

Eu, Micaela Maria Henriques Mendes, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição m12832 do Mestrado em Bioquímica da Faculdade de Ciências, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã, 25/07/2024

Micaela Maria Henriques Mendes

Folha em branco

Agradecimentos

A realização desta dissertação contou com o apoio de algumas pessoas às quais gostaria de agradecer.

Ao Dr. Bruno Marques por ter aceite ser meu orientador, pelo apoio incondicional, disponibilidade, compreensão, por me incentivar sempre a querer saber mais e por todo o conhecimento que partilhou comigo.

À Professora Doutora Cândida Tomaz que se disponibilizou prontamente a ser minha co-orientadora.

À Unidade Local de Saúde da Guarda que possibilitou a realização do estágio no Hospital de Seia e que concedeu a autorização do estudo.

Aos membros do Hospital que me acolheram de braços abertos.

Às minhas Anas, que partilharam da vida académica ao meu lado, que me viram rir e chorar, por vezes de tanto rir, e por dizerem sim às minhas ideias malucas.

Aos meus familiares pelo apoio e conselhos que deram com muito carinho.

Por fim, um especial agradecimento aos meus pais que sempre me apoiaram e incentivaram a continuar os meus estudos, estando comigo a cada passo que dei e pelos abraços que me confortaram quando mais precisei.

Folha em branco

Resumo

O relatório de estágio, realizado no Serviço de Patologia Clínica do Hospital Nossa Senhora da Assunção de Seia, bem como o estudo desenvolvido, relatam os conhecimentos teóricos e práticos, adquiridos ao longo de nove meses.

Milhões de pessoas apresentam deficiência de vitamina D, uma vitamina que pode ser obtida através da alimentação ou através da sua síntese, na pele. Por se tratar de uma deficiência de vitamina que afeta grande parte da população, torna-se essencial o estudo da mesma. Deste modo, foi avaliada a deficiência de vitamina D nos utentes do serviço, no período de janeiro de 2022 a dezembro de 2023, tendo sido também analisadas quais as patologias associadas aos portadores de défice de vitamina D. Os dados foram recolhidos recorrendo aos sistemas informáticos Modulab[®] e SClínico[®], e a análise estatística realizada fazendo uso do Microsoft Office Excel e *GraphPad Prism 10*. A quantificação dos valores de vitamina D foi realizada com recurso ao imunoensaio de quimioluminescência *Alinity i 25-OH Vitamin D* da *Abbott*[®]. Neste estudo observou-se que 82,10% da população em estudo apresenta hipovitaminose D, enquanto 50,49% apresentavam deficiência de vitamina D. Nos portadores de deficiência de vitamina D, foi possível observar-se 31 patologias, entre as quais hipertensão arterial, artrose, diabetes *mellitus*, doenças cardíacas, cancro, entre outras.

Palavras-chave

Estágio; Vitamina D; Hipovitaminose D; Deficiência de Vitamina D; Patologias

Folha em branco

Abstract

The internship report details the theoretical and practical knowledge acquired during a nine-month at the Clinical Pathology Service of Hospital Nossa Senhora da Assunção in Seia, as well as the conducted study. Given that a significant portion of the population suffers from vitamin D deficiency, it is crucial to thoroughly examine it. Therefore, the vitamin D deficiency was evaluated among service users from January 2022 to December 2023, and the associated pathologies were also identified. The data was collected using the Modulab® and SClinico® computer systems. Statistical analysis was performed using Microsoft Office Excel and GraphPad Prism 10. Vitamin D values were determined using Abbott's Alinity i 25-OH Vitamin D chemiluminescence immunoassay. The study revealed that 82.10% of the population presented hypovitaminosis D, with 50.49% showing vitamin D deficiency. Among those with vitamin D deficiency, 31 different pathologies were observed, including arterial hypertension, osteoarthritis, diabetes mellitus, heart disease, and cancer, among others.

Keywords

Internship; Vitamin D; Hypovitaminosis D; Vitamin D Deficiency; Pathologies

Folha em branco

Índice

Capítulo 1 – Relatório de Estágio	1
1. Introdução	1
2. Caracterização do Hospital/ULS	1
3. Caracterização do Serviço de Patologia Clínica	2
4. Atividades Desenvolvidas	2
4.1. Fases Analíticas.....	2
4.1.1. Fase Pré-Analítica.....	2
4.1.2. Fase Analítica.....	4
4.1.3. Fase Pós-Analítica.....	6
4.1.4. Controlo de Qualidade.....	6
4.1.4.1. Controlo de Qualidade Interno.....	6
4.1.4.2. Controlo de Qualidade Externo	7
4.2. Receção das Amostras	7
4.3. Atividades desenvolvidas no setor de Hematologia	8
4.3.1. Hemograma	8
4.3.1.1. Eritrograma	8
4.3.1.2. Leucograma	9
4.3.1.3. Plaquetograma.....	11
4.3.1.4. Esfregaço de Sangue Periférico.....	11
4.3.2. Velocidade de Sedimentação	11
4.3.3. Coagulação / Hemóstase	12
4.3.3.1. Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada	12
4.3.3.2. Tempo de Protrombina.....	13
4.3.3.3. Razão Normalizada Internacional	13
4.3.3.4. D-Dímeros	13
4.4. Atividades desenvolvidas no setor de Bioquímica.....	14
4.4.1. Parâmetros Analisados	14
4.4.1.1. Marcadores de Função Hepática	14
4.4.1.2. Ionograma.....	15
4.4.1.3. Marcadores de Função Renal	16
4.4.1.4. Marcadores de Função Cardíaca.....	17
4.4.1.5. Marcadores de Função Tiroideia	18
4.4.1.6. Marcadores de Função Pancreática.....	19
4.4.1.7. Proteínas Séricas.....	20
4.4.1.8. Outros Parâmetros Analisados	21
4.4.2. Serologia	22
4.4.3. Gasimetrias	23

4.5.	Atividades desenvolvidas no setor da Microbiologia.....	24
4.5.1.	Hemoculturas	24
4.5.2.	Estudo de Amostras do Trato Respiratório	24
4.5.3.	Uroculturas	27
4.5.4.	Exames Parasitológicos	28
4.5.5.	Testes Rápidos	29
4.5.5.1.	Streptococos A	29
4.5.5.2.	Streptococcus pneumoniae.....	30
4.5.5.3.	Legionella pneumophila	30
4.5.5.4.	Clostridium difficile	31
4.5.5.5.	Giardia e Crytosporidium	32
4.5.5.6.	Rotavírus e Adenovírus.....	33
4.5.5.7.	Sangue Oculto nas Fezes.....	33
4.5.5.8.	Teste de Gravidez.....	34
4.5.6.	Teste Respiratório para a Detecção de <i>Helicobacter pylori</i>	34
4.6.	Atividades desenvolvidas na Unidade de Medicina Transfusional	35
4.6.1.	Teste de <i>Coombs</i> Direto e Indireto	35
4.6.2.	Grupagem e Fenotipagem Sanguínea.....	36
4.6.3.	Provas de Compatibilidade.....	37
Capítulo 2 – Avaliação do Défice de Vitamina D e das Patologias Associadas nos Utentes do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Nossa Senhora da Assunção de Seia		38
1.	Introdução	38
2.	Caracterização da Vitamina D	41
2.1.	Metabolismo	41
2.2.	Regulação.....	42
2.3.	Doseamento	42
2.4.	Fatores Condicionantes	43
2.5.	Toxicidade.....	43
3.	Objetivos	45
4.	Materiais e Métodos	46
4.1.	População em Estudo	46
4.2.	Recolha de Dados.....	46
4.3.	Quantificação de Vitamina D.....	46
4.4.	Imunoensaio Quimioluminescência.....	47
4.5.	Análise Estatística.....	47
5.	Resultados.....	48
5.1.	Caracterização da População	48
5.2.	Caracterização dos Níveis de Vitamina D.....	50
5.3.	Caracterização da População com Défice de Vitamina D.....	51

5.4.	Análise dos Níveis de Vitamina D e Patologias Associadas.....	53
6.	Discussão	55
7.	Conclusão e Perspetivas Futuras	57
8.	Bibliografia.....	58

Folha em branco

Lista de Figuras

Figura 1 – Caixa de transporte de amostras biológicas	7
Figura 2 – Indexor Maksense ®	8
Figura 3 – Esfregaço de sangue periférico	11
Figura 4 – Cascata da coagulação	12
Figura 5 – Aumento de enzimas após enfarte agudo do miocárdio	17
Figura 6 – Ilustração da tiroide	18
Figura 7 – Proteinograma normal	21
Figura 8 – Proteinograma anormal, com um pico acentuado nas γ -globulinas e redução da albumina, característico de mieloma múltiplo	21
Figura 9 – Amostra de expetoração contaminada por flora da orofaringe	26
Figura 10 – Amostra de expetoração de boa qualidade	26
Figura 11 – Observação do gram de uma expetoração, com Streptococos e fungos leveduriformes	26
Figura 12 – Gelose de sangue com crescimento superior a 100 colónias	27
Figura 13 – Observação do gram de uma urocultura, na presença de Cocos gram positivos	28
Figura 14 – Observação do gram de uma urocultura, na presença de bacilos gram negativos	28
Figura 15 – Observação do gram de uma urocultura, na presença de bacilos gram positivos	28
Figura 16 – Observação de fezes com ovos com morfologia sugestiva de <i>Ascaris lumbricoides</i>	29
Figura 17 – Observação de fezes com cistos com morfologia sugestiva de <i>Giardia</i>	29
Figura 18 – Observação de fezes com ovo com morfologia sugestiva de <i>Hymenolepis nana</i>	29
Figura 19 – Teste rápido <i>Streptococos A</i> negativo	30
Figura 20 – Teste de <i>S. pneumoniae</i> negativo	30
Figura 21 – Teste de <i>Legionella pneumophila</i> negativo	31
Figura 22 – Teste rápido para <i>C. difficile</i> negativo	31
Figura 23 – Teste Crypto+Giardia com <i>Cryptosporidium</i> positivo e <i>Giardia</i> negativo	32
Figura 24 – Teste Rota+Adeno com Rotavírus negativo e Adenovírus negativo .	33
Figura 25 – Teste de sangue oculto nas fezes positivo	34

Figura 26 – Teste de sangue oculto nas fezes negativo	34
Figura 27 – Teste rápido de gravidez positivo	34
Figura 28 – Cartão gel onde se efetua o Teste de <i>Coombs</i> com o penúltimo poceto com reação positiva	35
Figura 29 – Ilustração dos grupos sanguíneos de acordo com sistema ABO com antigénios de superfície	36
Figura 30 – Exemplo de um dos medicamento de colecalciferol comercializado em Portugal sujeito a prescrição	39
Figura 31 – Associação de deficiência/insuficiência de vitamina D a doenças crónicas	40
Figura 32 – Vitamina D2	41
Figura 33 – Vitamina D3	41
Figura 34 – Metabolismo da vitamina D	41
Figura 35 – Formação do ácido calcitroico	42
Figura 36 – Classificação dos diferentes tipos de pele pela Escala de <i>Fitzpatrick</i>	43

Folha em branco

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Tubo e recipientes de colheitas usados no HNSA	3
Tabela 2 – Equipamentos usados pelo Serviço de Patologia no HNSA	5
Tabela 3 – Leucócitos observados no decorrer do estágio	10
Tabela 4 – Bactérias que podem provocar infecções do trato respiratório inferior	25
Tabela 5 – Tabela de Murray e Washington	25
Tabela 6 – Número de indivíduos e respetiva percentagem de cada grupo etário da população em estudo	48
Tabela 7 – Número de indivíduos e respetiva percentagem de cada grupo etário da população com défice de vitamina D	51

Folha em branco

Lista de Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição da população em estudo por grupo etário	48
Gráfico 2 – Distribuição da população em estudo por género	48
Gráfico 3 – Serviços requisitantes da análise quantitativa da vitamina D	49
Gráfico 4 – Distribuição dos níveis de vitamina D na população em estudo	50
Gráfico 5 – Distribuição dos níveis de vitamina D populacional	50
Gráfico 6 – Distribuição por grupo etário da população com défice de vitamina D	51
Gráfico 7 – Distribuição por género da população com défice de vitamina D	52
Gráfico 8 – Serviços requisitantes da análise quantitativa da vitamina D da população com défice de vitamina D	52
Gráfico 9 – Número de determinação de vitamina D resultantes em défice de janeiro de 2022 a dezembro de 2023	53
Gráfico 10 – Patologias existentes nos utentes do SPC do HNSA, com deficiência de vitamina D	54

Folha em branco

Lista de Equações

Equação 1 – Fórmula do cálculo do RNI.....	13
Equação 2 – Equação de Henderson-Hasselbach	23

Folha em branco

Lista de Acrónimos

ALP	Fosfatase Alcalina
ALT	Alanina Aminotransferase
Anti-Tg	Anti-tireoglobulina
Anti-TPO	Anti-tireoperoxidase
AST	Aspartato Aminotransferase
BNP	Péptido Natriuretico tipo B
Ca ²⁺	Ião Cálcio
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CK-MB	“Fração Cardíaca” da Creatinofosfocinase
Cl ⁻	Ião Cloro/Cloreto
CLED	Cistina, Lactose, Défice em Eletrólitos
CO	Monóxido de Carbono
CO ₂	Dióxido de Carbono
CUMITECH	<i>Cumulative Techniques and Procedures Clinical Microbiology</i>
CYP	Citocromo P450
EAM	Enfarte Agudo do Miocárdio
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
EDTA K ₃	Ácido Etilenodiaminotetracético tripotássico
EPO	Eritropoietina
GGT	Gama-gutamil Transferase
Hb	Hemoglobina
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
Hct	Hematócrito
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HNSA	Hospital Nossa Senhora da Assunção
HSM	Hospital Sousa Martins
Ig	Imunoglobulina
ISI	Índice de Sensibilidade Internacional
K ⁺	Ião Potássio
LDH	Desidrogenase do Lactato
Na ⁺	Ião Sódio
NK	<i>Natural Killer</i>
O ₂	Oxigénio
PCR	Proteína C Reativa
PCT	Plaquetócrito
PDW	Amplitude de Variação de Tamanho das Plaquetas
PTH	Hormona da Paratiroide
RDW	Amplitude de Variação de Tamanho dos Eritrócitos
RVD	Recetor da Vitamina D
SPC	Serviço de Patologia Clínica
T ₃	Triiodotironina
T ₄	Tetraiodotironina

TP	Tempo de Protrombina
TRAb	Anticorpo Anti-recetores de TSH
TRH	Hormona Libertadora de Tireotrofina
TSH	Hormona Estimulante da Tiroide
TTPA	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada
UBI	Universidade da Beira Interior
UI	Unidade Internacional
ULS	Unidade Local de Saúde
UVB	Radiação Ultravioleta B
VCM	Volume Corpuscular Médio
VPM	Volume Plaquetar Médio
VS	Velocidade de Sedimentação

Folha em branco

Capítulo 1 – Relatório de Estágio

1. Introdução

O presente documento foi elaborado no âmbito da Unidade Curricular “Dissertação/Estágio/Projeto” do 2º ano do Mestrado em Bioquímica, da Faculdade de Ciências da Universidade da Beira Interior (UBI). O estágio visa enriquecer e consolidar o conhecimento adquirido ao longo do percurso académico, sendo que este tomou lugar no Serviço de Patologia Clínica (SPC) do Hospital Nossa Senhora da Assunção (HNSA), inserido na Unidade Local de Saúde (ULS) da Guarda. A duração do mesmo foi de nove meses, compreendidos entre setembro de 2023 e maio de 2024. No decorrer do estágio pude percorrer todos os setores deste serviço, nomeadamente, Hematologia, Bioquímica e Microbiologia. Em cada setor foi possível desenvolver competências técnicas, permitindo a consolidação da componente teórica do mestrado. Adicionalmente, foi possível a criação de métodos de trabalho em contexto laboratorial hospitalar.

O presente relatório está dividido em dois capítulos. O primeiro capítulo, referente ao estágio nos diferentes setores, expressa o conhecimento teórico e prático obtido/consolidado ao longo dos nove meses, no SPC. O segundo capítulo expõe o estudo desenvolvido no âmbito do estágio. Este pretende avaliar as patologias associadas aos utentes do Serviço de Patologia Clínica do HNSA, que apresentem um défice de vitamina D.

2. Caracterização do Hospital/ULS

A documentação mais antiga referente ao Hospital de Seia, que na época pertencia à Santa Casa da Misericórdia, é datada de 1617. Nesse período, o hospital consistia nos cuidados prestados por uma hospitaleira, pelo nome de Ana Fonseca.

No final de 1916 iniciaram-se as obras do edifício que viria a chamar-se hospital, com a ajuda de subscritores, como Dr. Afonso Costa. O edifício foi inaugurado a 25 de dezembro de 1929, como consta na ata nº 14 de 16 de dezembro de 1929 e jornais da época, disponíveis no arquivo municipal de Seia.

A criação do hospital como se conhece no presente, deu-se a 5 de fevereiro de 1992 pelo Decreto de Lei nº18/92 e teve como objetivo melhorar os acessos aos cuidados básicos de saúde e inter-relacionar as diferentes instituições e comunidade que as servem (Diário Da República, 1992).

No dia 4 de setembro de 2008 foi decretada a criação da ULS da Guarda, por integração do Hospital Sousa Martins (HSM) da Guarda, do HNSA e dos Centros de Saúde do distrito, à exceção dos Centros de Saúde de Vila Nova de Foz Côa e de Aguiar da Beira, que foram incorporados posteriormente (Diário Da República, 2008).

3. Caracterização do Serviço de Patologia Clínica

O Serviço de Patologia Clínica (SPC) é responsável por realizar análises em amostras biológicas, que auxiliam no diagnóstico e tratamento dos utentes, com base em técnicas laboratoriais aplicadas a amostras, como sangue, urina, fezes, expetorações, entre outros fluidos corporais.

As técnicas laboratoriais avaliam qualitativamente ou quantitativamente os analitos, permitindo ao clínico, identificar a presença ou ausência de patologia.

O SPC do HNSA é constituído por uma sala de colheitas, com dois postos de colheitas, uma sala de lavagens, e três salas de trabalho sendo estas destinadas às Análises Bioquímicas, à Microbiologia e à Hematologia, partilhada com a Unidade de Medicina Transfusional. No Serviço de Urgência, encontra-se disponível um equipamento partilhado pelos dois serviços.

4. Atividades Desenvolvidas

4.1. Fases Analíticas

A organização de tarefas do processo analítico num laboratório de análises clínicas está separada em três fases, sendo estas a fase pré-analítica, analítica e pós-analítica. Estas estão implementadas para que se possa otimizar e padronizar o procedimento das análises, desde a sua requisição até à chegada dos resultados ao médico prescritor ou ao utente.

4.1.1. Fase Pré-Analítica

A maior percentagem de erros laboratoriais, cerca de 46% a 68,2% (Plebani, 2006), são cometidos na fase pré-analítica. Os erros laboratoriais mais frequentes ocorrem nesta fase, tais como a má identificação da amostra ou do próprio utente, o volume insuficiente de amostra ou as condições de transporte inadequadas, entre outros. De modo a minimizar os erros cometidos os profissionais no laboratório agem de acordo com medidas estabelecidas e executam controlos internos e externos, que visam diminuir a variabilidade pré-analítica (Jorge et al., 2019). É nesta fase que o utente é informado de qualquer procedimento prévio e orientações a seguir de modo a minimizar possíveis erros e contaminações. Caso seja necessário, é também aconselhado a fazer jejum ou suspender a toma de algum medicamento que possa interferir com as análises.

Todo o processo de orientação do utente para a preparação para análises, tem em vista uma maior satisfação por parte do mesmo uma minimização do risco da necessidade em repetir a colheita.

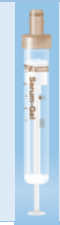





Aquando da colheita, é crucial a confirmação da identidade do utente da sua prévia preparação, se necessária. Posteriormente, o técnico que irá realizar a flebotomia terá de ter em consideração alguns aspetos, tais como a escolha de agulha a utilizar, o tempo de garrotagem

(que deve ser no máximo de 1 minuto), o volume recomendado e a ordem correta de colheita dos tubos. É ainda necessária a homogeneização de cada tubo após a colheita, e seu o transporte até ao laboratório, que deverá cumprir as indicações recomendadas (Cornes et al., 2017; Simundic et al., 2018).

Outra etapa importante nesta fase é a correta seleção do tubo ou recipiente (Tabela 1) para colher a amostra e a sequência das mesmas, para que a amostra se mantenha nas melhores condições aquando da análise.

Tabela 1: Tubos e recipientes de colheitas usados no HNSA. Adaptado de “SARSTEDT Products,” n.d.

Tubos e Recipientes de colheitas

		<p>Tubo de Soro com gel</p> <p>No seu interior contém um gel ativador da coagulação que auxilia a separação do soro aquando da coagulação</p>
		<p>Tubo de Velocidade de Sedimentação (VS)</p> <p>O tubo de VS contém uma solução de citrato 0,106 molar</p>
		<p>Tubo de Coagulação</p> <p>Tubo de citrato a 3,2%</p>
		<p>Tubo de Fluoreto/EDTA</p> <p>Tubo com preparação de 1 mg de fluoreto e 1,2 mg de EDTA por mL de sangue</p>
		<p>Tubo de Heparina-Lítio</p> <p>Tubo com uma concentração de 19 UI por mL de sangue</p>
		<p>Tubo de EDTAK₃</p> <p>Tubo com 1,6 mg de EDTAK₃ por mL de sangue</p>

	<p>Tubo TromboExact</p> <p>Tubo com uma preparação de magnésio a 0,82 mg por mL de sangue</p>
	<p>Tubo Neutro</p> <p>Tubo sem aditivos/conservantes</p>
	<p>Seringa de Gasimetrias</p> <p>No seu interior contém heparina, para manter a amostra fluida</p>
	<p>Tubo para Urina</p> <p>Tubo sem aditivos/conservantes</p>
	<p>Copos para Estéreis Material Biológico</p>
	<p>Recipiente para Urina de 24h</p> <p>O recipiente castanho vem acompanhado de um estabilizador que consiste em 9 mL de ácido clorídrico a 20%</p> <p>O recipiente branco não contém conservantes nem estabilizadores</p>


4.1.2. Fase Analítica

A fase analítica inicia-se assim que a amostra começa a ser processada. Esta é a fase mais automatizada e é a que apresenta menos erros associados (aproximadamente de 7% a 13%) (Plebani, 2006). É a fase mais automatizada, pois é dependente de um trabalho especializado, que estabelece a qualidade dos resultados. Por esta razão, é a fase que necessita de maior verificação de equipamentos e reagentes, de modo a assegurar a viabilidade dos resultados.

Nos últimos anos, desenvolveram-se métodos e equipamentos (Tabela 2) com maior sensibilidade, especificidade, precisão e exatidão, que se inserem nos controlos de qualidade internos e externos, para assegurar o bom funcionamento desta fase analítica, com menor erro associado e resultados mais fidedignos.

Tabela 2: Equipamentos usados pelo Serviço de Patologia do HNSA

Equipamento	Parâmetros Analisados	Métodos Usados
<p>Sysmex XN-550</p> 	<p>WBC, RBC, HGB, HCT, VCM, HCM, PLT, RDW, MPV, NEUT#, LINFO#, MONO#, EO#, BASO#, NEUT%, LINFO%, MONO%, EO%, BASO%, IG#, IG%</p>	<p>Citometria de Fluxo c/Fluorescência; Impedância c/ Foco Hidrodinâmico; Método Laurilsulfato de Sódio sem cianeto</p>
<p>ACL TOP 300 CT</p> 	<p>TP, APTT, D-Dímeros</p>	<p>Ensaio de Coagulação; Imunoensaio</p>
<p>Alinity ci-series</p> 	<p>Perfil Hepático, Perfil Renal, Perfil Cardíaco, Perfil Endócrino, Perfil Pancreático, Proteínas Séricas, Ionograma Metabolismo do Ferro e Acido Úrico</p>	<p>Fotometria; Potenciometria; Imunoensaios; Quimiluminescência</p>
<p>BD Bactec FX40</p> 	<p>CO₂ presente em Hemoculturas</p>	<p>Fluorescência</p>

<p>Analizador de gases no sangue ABL90 FLEX</p> 	<p>pH, pCO₂, pO₂, cGlu, cLac, cCa²⁺, cCl⁻, cK⁺, cNa⁺, COHb, ctBil, ctHb, FHbF, FHHb, MetHb, sO₂, FO₂Hb</p>	<p>Espectrofotometria na Zona do Visível</p>
---	--	--

4.1.3. Fase Pós-Analítica

A última fase, também designada de fase pós-analítica, engloba a validação das análises, a interpretação dos resultados, a transcrição de resultados, caso seja necessária, e a disponibilização do relatório final. A validação dos resultados deve ter em consideração o diagnóstico clínico, assim como, o histórico de análises anteriores do paciente, caso existam. A fase pós-analítica é a segunda fase com maior erro associado, na ordem de 18, 5% a 47% (Plebani, 2006). Adicionalmente, o processo de arquivamento das amostras faz parte da fase pós-analítica.

Para que seja possível a repetição de alguma análise ou o acréscimo de um parâmetro adicional, as amostras de soro são refrigeradas até sete dias e de sangue total até 24h, período no qual se assegura a estabilidade das mesmas. Posteriormente, a validação e a interpretação dos resultados é feita por médicos patologistas e técnicos superiores de saúde, ficando o relatório final disponível no processo do utente para consulta por parte do médico prescritor.

4.1.4. Controlo de Qualidade

O controlo de qualidade é implementado na fase analítica, de modo a garantir e atestar a precisão e exatidão das técnicas analíticas utilizadas no serviço, bem como avaliar o funcionamento dos métodos de trabalho.

4.1.4.1. Controlo de Qualidade Interno

O controlo de qualidade interno tem como objetivo, apurar a precisão das técnicas em vigor no laboratório, isto é, a reprodutibilidade das mesmas (Sciacovelli et al., 2023). Dependendo da técnica usada, o controlo de qualidade interno pode ser executado mais do que uma vez por dia, existindo técnicas em que o controlo vem incorporado, como por exemplo testes rápidos de covid-19.

O controlo interno de técnicas bioquímicas e de hematologia consiste na passagem de três concentrações conhecidas de cada analito, correspondente às condições na presença e ausência de patologia. Essas três concentrações equivalem a um valor baixo, médio e alto do analito. Após a passagem do controlo, os resultados elaboram cartas de controlo interno (gráficos de *Levey-Jennings*), que avaliam a imprecisão do teste, de acordo com as Regras de *Westgard*.

4.1.4.2. Controlo de Qualidade Externo

O controlo de qualidade externo pretende atestar a exatidão das técnicas. Este é elaborado a partir de amostras fornecidas ao laboratório por entidades externas, com uma regularidade específica para cada técnica. Estas amostras são tratadas da mesma forma que as dos utentes e os seus resultados são submetidos numa plataforma específica associada ao programa de avaliação. De seguida, os resultados são então comparados interlaboratorialmente entre os participantes do estudo, permitindo apurar se os resultados estão concordantes com os dos restantes laboratórios. Através da análise estatística dos dados recebidos dos diferentes participantes, demonstra-se o desempenho de cada laboratório, traduzindo-se na monitorização da qualidade das análises.

O controlo de qualidade externo permite ao laboratório verificar se o método a utilizar para a realização das análises se encontra em concordância com as especificações do fabricante e se os resultados produzidos são coincidentes com os dos laboratórios que partilham o mesmo método.

O serviço de patologia clínica do HNSA, encontra-se inserido em programas de monitorização de qualidade de análises, tais como o *United Kingdom External Quality Assessment Service*, *Labquality* - Instituto Dr. Ricardo Jorge, entre outros.

4.2. Receção das Amostras

A receção das amostras biológicas ocorre aquando da chegada das amostras devidamente rotuladas com uma etiqueta, ao laboratório, no interior de uma caixa de transporte identificada para o efeito (Figura 1).



Figura 1: Caixa de transporte de amostras biológicas

O transporte das amostras biológicas no circuito interno do hospital para o laboratório é feito pelas assistentes operacionais de cada serviço. No laboratório, as amostras são rececionadas pelos técnicos, através da leitura do código de barras presente em cada recipiente de amostra, no *Indexor*[®]. O equipamento tem a capacidade de identificar qual o circuito da amostra e qual a seção e/ou equipamento a que se destina. O *Indexor Maksense*[®] (Figura 2) é um sistema de gestão de amostras ligado a um scanner que permite localizar as amostras dentro do laboratório após a receção das mesmas.

As etiquetas de identificação dos recipientes de amostras contêm os dados relativos à informação da amostra biológica contida no seu interior, bem como alguns dados do utente, como

nome, idade, data da colheita, número de processo único hospitalar e o número sequencial das análises atribuído ao utente que é associado ao sistema das análises.

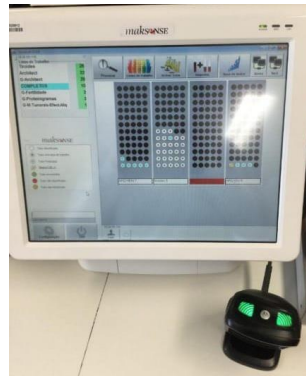


Figura 2: Indexor Maksense ®

4.3. Atividades desenvolvidas no setor de Hematologia

4.3.1. Hemograma

O hemograma é a análise laboratorial mais requisitada e fornece uma grande diversidade de informações. Esta é uma análise de rotina e permite estudar o eritrograma, leucograma e plaquetograma (Celkan, 2020). Adicionalmente, permite identificar de forma qualitativa e quantitativa, as diferentes populações de células presentes no sangue periférico, com recurso a amostras de sangue total, colhidas para tubos contendo EDTAK₃. Este, por ser um agente quelante de cálcio, permite manter a integridade das células, impedindo, deste modo, a formação de coágulos sanguíneos.

4.3.1.1. Eritrograma

O eritrograma avalia os eritrócitos, também conhecidos por hemácias, responsáveis pelo transporte de oxigénio e pelo transporte reverso dos tecidos até aos pulmões. As trocas gasosas feitas pelos eritrócitos são possíveis, pois este é capaz de sintetizar hemoglobina (Hb) (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013). A Hb é uma proteína que contém na sua composição quatro grupos heme e quatro cadeias globínicas. Cada grupo heme contém uma molécula de ferro, no estado ferroso, capaz de se ligar às moléculas de oxigénio (O₂), dióxido de carbono (CO₂) ou monóxido de carbono (CO). A ligação do CO tem maior afinidade do que O₂. Dado que a Hb tem a capacidade de transportar O₂ e CO₂, desempenha uma função reguladora do pH e equilíbrio redox do organismo (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007).

Sendo de grande importância o estudo dos eritrócitos, o eritrograma avalia parâmetros como o Hematócrito (Hct), isto é, o volume de eritrócitos do sangue baseado no volume total de sangue, o Volume Corpuscular Médio (VCM), que indica o tamanho médio das hemácias, o doseamento da Hb, a Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), a Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) e a Variação de Tamanho dos Eritrócitos (RDW) (Celkan, 2020).

Com os dados obtidos através de um eritrograma, é possível concluir se o utente apresenta uma determinada patologia, nomeadamente anemia. Esta patologia consiste numa alteração sanguínea caracterizada pela diminuição de eritrócitos em circulação, resultando na diminuição da capacidade de transporte de O₂. Segundo Hoffbrand A.V. and Moss P.A.H. (2013), um utente é considerado anémico se apresentar valores de Hb inferiores a 11,5 ou 13,5 g/dL para mulheres e homens adultos, respetivamente.

A partir dos restantes parâmetros presentes no eritrograma, é possível definir o tipo de anemia presente. Caso o utente se apresente anémico, um valor de VMC inferior a 80 fL é indicativo de uma anemia microcítica e um valor de CHCM inferior a 30 g/dL é indicativo de uma anemia hipocrómica. Existem diversas causas para uma anemia microcítica hipocrómica, nomeadamente deficiência de ferro, talassémias, anemias associadas a doenças crónicas ou presença excessiva de ferro (anemia sideroblástica), resultando numa diminuição da produção da proteína Hb. Por outro lado, caso o valor de VCM se encontre aumentado (100 fL), é indicativo de uma carência de vitamina B12 ou Ácido Fólico (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013).

Adicionalmente, os reticulócitos, precursores das hemácias em circulação, apresentam particular interesse na caracterização da anemia. Caso estejam presentes, ou com uma contagem aumentada, poderá sugerir uma potencial anemia com carácter hemolítico ou hemorrágico, como resposta compensatória (Phillips J & Henderson AC, 2018).

4.3.1.2. Leucograma

A segunda contagem do hemograma é designada de leucograma e é referente ao estudo dos leucócitos. Os leucócitos são células do sistema imunitário e desempenham um papel importante na defesa do organismo (Fan et al., 2021). Os leucócitos conferem proteção ao hospedeiro contra infeções, danos celulares, na fagocitose, reações alérgicas, reconhecimento de antigénios e produção de anticorpos (Rosales, 2018). Com base no número de núcleos que apresentam, os leucócitos podem ser divididos em polimorfonucleares e mononucleares. Os leucócitos conhecidos por polimorfonucleares são os neutrófilos, os eosinófilos e os basófilos, já os mononucleares apresentam apenas um núcleo distinto, como os linfócitos e monócitos (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013).

Os neutrófilos são células polimorfonucleares e apresentam núcleos segmentados, facilitando a sua identificação aquando da visualização de um esfregaço de sangue periférico. Estas células têm a capacidade de fagocitar organismos invasores como é o caso de bactérias (Rosales, 2018).

Os eosinófilos vistos ao microscópio quando corados por Coloração de *Leishman*, são facilmente reconhecidos pelos seus grânulos que adquirem uma tonalidade rosa-alaranjado. A sua principal função é fagocitar o complexo antigénio-anticorpo, que se encontra aumentado em situação alérgica, parasitológica, doenças autoimunes, entre outras (Day et al., 2024; Widick & Winer, 2016).

Os basófilos são os granulócitos de maiores dimensões e, devido ao seu número reduzido em circulação sanguínea, é raro identificarem-se num esfregaço de sangue periférico. Estes apresentam o citoplasma rico em grânulos bem visíveis corados de “azul escuro” pela Coloração

de *Leishman*. Estas células libertam histamina e heparina, estando associados a eventos alérgicos e/ou de anticoagulantes (Park & Kang, 2024).

Os linfócitos são os agranulócitos em maior quantidade na circulação sanguínea. Estes são de pequenas dimensões, em condições normais, e apresentam-se com a cromatina condensada e com pouco citoplasma visível. Existem três tipos de linfócitos, nomeadamente os linfócitos B, T e NK (*Natural Killer*), cada um apresentando constituições diferentes e como tal, funções diferenciadas. Os linfócitos B (maturam na medula) transformam-se em plasmócitos e são responsáveis pela produção de anticorpos. Os linfócitos T (maturam no timo) diferenciam-se em células CD4 positivas e auxiliam na ativação dos linfócitos B, e em CD8 positivas, que auxiliam no combate de infeções virais. Por último, os linfócitos NK são células linfoides inatas, com atividade citotóxica não específica, que são importantes na resposta precoce às células tumorais e infeções virais (Fan et al., 2021).

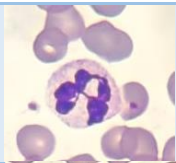
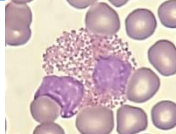
Os monócitos são células de maiores dimensões, apresentando um núcleo em forma de rim/feijão. Nos tecidos, os monócitos transformam-se em macrófagos e são responsáveis pela fagocitose de organismos invasores, como bactérias (Italiani & Boraschi, 2014).

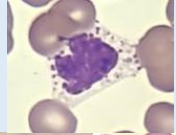
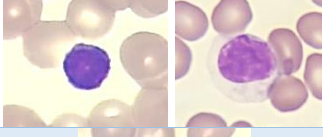
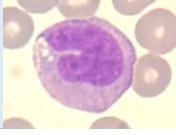
Através do estudo do leucograma, é possível obter uma avaliação diversificada do estado do utente, uma vez que a alteração do leucograma auxilia o clínico aquando do diagnóstico.

Os leucócitos quando aumentados podem indicar a presença de infeção/inflamação. A presença de um número elevado de neutrófilos, ou seja, uma neutrofilia, é sugestiva de infeção bacteriana. Porém se os linfócitos estiverem aumentados, linfocitose, é indicativo de uma infeção viral. É importante salientar que há exceções. No caso de uma infeção viral por Covid ou Gripe A, os linfócitos podem encontrar-se diminuídos, estando assim na presença de uma linfopenia (Huang et al., 2020). No caso de os eosinófilos estarem aumentados pode apontar para uma reação alérgica ou a presença de parasitas. Contudo, se a leucocitose for muito acentuada, pode sugerir uma leucemia (Widick & Winer, 2016).

A diminuição de leucócitos ou leucopenia pode estar presente em situações em que o sistema imunitário esteja a ser comprometido, como acontece quando o utente está sujeito a tratamentos, tais como quimioterapia ou radioterapia, ficando vulnerável a infeções. Na tabela 3 estão descritos exemplos dos diferentes tipos de leucócitos observados durante o estágio.

Tabela 3: Leucócitos observados no decorrer do estágio

Leucócitos	
	Neutrófilo
	Eosinófilo

	Basófilo
	Linfócitos
	Monócito

4.3.1.3. **Plaquetograma**

Por fim, é efetuado o estudo das plaquetas. As plaquetas são o resultado da fragmentação de megacariócitos, sendo fundamentais no processo de coagulação sanguínea. Os megacariócitos são células que advêm da diferenciação das células tronco hematopoéticas, encontradas na medula. O plaquetograma contempla a contagem de plaquetas, o plaquetócrito (PCT), a amplitude de variação de tamanho das plaquetas (PDW) e ainda o volume plaquetar médio (VPM) (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013).

4.3.1.4. **Esfregaço de Sangue Periférico**

O esfregaço de sangue periférico é essencial no dia-a-dia laboratorial no setor de hematologia (Figura 3). Consiste em efetuar o deslizamento de uma gota de sangue total ao longo de uma lâmina de vidro que posteriormente é corada e observada ao microscópio ótico (Celkan, 2020). A visualização de uma lâmina ao microscópio será de carácter confirmatório, uma vez que o aparelho de hematologia pode ter dificuldade na distinção dos diferentes tipos celulares presentes no sangue ou outras alterações morfológicas, tais como células imaturas, agregados plaquetares, linfócitos atípicos, entre outros (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013).



Figura 3: Esfregaço de sangue periférico

4.3.2. **Velocidade de Sedimentação**

A VS ou hemossedimentação é um marcador sensível, não específico de inflamação. Atualmente esta análise é utilizada juntamente com a análise à proteína C reativa (PCR), no diagnóstico de uma ampla variedade de situações clínicas. Esta análise baseia-se no Método de *Westergren*, que consiste na colheita de sangue para um tubo alongado e estreito, na presença de um anticoagulante e de uma esfera que auxilia na homogeneização. Após homogeneização, o tubo de VS é colocado num suporte marcado com uma escala, em posição vertical durante uma hora, estando assim sujeito à força da gravidade. Após este período, procede-se à medição da hemossedimentação, sendo este valor apresentado em mmHg/h (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007).

4.3.3. Coagulação / Hemóstase

A hemóstase é a resposta fisiológica do corpo, que tem como objetivo parar uma hemorragia, através do equilíbrio entre eventos trombóticos e anti-trombóticos. Esta é composta por três etapas, que envolvem a contração vascular e formação de um tampão de plaquetas, a interação de fatores e inibidores de coagulação e a fibrinólise, processo pelo qual o coágulo previamente formado é eliminado.

A cascata da coagulação (Figura 4) é composta por três vias, das quais a via extrínseca, a via intrínseca e a via comum. A via extrínseca inicia-se com o fator tecidual, que se encontra na superfície da célula (Camire, 2021). Quando o citoplasma interage com o fator tecidual, este liga-se ao fator VII, formando um complexo. Este ativa posteriormente os fatores X e IX, para dar início à via comum. A via intrínseca dá-se quando os fatores VIII e V são convertidos em VIIIa e Va pela trombina disponível. Nesta fase forma-se o fator Xa, pela interação de IXa e VIIIa, na presença de Ca^{2+} (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013). Adicionalmente a via comum compreende a formação de trombina que posteriormente converte fibrinogénio a fibrina e ativa o fator XIII que estabiliza o coágulo. Para avaliar qual das vias da cascata de coagulação se encontra alterada, executam-se análises ao tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA). Estes parâmetros são analisados utilizando o método coagulométrico do ACLTOP 300 ct.

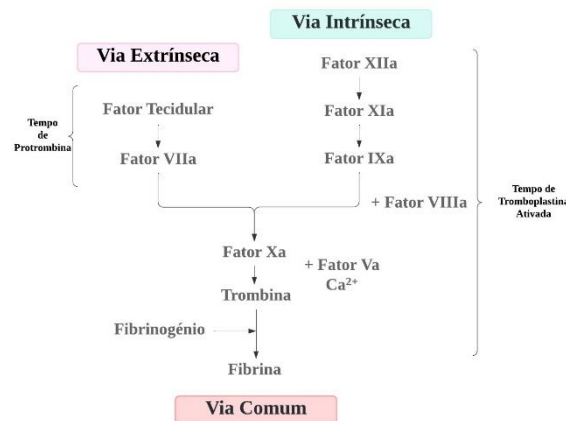


Figura 4: Cascata da coagulação. Adaptado de Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013

4.3.3.1. Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

O TTPA é representativo da via intrínseca da cascata de coagulação (Figura 4). Este encontra-se aumentado, caso o valor de um dos fatores (XIIa, XIa ou IXa) envolvidos nesta via esteja diminuído ou o utente apresente uma mutação que altere ou diminua a produção de um destes fatores.

O teste, realizado a 37°C durante um certo período, utiliza um ativador de contacto, que estimula a produção do fator XIIa. Posteriormente, o cloreto de cálcio, presente no teste,

desencadeia a formação do coágulo (APTT-SP (Liquid) HemosIL ®, 2017). O TTPA é expresso em segundos e os valores de referência encontram-se entre 25,1 e 36,5 segundos.

4.3.3.2. Tempo de Protrombina

O TP avalia a via extrínseca da cascata de coagulação (Figura 4) e encontra-se alterado, na presença de doença ou mutação que afete o fator tecidual ou o fator VIIa (Dorgalaleh et al., 2021).

O teste utilizado no HNSA recorre a um reagente de tromboplastina de elevada sensibilidade, baseado no fator recombinante de tecido humano, que resulta na conversão de fibrinogénio a fibrina e posterior medição da absorvância (RecombiPlasTin 2G HemosIL ®, 2017). O TP é expresso em segundos e os valores de referência rondam 10,0 a 12,5 segundos.

4.3.3.3. Razão Normalizada Internacional

A razão normalizada internacional ou RNI é a razão entre o TP do doente, expresso em segundos e o tempo padrão (Equação 1). Esta razão é em seguida elevada a uma potência índice de sensibilidade internacional (ISI) que caracteriza a tromboplastina utilizada relativamente a uma tromboplastina internacional padrão (Dorgalaleh et al., 2021).

Equação 1: Fórmula de cálculo do RNI

$$RNI = \frac{\text{tempo do doente}^{ISI}}{\text{tempo padrão}}$$

O ISI varia conforme os reagentes utilizados, encontrando-se estabelecido para cada um deles. De salientar que este deve ser introduzido no equipamento sempre que ocorra troca de lote.

Esta análise é comumente usada para monitorizar os utentes que façam terapêutica anticoagulante (varfarina), sendo expectável que os valores de RNI se encontrem compreendidos entre 2 e 3 (Bontempi, 2022; Williams et al., 2017).

4.3.3.4. D-Dímeros

O D-dímero é o menor produto de degradação específico da fibrinólise encontrado em circulação (Olson, 2015) e é um produto solúvel que pode ser quantificado no plasma (Weitz et al., 2017). Quando a plasmina, uma protease, não é inibida, degrada a fibrina criando vários derivados solúveis. Em condições normais os D-dímeros encontram-se em baixas concentrações. Quando elevados podem estar associados a um evento trombótico.

Dado que os D-dímeros funcionam como elemento de exclusão da ocorrência de eventos trombóticos, estes são comumente solicitados em situações de suspeita de embolia pulmonar ou trombose venosa profunda. Apesar de os D-dímeros serem analisados na suspeita de um evento trombótico, um valor elevado poderá indicar também diversas condições clínicas pré-existentes, tais como fibrilação auricular, doença arterial coronária, dissecação aórtica aguda ou infeção por vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Weitz et al., 2017).

No HNSA, os D-dímeros são quantificados através de um imunoensaio turbidimétrico, recorrendo a reagentes, como partículas de latex e tampão. Estas partículas de latex contêm um anticorpo monoclonal específico contra o domínio D-dímero presentes nos derivados solúveis da fibrina. Quando o plasma, contendo D-dímeros, se mistura com o reagente de latex e com o tampão de reação, ocorre a aglutinação das partículas. Consequentemente, observa-se uma diminuição da luz transmitida, sendo o resultado lido por turbidimetria (D-Dimer HS HemosIL®, 2007).

4.4. Atividades desenvolvidas no setor de Bioquímica

4.4.1. Parâmetros Analisados

4.4.1.1. Marcadores de Função Hepática

O fígado é um órgão de extrema importância, dado que desempenha um papel essencial no metabolismo, na desintoxicação, na eliminação de substâncias, entres outros. Como tal, a realização de análises torna-se relevante, de modo a perceber se a sua função permanece intacta ou se sofreu alguma alteração, que possa prejudicar o organismo.

Os analitos associados à função hepática resultam da ocorrência de dano tecidual e são determinados por espectrofotometria. Incluem as transaminases, tais como a alanina aminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST), a gama-gutamil transferase (GGT), as bilirrubinas, a fosfatase alcalina (ALP) (Sawieres, 2022), a albumina e as proteínas totais.

A ALT pode ser encontrada noutros órgão para além do fígado, nomeadamente no coração, no entanto é no fígado que se encontra em maior concentração (Gowda et al., 2009). A ALT é encontrada no citoplasma, e por esta razão os hepatócitos libertam as transaminases quando se encontram danificados. O dano celular pode ser resultado de uma ingestão elevada de álcool, de uma infeção viral ou da doença do fígado gordo (Sawieres, 2022).

A AST apresenta duas isoformas, que diferem geneticamente, sendo que cada uma delas se encontra em locais diferentes, nomeadamente no citoplasma e na mitocôndria (Gowda et al., 2009). Esta transferase está presente noutros órgãos para além do fígado, pois encontra-se em tecidos altamente metabólicos em grandes concentrações. Como no fígado é produzida em maior extensão é usada como marcador da função hepática (Sawieres, 2022).

A atividade da GGT sérica é atribuída ao sistema hepatobiliar (Gowda et al., 2009) e encontra-se aumentada em qualquer forma de lesão ou disfunção hepática, pelo que não é utilizada de forma isolada para diferenciar patologias (Sawieres, 2022).

A bilirrubina é um pigmento amarelo, que resulta da degradação da Hb, presente nos eritrócitos. Esta apresenta-se em duas formas, a forma conjugada e a não conjugada. A bilirrubina não conjugada é transportada para o fígado pela albumina, uma proteína de transporte. Dado que a bilirrubina é um produto insolúvel, para que esta seja excretada é necessário conjugá-la com o ácido glucurónico. A conjugação dá-se nos hepatócitos, sendo posteriormente excretada nas fezes (Sawieres, 2022).

Os valores da bilirrubina poderão auxiliar o clínico a estabelecer um diagnóstico. Caso o nível sérico de bilirrubina não conjugada se encontre elevado, poderá ser indicativo de hemólise ou doenças genéticas, como a síndrome de Gilbert ou a síndrome de Crigler-Najjar (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007), que resulta numa conjugação da bilirrubina ineficaz. O diagnóstico destas síndromes é feito através da análise bioquímica dos parâmetros hepáticos, não sendo necessário, fazer-se o estudo genético ou biópsia ao tecido hepático (Strassburg, 2010). Na eventualidade de ambos os níveis séricos de bilirrubina conjugada e não conjugada se encontrarem elevados, poderá ser indicativo de síndrome de Dubin-Johnson. Esta síndrome é causada por uma deficiência no transporte biliar de aniões orgânicos ácidos não biliares, no transportador ABCC2 codificado pelo cromossoma 10q23 (Strassburg, 2010).

Para além das síndromes referidas existe a síndrome de Rotor que é caracterizada pelo aumento da bilirrubina conjugada.

Todas as síndromes anteriormente referidas não sofrem alteração das transaminases, pelo que se apresentam entres os valores recomendados (Strassburg, 2010).

A ALP está presente em diversos órgãos, nomeadamente no osso, na placenta e no epitélio biliar (Gowda et al., 2009). Esta é produzida pelo epitélio biliar e a sua produção poderá aumentar em consequência do dano provocado por obstrução ou por colangite biliar (Sawieres, 2022), que consiste na inflamação com fibrose associada aos ductos biliares no fígado. A ALP é utilizada na deteção e monitorização de doenças hepáticas, biliares e ósseas.

4.4.1.2. Ionograma

O ionograma destina-se a avaliar o nível de eletrólitos no organismo. Esta é a análise mais prescrita e permite avaliar os níveis de sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloro ou cloreto (Cl^-), fazendo uso do método *Ion-Selective Electrode (ISE)* do Alinity c da Abbott®.

Os eletrólitos são minerais que apresentam carga quando dissolvidos e desempenham diversas funções que incluem a manutenção da pressão osmótica e do pH, a distribuição de água nos variados compartimentos/líquidos do organismo, a ativação de enzimas e o auxílio na contratilidade do miocárdio e na excitabilidade neuromuscular (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007). Os eletrólitos podem ser divididos em aniões (apresentam carga negativa) e catiões (apresentam carga positiva), podendo também ser classificados como extracelulares e intracelulares, dependendo se se dispõem no exterior ou interior da célula, respetivamente.

O Na^+ é o principal catião extracelular e é responsável pela manutenção do equilíbrio hidroeletro do compartimento extracelular (Sterns, 2015). Adicionalmente, tem um papel importante na regulação de fluidos no organismo, ajudando no funcionamento dos músculos e nervos (Sterns, 2015).

O K^+ é o principal catião intracelular envolvido no equilíbrio e distribuição de água no organismo (Palmer & Clegg, 2017). Este eletrólito é essencial para o bom funcionamento do coração e dos restantes músculos, pois participa na transmissão dos impulsos nervosos.

O Cl^- é o principal anião extracelular responsável pela manutenção do equilíbrio hídrico e pressão osmótica. Este auxilia na regulação de fluidos e assegura o volume de sangue correto no organismo, bem como regula a pressão arterial.

O equilíbrio de pH corporal é mantido pelo bicarbonato (HCO_3^-), sendo também relevante no transporte de CO_2 , através da corrente sanguínea (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007).

Para manter as concentrações do organismo a função renal é de grande importância, pois está envolvida na filtração e excreção dos eletrólitos, se assim necessário.

O ionograma tem um papel importante na detecção de desequilíbrios de eletrólitos. Estes poderão dever-se a diversas situações, nomeadamente a desidratação, à toma de alguns fármacos, à perda da função renal ou a uma alimentação inadequada. Os sintomas associados a estes desequilíbrios podem ir desde náuseas, confusão mental, fraqueza a arritmias.

As patologias mais associadas a alterações do ionograma são a hiponatremia e a hipercalemia. A hiponatremia, resulta da baixa concentração de Na^+ no sangue, como possível consequência de insuficiência renal, insuficiência cardíaca ou perda excessiva de líquidos (Spasovski et al., 2014). A hipercalemia é consequência da alta concentração de K^+ no sangue, com possível resultado de insuficiência renal, da toma de alguns fármacos ou da destruição celular (Palmer & Clegg, 2017).

4.4.1.3. Marcadores de Função Renal

A principal função do rim é a manutenção da homeostase do meio interno, produzindo urina de composição variável. A excreção de água em excesso, de eletrólitos e de produtos resultantes do metabolismo, faz com que o rim desempenhe uma função reguladora do pH, do volume sanguíneo, da osmolaridade e da pressão sanguínea. O rim é também responsável pela produção da forma ativa da vitamina D, com um papel importante na regulação da homeostase do osso, e da eritropoietina (EPO), hormona responsável pela estimulação de produção de eritrócitos e da renina, que regula o balanço do Na^+ (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007).

As concentrações de iões, como Na^+ , cálcio (Ca^{2+}), K^+ e Cl^- , são reguladas pelo rim, permitindo avaliar se a função renal se encontra comprometida. Os produtos de excreção, nomeadamente a creatinina, a ureia, o ácido úrico e a cistatina C, têm excreção exclusivamente renal, permitindo assim a monitorização da função renal.

A creatinina, produto final do metabolismo da creatina, encontra-se essencialmente no músculo esquelético, na forma de fosfocreatina. Após a metabolização, esta é filtrada no glomérulo e secretada no túbulo proximal. Uma vez que, a maioria da filtração ocorre exclusivamente no glomérulo, a creatinina é um bom marcador da taxa de filtração glomerular. Deste modo, elevados níveis de creatinina sugerem uma reduzida taxa de filtração glomerular, indicando insuficiência renal (Narimani et al., 2021).

A ureia é o produto da degradação de ácidos nucleicos e é excretada pelo rim, após filtração e reabsorção. Tal como a creatinina, a ureia, quando acumulada no sangue, poderá sugerir uma eventual função renal insuficiente, no entanto de forma mais tardia (Sinkala et al., 2017).

Para avaliação da função renal, são também analisados na urina parâmetros como proteínas totais, creatinina, ureia, glucose, entre outros. A presença de glucose na urina é comum no utente diabético e pressupõe uma má reabsorção glomerular. Os parâmetros anteriormente referidos poderão ser quantificados na ausência de patologia, no caso de uma alimentação desequilibrada.

4.4.1.4. Marcadores de Função Cardíaca

O coração é o órgão responsável por bombear o sangue para o sistema circulatório, composto desde artérias a capilares, irrigando todos os tecidos. O tecido muscular do coração denomina-se miocárdio e é composto por miócitos. Os miócitos requerem uma grande quantidade de O_2 , que lhes é fornecido pela mioglobina, uma proteína transportadora e armazenadora de oxigênio.

O coração é um órgão bastante irrigado devido à necessidade energética que dispõe. Caso a irrigação se encontre comprometida, ocorre isquemia que poderá levar à morte do tecido cardíaco. Com a morte dos miócitos, existe a liberação do conteúdo citoplasmático nomeadamente enzimas, que ficam em circulação sanguínea.

Em caso de suspeita de enfarte do miocárdio, o clínico solicita a análise dos marcadores cardíacos mioglobina, troponina e creatinofosfocinase “fração cardíaca” MB (CK-MB) (Aydin et al., 2019).

A mioglobina é utilizada para a avaliação inicial de utentes com suspeita de enfarte agudo do miocárdio (EAM), porém é também a primeiro a normalizar (Figura 5). Os miócitos contêm três tipos de troponinas, a troponina I, T e C, sendo que esta última poderá ser encontrada também no músculo esquelético.

A técnica usada no HNSA quantifica apenas a troponina I, libertada após a morte de tecido cardíaco (Figura 5). A liberação de troponina e a sua elevação em circulação ocorrem quatro a seis horas após a lesão cardíaca (Fathil et al., 2015). Deste modo, quando existe suspeita de um EAM, mesmo que os níveis de troponina se encontrem reduzidos, a análise deverá ser repetida após 4 horas, para avaliação.

A creatinofosfocinase apresenta o mesmo comportamento que a troponina, no entanto quando libertada, o tempo de vida em circulação é menor, pelo que os valores são normalizados mais rapidamente (Figura 5).

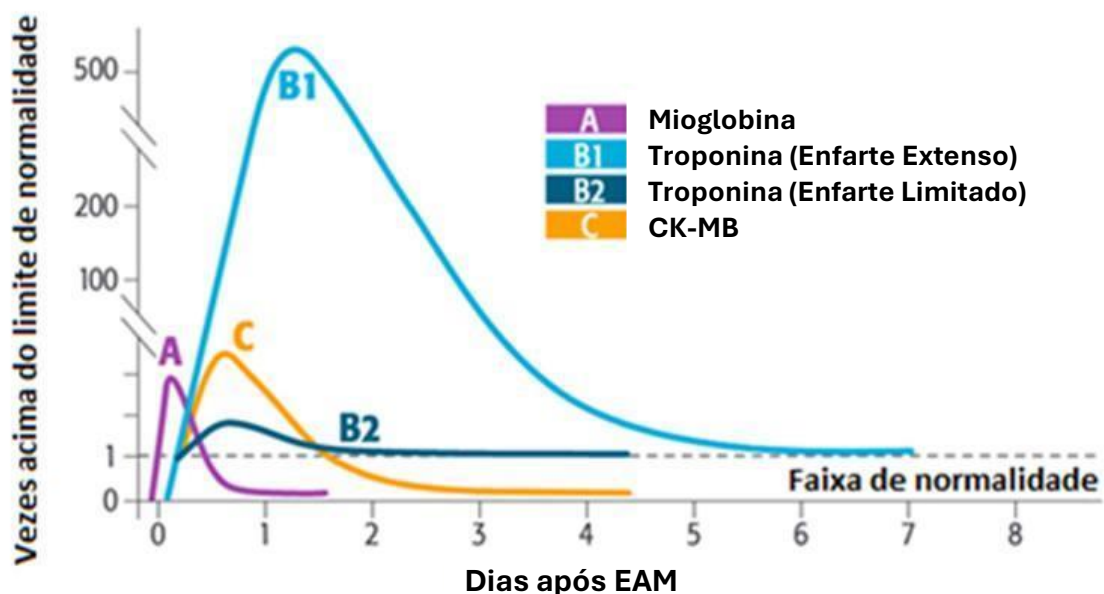


Figura 5: Perfil dos marcadores cardíacos após enfarte agudo do miocárdio. Adaptado de Paula Maria, n.d.

Outro marcador cardíaco bastante analisado no HNSA é o péptido natriurético tipo B, também chamado de BNP. O BNP é uma hormona libertada na corrente sanguínea, pelos miócitos quando em esforço e em resposta a uma sobrecarga de volume ventricular ou a patologias causadoras de dilatação ventricular. O BNP tem origem maioritariamente no ventrículo esquerdo, uma vez que este alberga maiores volumes sanguíneos e uma maior pressão. Este marcador encontra-se aumentado em situação de falência/insuficiência cardíaca (Clerico et al., 2016). O BNP é detetado por um imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência.

4.4.1.5. Marcadores de Função Tiroideia

A tiroide é um órgão em forma de borboleta, situado na base do pescoço (Figura 6). Este é constituído por folículos, que por sua vez contêm no seu interior o coloide, constituído por tiroglobulina. Na porção posterior da tiroide encontram-se as glândulas da paratiroide, responsáveis pela produção de hormona da paratiroide (PTH), uma hormona importante na homeostase do Ca^{2+} e na estimulação de conversão de vitamina D na sua forma ativa, pelos rins.



Figura 6: Ilustração da Tiroide

A tiroide pertence ao sistema endócrino, devido à sua atividade secretora de hormonas, como a triiodotironina (T_3), a tiroxina (T_4) e a calcitonina. Esta última é importante na regulação do metabolismo do Ca^{2+} e fósforo.

A formação das hormonas T_3 e T_4 , necessita de iodo que é captado da corrente sanguínea, pela tiroide, e incorporado num aminoácido (tirosina) presente na tiroglobulina. Enquanto a T_3 é formada após a junção de uma monoiodotirosina e uma diiodotirosina, a T_4 é a junção de duas diiodotirosinas, sendo posteriormente libertadas para a circulação. Tendo em conta que a T_3 é a forma mais ativa da hormona, e tem maior afinidade com os recetores celulares, a T_4 , nos tecidos periféricos sofre desiodação convertendo-se em T_3 (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007).

A regulação da produção de hormonas da tiroide é feita pela libertação de hormona estimulante da tiroide (TSH) pela pituitária, uma glândula localizada na base do cérebro, regulada pelo hipotálamo, através da libertação de hormona libertadora de tireotrofina (TRH). A regulação hormonal dá-se através de feedback negativo, isto é, quanto maior for a concentração de T_3 e T_4 , menor será a libertação de TSH, isto na ausência de patologias (Brent, 2012).

Para avaliação da função tiroideia e da sua regulação, é de grande importância quantificar primeiramente os níveis de TSH. O valor de TSH oferece uma visão geral do comportamento da tiroide e da sua regulação, tendo um valor clínico relevante, uma vez que qualquer alteração aos valores de referência poderá ser sugestiva de uma eventual patologia

No hipotiroidismo, o valor da TSH encontra-se aumentado. Caso os valores de T4 livre se encontrem diminuídos, poderá ser indicativo de hipotiroidismo primário. Por outro lado, valores normalizados de T4 livre, poderá indicar hipotiroidismo secundário. O hipotiroidismo encontra-se associado a uma diminuição da atividade do metabolismo, que conseqüentemente leva a um aumento de peso, fadiga, intolerância ao frio, bócio, entre outros sintomas (McDermott, 2020). Por outro lado, caso o valor da TSH se encontre diminuído, poderá ser indicativo de hipertiroidismo. Caso os valores de T4 livre se encontrem aumentados, poderá ser sugestivo de hipertiroidismo primário. Considera-se hipertiroidismo secundário caso os valores de T4 livre se encontrem normalizados. O hipertiroidismo está associado ao aumento da atividade metabólica e, conseqüentemente, a perda de peso, arritmia, sensação de calor, insónias, entre outros sintomas (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007).

Adicionalmente, poderão ser consideradas para diagnóstico outras patologias associadas à tiroide, nomeadamente hipertiroidismo e hipotiroidismo de natureza autoimune, ou seja, Doença de Graves e Tiroidite de Hashimoto, respetivamente, e ainda carcinoma da tiroide. Numa situação autoimune, o utente apresenta autoanticorpos, tais como antitireoperoxidase (Anti-TPO), antitireoglobulina (Anti-Tg) e anticorpo anti-recetores de TSH (TRAb), que afetam a própria tiroide (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007). Estes podem ser avaliados de forma qualitativa e quantitativa.

4.4.1.6. Marcadores de Função Pancreática

O pâncreas é um órgão localizado no abdómen, junto do duodeno e tem funções endócrinas e exócrinas, sendo responsável pela secreção de hormonas e enzimas, como a lípase e amílase. Na prática laboratorial, estas últimas são doseadas através de espectrofotometria.

A lípase é uma enzima produzida com o objetivo de hidrolisar ésteres de glicerol na presença dos sais biliares e tem um papel importante na digestão de gorduras provenientes da alimentação em moléculas de menor tamanho, para que sejam facilmente absorvidas no intestino. Embora a enzima também seja produzida na boca e no estômago, é no pâncreas que se observa a sua libertação em maiores quantidades. Por essa razão, a análise da lípase em laboratório permite avaliar a função pancreática. Uma alteração no funcionamento do pâncreas por doenças autoimunes, pancreatites ou tumores gastrointestinais pode levar a um aumento sérico da lípase. A sua presença em grandes concentrações é específica de dano pancreático (Boxhoorn et al., 2020).

A amílase auxilia na digestão de glúcidos provenientes da dieta (quebrando as ligações 1-4 do amido), sendo libertada pelo pâncreas e glândulas salivares. Dada a produção desta enzima ocorrer em dois locais distintos, o seu aumento em circulação pode indicar uma alteração na função do pâncreas e/ou das glândulas salivares. Perante esta situação, a associação da amílase à lípase permite uma interpretação mais precisa dos resultados das análises e um potencial

diagnóstico relativo à função pancreática. De salientar que, em caso de pancreatite aguda, a concentração de amilase aumenta significativamente nas primeiras doze horas (Ismail & Bhayana, 2017).

A hormona mais conhecida produzida pelo pâncreas é a insulina. Esta é responsável por controlar os níveis de glucose no sangue, permitindo a sua entrada nas células. A insulina é produzida pelas células β do pâncreas. O pâncreas é responsável por secretar outras hormonas, tais como o glucagon, secretado pelas células α , a somatostatina, secretada pelas células δ , e o polipéptido pancreático, secretado pelas células PP, anteriormente designadas de células γ (Bharmal et al., 2017). O glucagon apresenta ação contrária à da insulina, pois promove o aumento de glucose no sangue. Como tal, é essencial para reverter situações de hipoglicémia em diabéticos tipo 1 ou em situações de jejum.

4.4.1.7. Proteínas Séricas

A análise às proteínas que se encontram em circulação começa pela análise das proteínas totais, com o objetivo de se adquirir uma visão abrangente do estado do doente, sendo posteriormente analisadas as proteínas específicas.

As proteínas específicas quantificadas no Serviço de Patologia Clínica do HNSA são a PCR e albumina, sendo que as restantes são determinadas pelo Serviço de Patologia Clínica da ULS da Guarda, no HSM.

A PCR é uma proteína de fase aguda e é sintetizada a nível hepático, encontrando-se aumentada em distúrbios inflamatórios, lesão tecidual e situações de stress intenso (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007).

A albumina é a principal proteína de transporte e é encontrada em maior concentração no plasma. Esta proteína é produzida no fígado, pelos hepatócitos, tendo um papel importante na regulação do pH e no equilíbrio osmótico/oncótico (Hankins, 2006). É um marcador de alteração do metabolismo proteico e monitorização de doenças inflamatórias crónicas e renais. A albumina encontra-se aumentada em situações de hipovolémias, como na desidratação, e diminuída em doenças hepáticas, aumento do catabolismo ou baixa absorção.

Adicionalmente, em ambiente laboratorial, é realizada a determinação das restantes proteínas e globulinas α_1 , α_2 , β_1 , β_2 e γ que se encontram em menor concentração em circulação (Favresse et al., 2021). A técnica de eleição para a sua determinação é a eletroforese, que permite separar as proteínas em diferentes frações, de acordo com o seu potencial isoelétrico, tamanho e peso molecular, quando sujeitas a uma corrente elétrica. Para quantificação das mesmas, o HSM utiliza a eletroforese capilar, sendo o resultado apresentado em forma de gráfico, o proteinograma, com os respetivos valores das proteínas (Figura 7).

A análise do proteinograma é de extrema importância, pois uma alteração num dos picos (Figura 8) poderá indicar a origem da patologia, permitindo assim realizar um diagnóstico diferencial. Num proteinograma normal (Figura 7), cada pico equivale a uma fração de proteínas, sendo o pico mais prominente o da albumina, dado ser a proteína que se encontra em circulação em maiores quantidades. O seguinte pico é constituído por várias proteínas denominadas por

α_1 -globulina, que participam no bom funcionamento do sistema imunológico. De seguida estão presentes as α_2 -globulina, importantes no metabolismo do ferro, nomeadamente a haptoglobina e a ceruloplasmina. As β -globulina apresentam dois picos, sendo o primeiro referente à transferrina, proteína responsável pelo transporte do ferro ao longo do organismo. O segundo pico é característico da PCR e da β_2 -microglobulina. A β_2 -microglobulina é um marcador da atividade celular importante indicando patologias linfoproliferativas e mieloproliferativas, inflamação e falha renal. Por último, aparecem as γ -globulinas também designadas de imunoglobulinas, que se apresentam aumentadas em doenças autoimunes, infeções e em casos de inflamação (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007). O aumento deste último pico é muito característico de mieloma múltiplo (Figura 8).

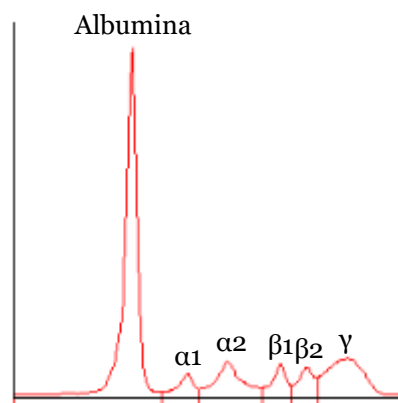


Figura 7: Proteinograma normal

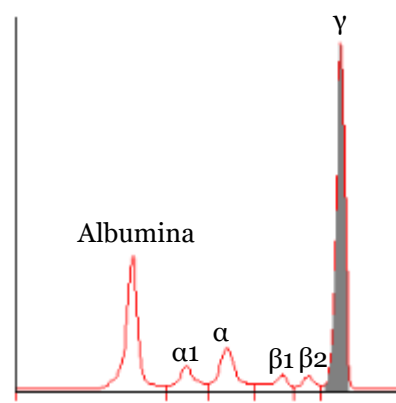


Figura 8: Proteinograma anormal, com um pico acentuado nas γ -globulinas e redução da albumina, característico de Mieloma Múltiplo

4.4.1.8. Outros Parâmetros Analisados

O ferro sérico, o ácido úrico, a glucose e a desidrogenase do lactato (LDH) são outros dos parâmetros analisados no Serviço de Patologia do HNSA.

O ferro sérico é analisado com vista a identificar possível défice ou excesso. O défice deste é a causa mais prevalente de anemias a nível mundial. O ferro é um mineral com grande importância na fixação de O_2 na Hb, possibilitando assim o transporte deste gás até aos tecidos (Elstrott et al., 2020). Além de estar envolvido na síntese de eritrócitos, este também está presente em algumas enzimas, tais como a peroxidase e os citocromos. A deficiência de ferro sérico pode ter diversas causas, como hemorragias, ingestão insuficiente de nutrientes, má absorção intestinal e doenças inflamatórias do intestino, podendo apresentar sintomas como cansaço, falta de apetite, pele pálida e fraqueza. O excesso de ferro sérico pode ter como base uma ingestão rica em ferro ou algumas patologias, nomeadamente a anemia hemolítica, a hemocromatose e a hepatite. Os sintomas variam desde dor abdominal e nas articulações, fraqueza e cansaço.

O ácido úrico é um produto da metabolização da guanina, da hipoxantina e da xantina de origem alimentar que estão presentes na síntese endógena de purinas e no catabolismo dos ácidos

nucleicos (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007). O aumento do ácido úrico está associado a uma anomalia no metabolismo das purinas, observando-se em situações como falência renal, gota, leucemia, diabetes *mellitus*, entre muitas outras. A gota é a patologia mais conhecida associada ao aumento do ácido úrico. Esta consiste numa resposta inflamatória nas articulações, levando à formação de cristais de monourato de sódio, causando dor e calor nas articulações. Os sintomas pioram quando os utentes ingerem alimentos ricos em purinas, como o marisco.

A glucose é o parâmetro utilizado para determinar a concentração de açúcar no sangue, ou seja, a glicémia. Este açúcar é a principal fonte energética do organismo e a sua concentração altera-se após a ingestão de alimentos (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007). A glicémia é comumente utilizada no diagnóstico e monitorização do utente diabético. O aumento de glucose pode manifestar-se através de sintomas como sede, cansaço, poliúria, entre outras. Baixos valores de glucose podem apresentar-se como tremores e sudorese. A patologia mais conhecida associada à variação da glucose é diabetes *mellitus* I e II, insulínica e não-insulínica, respetivamente.

A LDH é uma enzima que se encontra no interior das células e está envolvida no metabolismo da glucose no organismo, nomeadamente na fermentação láctica (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007). Esta enzima tem 5 isoformas, sendo que a LDH-1 e a LDH-2 se encontram presentes no coração, a LDH-3 nos pulmões, a LDH-4 na placenta e no pâncreas e por fim, a LDH-5 presente no fígado e músculo esquelético (Di Cello et al., 2019). A LDH aparenta estar presente em tecidos altamente metabólicos, o seu aumento na circulação sanguínea é evidência de dano a estes órgãos. O aumento da LDH pode ser consequência de enfarte, hepatite, anemia hemolítica, entre outras.

4.4.2. Serologia

A serologia é o estudo analítico do soro. Os testes serológicos avaliam a presença de antígenos ou anticorpos específicos, isto é, se o utente já esteve em contacto com um determinado agente patogénico. Estes testes são efetuados a certos grupos de risco, como grávidas, ou utentes que estiveram em contacto com um portador ou num ambiente de risco.

Um antígeno estimula o sistema imunológico, normalmente com origem exógena, com exceção da autoimunidade, cuja origem é endógena. Os anticorpos são imunoglobulinas (Igs) produzidas pelo sistema imunológico, que defendem o organismo. Estas são específicas de cada antígeno, isto é, um anticorpo só se liga ao antígeno para qual foi produzido (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., 2007).

As Igs são formadas por cadeias peptídicas leves e pesadas, apresentando uma região constante e outra variável, que se altera conforme o antígeno a qual o organismo é exposto. Existem cinco classes de anticorpos, nomeadamente a IgM, IgG, IgA, IgD e IgE. Cada uma destas Igs desempenha uma função diferente (Arnold & Chung, 2018; Wine et al., 2015). A IgM e a IgG encontram-se em maior percentagem no organismo. A IgM é responsável pela resposta primária do organismo aos antígenos e a IgG aparece numa resposta secundária. A IgA é encontrada em

secreções, como a saliva e fluidos nasais e a IgE encontra-se elevada em processos alérgicos (Vattepu et al., 2022). A IgD está menor percentagem, sendo encontrada ao redor dos linfócitos B.

Os principais anticorpos analisados na serologia são as IgM e IgG. Dependendo nos níveis destas imunoglobulinas é possível tirar diversas interpretações, por exemplo:

IgM e IgG negativas – o utente nunca esteve em contacto com o antígeno da doença em estudo;

IgM positiva e IgG negativa – a infeção está no estágio inicial da doença em estudo;

IgM negativa e IgG positiva – a infeção é antiga, não contagiosa ou recebeu uma vacina que levou à produção de anticorpos;

IgM e IgG positivas – a infeção está num estadio avançado.

Os anticorpos mais pesquisados nesta área correspondem a doenças, tais como, toxoplasmose, infeção por citomegalovírus, infeção por Epstein-Barr, sífilis, hepatites virais e HIV.

4.4.3. Gasimetrias

A gasimetria é um exame que avalia o pH, a concentração de bicarbonatos, entre outros parâmetros. Este exame é realizado em sangue arterial e venoso, sendo este último menos frequente.

O pH está correlacionado com a concentração de bicarbonato e com a pressão parcial de gás carbónico, através da equação de *Henderson-Hasselbach*.

Equação 2: Equação de Henderson-Hasselbach

$$pH = pK_a + \log \frac{[HCO_3^-]}{0,03 \times pCO_2}$$

Através desta equação, o aparelho efetua os cálculos para determinar o pH. Tendo isto como base, é possível identificar a presença de desequilíbrios ácido-base, conhecidos por alcalose e acidose. Estes desequilíbrios podem ter diferentes origens, sendo metabólica ou respiratória, dependendo se a alteração está no HCO_3^- ou no pCO_2 , respetivamente (Gomez & Kellum, 2015).

O equipamento utilizado foi idealizado para os serviços de urgência e internamentos, onde os resultados necessitam de ser rápidos, a partir de um volume reduzido de amostra, para que se determine o diagnóstico rapidamente. A colheita da amostra é feita com recurso a uma seringa com heparina no seu interior, de modo a manter a fluidez da amostra.

A gasimetria apresenta resultados para 17 parâmetros, em apenas 35 segundos, a partir de $65\mu L$. Os parâmetros analisados são os gases presentes no sangue, eletrólitos, Hb, alguns metabolitos e co-oximetria. O controlo de qualidade é automático, através de soluções próprias integradas no analisador, permitindo uma verificação contínua durante a sua utilização.

Os resultados são impressos e transmitidos para o sistema das análises, para que possam ser visualizados *à posteriori*.

4.5. Atividades desenvolvidas no setor da Microbiologia

4.5.1. Hemoculturas

O estudo de hemoculturas no HNSA é efetuado através da utilização do *BD Bactec FX 40*[®]. Este sistema foi concebido para uma rápida deteção de microrganismos, como bactérias e fungos em fluidos corporais, tais como sangue e líquido ascítico (Menchinelli et al., 2019). O sangue é um produto biológico estéril, pelo que o isolamento de um microrganismo a partir de uma hemocultura significa que este é geralmente o agente etiológico da infeção. O sucesso da hemocultura depende do volume de sangue processado e da hora da colheita, pois o sangue deverá ser colhido antes do pico febril, durante a ascensão da temperatura corporal, quando o número de bactérias viáveis no sangue é maior.

As amostras são colhidas diretamente para frascos de cultura BACTEC, contendo no seu interior um meio enriquecido, ideal para promover o crescimento de microrganismos.

Na eventualidade de existirem microrganismos na amostra, estes irão metabolizar os nutrientes presentes no meio, libertando assim CO₂. Um corante presente no sensor reage com o CO₂, causando uma variação na absorção da luz pelo material fluorescente do sensor. Os fotodetectores medem a fluorescência, que é proporcional à concentração de CO₂ no frasco.

Para ser considerada uma hemocultura negativa, a amostra segue um ciclo de incubação no *Bactec FX 40*[®], a 35°C por um período de 5 dias ou 120h (Ulrich et al., 2022). Caso se suspeite de micobactérias, o período de incubação estende-se a 42 dias.

Assim que uma hemocultura fica positiva, esta é retirada do aparelho, semeada e incubada em meios enriquecidos, como Gelose de Sangue e Gelose de Chocolate. Em simultâneo, é realizado a coloração de gram de uma pequena gota, para observação ao microscópio, com o objetivo de direcionar a identificação do microrganismo.

4.5.2. Estudo de Amostras do Trato Respiratório

As amostras do trato respiratório inferior são frequentemente utilizadas para o auxílio do diagnóstico de infeções nesta estrutura, causadas por diversas bactérias (Tabela 4). Estas podem ser expetorações, secreções brônquicas, aspirados traqueais/traqueais-brônquicos e lavados bronco-alveolares. A amostra do trato respiratório inferior mais é analisada no SPC do HNSA é a expetoração. Esta pode ser adquirida por expulsão induzida pelo utente ou por expiração com auxílio médico.

Tabela 4: Bactérias que podem provocar infecções do trato respiratório inferior

Bactérias que Podem Provocar Infecções do Trato Respiratório Inferior

<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Bordetella pertussis</i>

Uma vez que a expetoração tem origem no trato respiratório inferior, a sua expulsão pode arrastar células epiteliais do trato superior. Sendo a colheita difícil, é muito frequente a contaminação pela flora comensal da orofaringe (Figura 9). De acordo com *Cumulative Techniques and Procedures Clinical Microbiology (CUMITECH)* e a Tabela de *Murray e Washington* (Tabela 5), amostras com 25 ou mais células epiteliais por campo são consideradas contaminadas e, como tal o seu estudo é inviável. Apenas amostra de boa qualidade devem ser processadas (Figura 10).

Tabela 5: Tabela de Murray e Washington

	Células epiteliais (ampliação 10x)	Leucócitos (ampliação 10x)
Grupo 1	25	10
Grupo 2	25	10-25
Grupo 3	25	25
Grupo 4	10-25	25
Grupo 5	<10	25

Para atestar a qualidade da amostra uma fração de expetoração é espalhado numa lâmina, fixado com metanol e corado pela coloração de *Leishman*. Após a visualização da lâmina ao microscópio, se esta não apresentar contaminação, o estudo da expetoração prossegue.

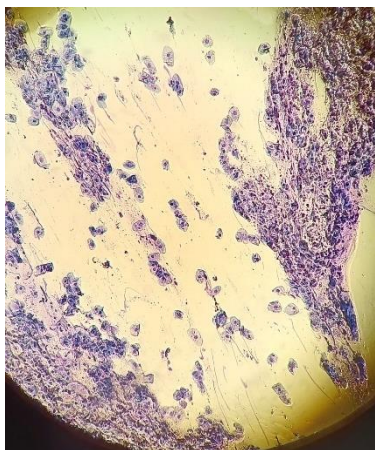


Figura 9: Amostra de expetoração contaminada por flora da orofaringe

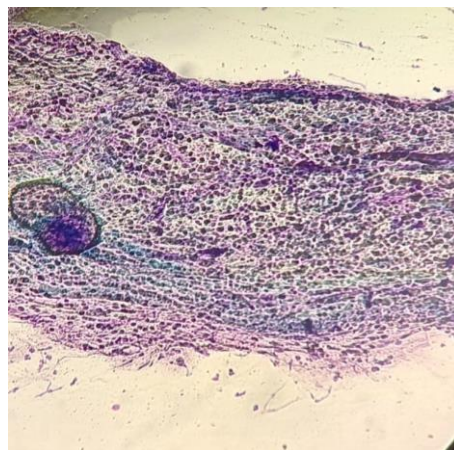


Figura 10: Amostra de expetoração de boa qualidade

Após atestar a qualidade da amostra, o técnico do laboratório atua conforme o procedimento em vigor. Este inicia-se com a liquefação da amostra com a adição de ditiotreitól, comumente designado de mucosol. O ditiotreitól é um agente mucolítico redutor utilizado para homogeneizar amostras de expetoração. Em seguida, deve-se repousar a amostra homogeneizada durante 15 minutos, levar ao vórtex e centrifugar durante 15 minutos a 3000 g. O sobrenadante é rejeitado posteriormente, retirando-se 100 μ L do *pellet* para um tubo de água peptonada, perfazendo um volume de 9 mL. A água peptonada é um meio de enriquecimento primário, não seletivo de crescimento bacteriano.

De forma a executar o exame citobacteriano, o sedimento é homogeneizado com uma pipeta de *Pasteur* é feito um esfregaço com uma gota, que é corado pela coloração de gram.

Para efetuar o exame cultural, retira-se 10 μ L da amostra diluída em água peptonada e semeia-se quantitativamente em gelose de sangue e chocolate. Estes meios são utilizados para microrganismos exigentes e não exigentes nutricionalmente. Na gelose de sangue é possível a observação da expressão de hemólise. A gelose de chocolate contém na sua constituição hemina e fator V, que possibilita o crescimento de estirpe exigentes como *Haemophilus influenza*. Os meios devem ser incubados a 36 \pm 1 $^{\circ}$ C entre 18 e 24 horas.

A semi-quantificação é realizada através da observação ao microscópio, após coloração de gram (Figura 11), contabilizando o número de microrganismos são observados por campo.

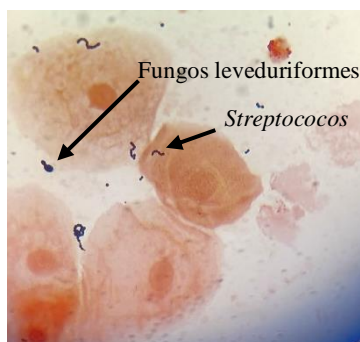


Figura 11: Observação do gram de uma expetoração, com *Streptococos* e fungos leveduriformes

Apenas crescimento igual ou superior a 100 colónias por meio (Figura 12) é valorizado, procedendo-se à identificação e o antibiograma. Após a incubação, observam-se os meios, para a identificação de colónias suspeitas de provocar infeção. Devido à possibilidade de existir flora contaminante presente, deve-se valorizar colónias presentes em função das bactérias predominantes e das bactérias visualizadas no gram.



Figura 12: Gelose de sangue com crescimento superior a 100 colónias

4.5.3. Uroculturas

O exame cultural de urina, também conhecido com urocultura, é efetuado para despiste de infeções do trato urinário. A causa mais prevalente para este tipo de infeção são as Enterobactérias, nomeadamente a *Escherichia coli*. A infeção urinária é das mais frequentes no ser humano e é geralmente causada por bactérias da flora intestinal saprófita, que colonizam o sistema urinário, através da uretra.

De modo a prevenir possíveis contaminações, a urina deve chegar ao laboratório no interior de um recipiente estéril e fechado, devendo ser trabalhada rapidamente ou refrigerada, até que seja possível proceder à sua análise. Pelo facto de bactérias potencialmente patogénicas colonizarem a uretra, recomenda-se descartar a primeira porção da micção e recolher o jato intermédio da micção.

O procedimento começa com a homogeneização da amostra e com a ajuda de uma ansa retira-se 10 μ L da amostra e semeia-se em meio de Cistina, Lactose, Défice em Eletrólitos (CLED). Este meio, por conter lactose, permite a distinção de microrganismos fermentadores dos não fermentadores, através da cor que adquire (amarelo ou azul, respetivamente). A mudança de cor é possível devido à presença de Azul de Bromotimol, um indicador de pH que em meio ácido muda para amarelo. Por este meio ter défice de eletrólitos, a mobilidade/*swarming* de alguns microrganismos, como por exemplo de *Proteus*, é limitada. Posteriormente, o CLED é colocado a incubar a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, entre 18 e 24 horas. De seguida, realiza-se também o exame direto, sendo que para tal se transfere 10 mL de urina para um tubo cónico e centrifuga-se durante 5 minutos a 1500 rpm. De seguida, o sobrenadante é rejeitado e é retirada uma gota do *pellet* para uma lâmina, a qual é corada por coloração de gram, para posterior observação ao microscópio.

A semi-quantificação é feita através da observação do gram, ao microscópio, contando o número de microrganismos observados por campo. Caso exista crescimento de três ou mais espécies de microrganismos, esta cultura é classificada como polimicrobiana e recomenda-se a repetição da colheita assética. Numa cultura com um número de colónias superior a 100, é feita a identificação e o antibiograma.

No decorrer do estágio observaram-se uroculturas positivas, tendo-se observado bactérias como cocos gram positivos (Figura 13), bacilos gram negativos (Figura 14) e bacilos gram positivos (Figura 15).

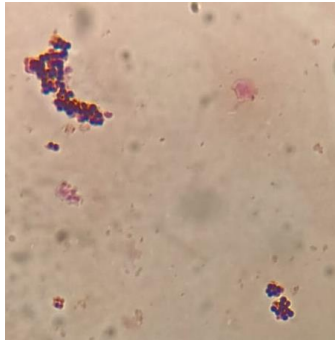


Figura 13: Observação do gram de uma urocultura, na presença de cocos gram positivos

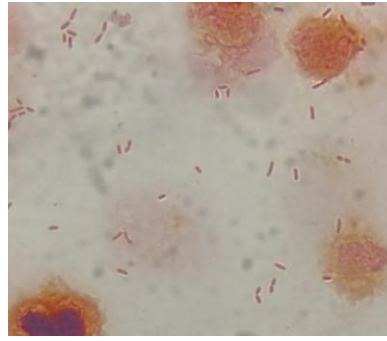


Figura 14: Observação do gram de uma urocultura, na presença de bacilos gram negativos

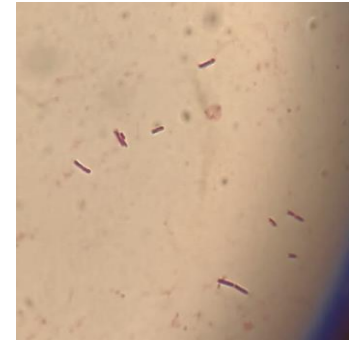


Figura 15: Observação do gram de uma urocultura, na presença de bacilos gram positivos

4.5.4. Exames Parasitológicos

O estudo dos parasitas caracteriza-se pela avaliação de organismos causadores de doença no seu hospedeiro, sendo que os parasitas mais conhecidos são os que causam infeções no trato gastrointestinal, destacando-se as lombrigas (*Ascaris lumbricoides*) e as ténias (*Taenia solium*).

Na identificação do parasita recorre-se a uma adaptação do método de *Richie*. Este método, criado em 1948, recorria ao uso de químicos potencialmente perigosos, como o éter etílico e o formaldeído. Para evitar o seu uso, o método evoluiu para a utilização de lugol ou iodo, de modo a facilitar a visualização de parasitas ao microscópio, utilizando um kit comercial próprio para a preservação de fezes até 2 anos.

Quando se suspeita da presença de parasitas intestinais, deve-se recorrer a três amostras de fezes. Estas chegam no interior de um recipiente estéril para amostras biológicas e são tratadas no interior de uma câmara de segurança biológica, de acordo com as recomendações do fornecedor do kit.

O kit comercial tem incorporado uma colher, para retirar uma pequena amostra de fezes para o seu meio de transporte. De seguida, o recipiente do kit é agitado até que a amostra esteja homogeneizada. Posteriormente, a amostra é filtrada com recurso a um funil de filtração, para um tubo cónico, que se destina a ser centrifugado durante 10 minutos, a 170 rpm. O sobrenadante é descartado e o *pellet* é refrigerado até ser analisado sob o microscópio.

Aquando da visualização da amostra ao microscópio, o *pellet* é ressuspendido, e com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. É transferida uma gota da amostra para uma lâmina, à qual se adiciona uma gota de lugol, e procede-se à visualização na objetiva de menor ampliação.

No decorrer do estágio, observaram-se exames parasitológicos contendo ovo/cistos com morfologia sugestiva de *Ascaris lumbricoides* (Figura 16), de *Giardia* (Figura 17) e de *Hymenolepis nana* (Figura 18).

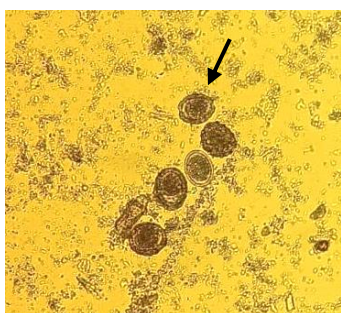


Figura 16: Observação de fezes com ovos com morfologia sugestiva de *Ascaris lumbricoides*

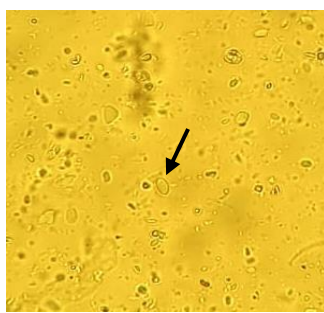


Figura 17: Observação de fezes com cisto com morfologia sugestiva de *Giardia*

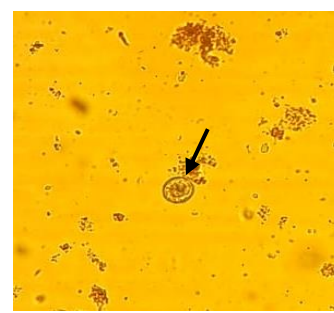


Figura 18: Observação de fezes com ovo com morfologia sugestiva de *Hymenolepis nana*

4.5.5. Testes Rápidos

4.5.5.1. Streptococos A

Streptococos são bactérias que se agrupam em colônias e se dispõem em fila, permitindo a sua identificação ao microscópio. Quando sujeitos à coloração de gram, coram de roxo e designando-se gram positivos (Brouwer et al., 2023).

Streptococos A ou *Streptococcus pyogenes* são responsáveis por causar patologias nos humanos, sendo a mais comum a amigdalite bacteriana em crianças e adolescentes (Brouwer et al., 2023). Este teste é importante no diagnóstico de faringite estreptocócica aguda e em outras infeções piogénicas. A presença desta bactéria pode causar sintomas como febre, gastralgia, vermelhidão e aumento das amígdalas.

O teste efetuado no HNSA (Figura 19) é um imunoenensaio qualitativo de fluxo lateral que se baseia na deteção do antígeno do *Streptococos A*, através de uma raspagem com zaragatoa da garganta humana.

Caso a amostra apresente antígenos *Streptococos A*, estes ligam-se aos anticorpos anti-streptococos A presentes na banda de teste. Este conjugado gera então uma banda colorida (banda vermelha na zona de teste) na presença de banda azul no controlo interno. O teste é positivo, indicando que o utente tem *Streptococos A*.

O procedimento inicia-se com 5 gotas do diluente A, adicionando-se 5 gotas do diluente B, colocando-se por fim, a zaragatoa usada para efetuar a raspagem da garganta nesta mistura de diluentes. Após uma boa homogeneização, transferem-se 3 gotas para o poço de amostra e passados 10 minutos, lê-se o resultado na janela de corrida do teste.



Figura 19: Teste rápido Streptococcus A negativo

4.5.5.2. *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae é a principal causa de pneumonia adquirida e uma das principais causas de mortalidade no mundo, maioritariamente crianças com idade inferior a 5 anos e pessoas com mais de 60 anos (S. Yang et al., 2024). Estão descritos mais de 80 serotipos de *S. pneumoniae*, podendo resultar em perfis clínicos variáveis (Mascia Brunelli S.p.A., 2020). Quando observado ao microscópio, este apresenta-se em diplococos.

O teste utilizado para a sua deteção é um imunoensaio qualitativo de fluxo lateral, realizado em amostras de urina humana. O teste apresenta duas bandas, uma de teste e outra de controlo. A banda de teste contém anticorpos monoclonais *S. pneumoniae* conjugados com partículas coloridas. Na banda controlo, estão presentes outros anticorpos monoclonais. Quando a amostra de urina migra ao longo do teste, os antígenos presentes nesta ligam-se aos anticorpos do teste, apresentando bandas coloridas. O resultado do teste é positivo para *S. pneumoniae* caso se observem duas bandas de coloração vermelha e negativo caso apenas se observe uma banda na zona do controlo (Figura 20) e na presença de qualquer outra combinação de bandas, o teste é inválido e deverá ser repetido.



Figura 20: Teste de *S. Pneumoniae* negativo

4.5.5.3. *Legionella pneumophila*

A legionelose ou doença do legionário é um tipo de pneumonia grave causada pela bactéria *Legionella*. Embora sejam conhecidos 60 serogrupos, 80% das infeções são causadas pelo serogrupo 1. A *Legionella* é uma bactéria gram negativa, que apresenta flagelos nos seus polos. Esta é comumente encontrada em meios aquáticos, tais como torres de arrefecimento e sistemas de águas potáveis (Y. Yang et al., 2023). É uma bactéria resistente a diversas condições incluindo a temperatura. O período de incubação da *Legionella* é de 2 a 10 dias. Os sintomas associados à doença dos legionários são febre, tosse, dor muscular, dor no peito e dificuldade a respirar. De salientar que esta doença não é contagiosa, pois transmite-se por aerossóis.

O teste de deteção é um imunoensaio qualitativo de fluxo lateral, realizado em amostras de urina humana, que utiliza partículas de ouro coloidal que permitem a deteção de *Legionella pneumophila*. À semelhança dos testes anteriormente referidos, este contém anticorpos

monoclonais, alguns dos quais se encontram conjugados com as partículas de ouro coloidal. Na banda controlo existe um anticorpo controlo e na banda de teste estão presentes anticorpos anti-legionela. Quando a urina migra ao longo da tira de teste, os antigénios nesta presente ligam-se, formando conjugados coloridos que aparecem em forma de banda. Considera-se um resultado positivo, na presença de duas bandas de coloração vermelha. Caso o teste apresente apenas uma banda na zona do controlo, o seu resultado é considerado negativo (Figura 21). Qualquer outra combinação de bandas revela que o teste se encontra inválido, devendo ser repetido.



Figura 21: Teste de *Legionella pneumophila* negativo

4.5.5.4. *Clostridium difficile*

Clostridium difficile é uma bactéria causadora de diarreias, predominantemente em hospitais ou casas de repouso, podendo levar a complicações como megacólon tóxico, isto é, uma dilatação do cólon, associada a toxicidade sistémica. Existem diversas estirpes desta bactéria, todas produtoras de glutamato desidrogenase. No entanto, algumas produzem, adicionalmente, toxinas A e B, estando associadas à apresentação de sintomas (Ziaei Chamgordani et al., 2024). Quando *C. difficile* não é produtor de toxinas A e B, diz-se não patogénico.

O teste efetuado no laboratório de patologia clínica do HNSA (Figura 22) é um ensaio que avalia a presença de glutamato desidrogenase, atestando a presença da bactéria. Este consiste num imunoensaio enzimático efetuado em amostras de fezes, de acordo com as recomendações do fabricante.



Figura 22: Teste rápido para *C. difficile* negativo

4.5.5.5. *Giardia e Cryptosporidium*

Giardia e *Cryptosporidium* são parasitas comumente encontrados na água, sendo responsáveis por doenças intestinais. Dado serem parasitas de pequenas dimensões, a sua observação ao microscópio é difícil, pelo que se efetua um teste rápido antes da visualização de fezes ao microscópio, de modo a indicar a sua presença ou ausência na amostra.

Giardia é um protozoário que se aloja na porção superior do intestino delgado do hospedeiro infetado. Este parasita apresenta dois estados, o de trofozoíto e o de cisto, sendo este último responsável pela produção do antigénio. Após a ingestão dos cistos pelo hospedeiro, estes passam a trofozoítos no duodeno e fixam-se na mucosa intestinal, onde se replicam. Os sintomas mais comuns da *Giardia* são diarreia e cólicas (Ryan et al., 2021). Após infeção, o parasita vive no intestino e é eliminado nas fezes.

Cryptosporidium parvum é uma das principais causas de diarreia persistente em países menos desenvolvidos. Este parasita entérico é altamente infeccioso, sendo transmitido pela via fecal-oral. Os sintomas mais comuns da infeção por *C. parvum* são diarreia, cólicas, náuseas e febre (Dumaine et al., 2020).

O teste CERTEST *Crypto+Giardia* (Figura 23) baseia-se num ensaio imunocromatográfico qualitativo, que permite a determinação do antigénio dos dois parasitas em amostras de fezes. A tira A, referente ao *Cryptosporidium*, consiste numa membrana com anticorpos monoclonais de rato contra *Cryptosporidium* na banda de teste e com anticorpos policlonais de coelho contra uma proteína específica na banda do controlo. A tira B, referente à *Giardia*, baseia-se no mesmo conceito, contudo na banda de teste os anticorpos são anti-*Giardia*. Aquando da migração da solução com a amostra de fezes ao longo da membrana, os antigénios presentes ligam-se, formando conjugados coloridos que aparecem em forma de banda. O teste considera-se positivo na presença de uma banda de coloração vermelha e de outra com coloração verde. Caso o teste apresente apenas uma banda verde na zona do controlo, o teste estará negativo, sendo que qualquer outra combinação de bandas sugere que o teste se encontra inválido, pelo que deverá ser repetido.



Figura 23: Teste de *Crypto+Giardia* com *C. parvum* positivo e *Giardia* negativa

4.5.5.6. Rotavírus e Adenovírus

O rotavírus e adenovírus causam frequentemente gastroenterites graves em bebés e crianças, podendo ser observadas também em adultos. A transmissão é feita pela via fecal-oral e os sintomas mais comuns são a diarreia e os vómitos e por vezes febre, cefaleias e dor abdominal (Dian et al., 2021; Shieh, 2022).

O teste CERTEST *Rotavirus+Adenovirus* consiste num ensaio imunocromatográfico qualitativo para a determinação de antígeno dos dois vírus em amostras de fezes. A tira A, referente ao rotavírus, consiste numa membrana com anticorpos monoclonais de rato contra rotavírus na banda de teste e com anticorpos policlonais de coelho contra uma proteína específica na banda do controlo. A tira B, referente ao adenovírus, baseia-se no conceito anterior, contudo na banda de teste apresenta anticorpos anti-adenovírus.

Quando a solução com a amostra de fezes migra ao longo da membrana, os antígenos nesta presente ligam-se, formando conjugados coloridos que aparecem em forma de banda. Na presença de uma banda de coloração vermelha e outra verde, o teste está positivo. Se o teste apresentar apenas uma banda verde na zona do controlo, o teste está negativo (Figura 24), sendo que qualquer outra combinação de bandas sugere que o teste se encontra inválido, pelo que deverá ser repetido.



Figura 24: Teste Rota+Adeno com rotavírus negativo e adenovírus negativo

4.5.5.7. Sangue Oculto nas Fezes

O teste de sangue oculto nas fezes é um ensaio imunocromatográfico, que deteta a Hb humana nas fezes. Este tem como princípio auxiliar no diagnóstico de distúrbios gastrointestinais, como cancro colorretal e adenomas que provoquem sangramento (Li & Yuan, 2019). O cancro colorretal é um dos mais diagnosticados e a sua deteção em estadios precoces reduz a mortalidade a este associado (Lee et al., 2020).

O teste é constituído por uma membrana revestida com anticorpos anti-Hb humana na banda de teste e anticorpos anti-rato de cabra na banda do controlo. No final da membrana, encontra-se um filtro com partículas de ouro com anticorpos anti-Hb humana. Na presença de Hb humana na

amostra, o conjugado de ouro e a amostra movem-se ao longo da membrana, e quando em contacto com a banda de teste, complexam, formando uma banda vermelha visível (Figura 25). Para validação do teste, deverá também aparecer uma banda vermelha na zona do controlo (Figura 26).



Figura 25: Teste de sangue oculto nas fezes positivo



Figura 26: Teste de sangue oculto nas fezes negativo

4.5.5.8. Teste de Gravidez

A gonadotrofina coriónica humana (hCG) é uma hormona produzida pela placenta, quando em desenvolvimento, após fertilização. Os níveis de hCG aumentam exponencialmente 7 a 10 dias após a conceção, sendo assim possível detetar a presença desta hormona (Ryniec & Esfandiari, 2021).

O teste rápido de gravidez hCG consiste num imunoensaio cromatográfico, que permite a deteção qualitativa da hCG na urina. A linha de teste utiliza uma combinação de anticorpos monoclonais hCG e a linha de controlo contém anticorpos policlonais de cabra. A amostra de urina migra através da membrana e ao reagir, forma bandas com coloração vermelha. Considera-se um resultado positivo o aparecimento de duas bandas vermelhas (Figura 27). Se o teste apresentar apenas uma banda na zona do controlo, está negativo, sendo que qualquer outra combinação de bandas sugere um teste inválido, pelo que deverá ser repetido.



Figura 27: Teste rápido de gravidez positivo

4.5.6. Teste Respiratório para a Deteção de *Helicobacter pylori*

A *Helicobacter pylori* é uma bactéria que infeta o estômago, podendo provocar a sua inflamação. Em alguns casos, a inflamação causada pela *H. pylori* pode resultar em gastrites, úlceras ou cancro do estômago (Peretz et al., 2013). Apesar do baixo pH característico do estômago, a bactéria possui a capacidade de secretar urease, que degrada a ureia em meio amónio e bicarbonato, permitindo alcalinizar o meio (De Brito et al., 2019).

A transmissão inter-humana é puramente oral. Os utentes portadores da bactéria apresentam uma reação inflamatória da mucosa que persiste enquanto a bactéria estiver presente, eventualmente toda a vida. Em alguns casos, a gastrite crónica do portador pode evoluir para doença ulcerosa ou até para cancro (Peretz et al., 2013).

O teste de deteção da *H. pylori* baseia-se no facto que esta é capaz de degradar ureia, pelo que é utilizada uma cápsula com ureia (^{14}C), marcada radioativamente, sendo o ar expirado posteriormente analisado. Para a realização do teste, é necessária a suspensão da toma de antibióticos, um mês antes, e evitar a toma de protetores gástricos, pelo menos uma semana antes de ingerir a cápsula. Após a ingestão da cápsula, em jejum, o utente expira para o interior de um dispositivo próprio, posteriormente analisado no serviço de patologia clínica do HSM.

4.6. Atividades desenvolvidas na Unidade de Medicina Transfusional

4.6.1. Teste de Coombs Direto e Indireto

O teste de *Coombs* (Figura 28), também designado por teste direto ou indireto de antiglobulinas, é efetuado num cartão de gel com 6 pocetos, contendo anti-IgG de coelho e anti-C3d (anticorpo monoclonal contra o fator do complemento C3d). O teste de *Coombs* direto é um método utilizado para testar a presença de anticorpos ou complementos ligados aos eritrócitos, com recurso a anti-globulina humana, com capacidade de aglutinação (Parker & Tormey, 2017). O teste de *Coombs* indireto destina-se a averiguar a presença de anticorpos circulantes no plasma do utente (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013).



Figura 28: Cartão gel onde se efetua o Teste de Coombs com o penúltimo poceto com reação positiva

Este teste é efetuado aquando da preparação de uma transfusão, sendo que apenas se procede à transfusão caso o teste de *Coombs* seja negativo. Adicionalmente, este teste é prescrito a grávidas, de forma a detetar a presença de autoanticorpos em circulação, que impossibilitem a continuação da gravidez.

4.6.2. Grupagem e Fenotipagem Sanguínea

A tipagem sanguínea é principalmente efetuada, segundo o sistema ABO, que se baseia nos antígenos que as hemácias apresentam na sua superfície (Figura 29).

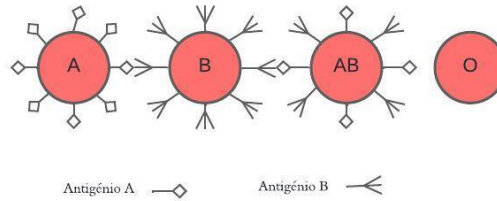


Figura 29: Ilustração dos grupos sanguíneos de acordo com sistema ABO com antígenos de superfície. Adaptado de Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013

O sistema caracteriza-se pela presença ou ausência de dois antígenos (A e B). Isto faz com que o sangue aglutine na presença dos respetivos anticorpos Anti-B e Anti-A, criando-se uma incompatibilidade na partilha sanguínea. Deste modo, é essencial efetuar a tipagem sanguínea, antes a uma transfusão de sangue.

Os grupos sanguíneos no sistema ABO, são (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013):

- Grupo A - hemácias com antígeno A, na sua superfície e anticorpo anti-B no plasma;
- Grupo B - hemácias com antígeno B, na sua superfície e anticorpo anti-A no plasma;
- Grupo AB - hemácias com antígenos A e B, na sua superfície e sem anticorpos anti-A ou anti-B no plasma;
- Grupo O - hemácias sem antígenos A ou B, na sua superfície e anticorpos anti-A e anti-B no plasma.

De salientar que o grupo AB é o recetor universal, isto é, pode receber transfusões de todos os outros grupos, uma vez que não apresenta anticorpos anti-A ou anti-B. O grupo O é conhecido por ser o dador universal, uma vez que não apresenta antígenos na superfície dos eritrócitos.

Para além dos antígenos A e B, existe também o antígeno D que, dependendo da sua presença ou ausência, gera um genótipo Rh positivo ou negativo (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013). Indivíduos Rh positivos podem receber sangue Rh positivo ou negativo, no entanto o contrário não é possível.

A grupagem é efetuada em cartões de gel, semelhantes ao cartão de Coombs, equipado com um perfil de teste completo para tipagem direta de ABO e RhD positivo. Seguida de uma prova reversa, recorre-se a células comerciais do grupo A e B, conjugadas com o plasma do utente, observando-se posteriormente quais os anticorpos presentes. Para um melhor conhecimento do sangue, recorre-se à fenotipagem, isto é, o estudo que identifica características expressas no sangue. Após identificação do grupo ABO e do fator Rh, existem diversos antígenos que poderão ser relevantes numa transfusão sanguínea. Com o intuito de minimizar reações adversas, é necessário a identificação de antígenos como E, e, C, c e *Kell*, entre outros (Araujo et al., 2021). A pesquisa destes antígenos é feita num cartão gel, com anticorpos em cada poceto. Na presença de antígenos no sangue, estes reagem com os anticorpos do cartão e aglutinam, impossibilitando

a sua sedimentação, quando centrifugados considerando-se um resultado positivo. Caso ocorra sedimentação das células sanguíneas no cartão, significa que a reação não ocorreu, concluindo-se que o utente não possui o antigénio.

Caso o utente tenha sido transfundido múltiplas vezes, o risco de incompatibilidade transfusional aumenta, pelo que é necessário recorrer a uma pesquisa de um maior número de antigénios, utilizando outros sistemas como *Duffy*, *Kidd*, *Lewis*, entre outros (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013).

4.6.3. Provas de Compatibilidade

As provas de compatibilidade consistem nos testes efetuados antes de uma transfusão e têm como objetivo garantir que o recetor da transfusão não rejeita a unidade transfundida ou apresenta reações adversas. Para tal, é efetuada a grupagem sanguínea, o teste de *Coombs* direto e indireto e o teste *Crossmatch* (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013).

Neste contexto, a grupagem sanguínea com fenótipo é utilizada para identificar o grupo sanguíneo do utente, bem como a unidade sanguínea mais indicada para estudo, disponível no banco de sangue. O teste de *Coombs* destina-se a atestar a segurança de uma transfusão, pois caso o utente apresente autoanticorpos, a transfusão não poderá prosseguir.

Após a identificação do grupo sanguíneo, de atestar a ausência de autoanticorpos e da escolha da unidade de sangue, com grupo e fenótipo idênticos, efetua-se o *Crossmatch*. De salientar que, na ausência de uma unidade de sangue compatível a nível de grupo e fenótipo, deverá optar-se por uma unidade de O Rh-.

O *Crossmatch* tem como objetivo a deteção de anticorpos que possam causar aglutinação sanguínea. Este procedimento baseia-se na junção de hemácias do dador e do soro do recetor (Hoffbrand A.V. & Moss P.A.H., 2013). Embora sejam do mesmo grupo poderão apresentar anticorpos que não são detetados nas provas realizadas anteriormente, provocando aglutinação sanguínea. Desta forma, ao realizar o *Crossmatch* garante-se que existe compatibilidade sanguínea. Adicionalmente, o recetor é monitorizado ao longo de toda a transfusão, para garantir a estabilidade do mesmo.

Capítulo 2 – Avaliação do Défice de Vitamina D e das Patologias Associadas nos Utentes do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Nossa Senhora da Assunção de Seia

1. Introdução

O presente capítulo é refere-se ao estudo clínico inserido no relatório de estágio realizado no Serviço de Patologia Clínica do HNSA. De acordo com a Lei n.º 21/2014, de 16 de abril, um estudo clínico, pode ser qualquer estudo sistemático, conduzido no ser humano ou a partir de dados de saúde individuais, destinado a descobrir ou a verificar a distribuição ou efeito de fatores de saúde, de estados ou resultados em saúde, de processos de saúde através de aspetos biológicos, entre outros aspetos (Diário da República, 2014).

O presente estudo visa identificar as patologias associadas aos utentes deste serviço que apresentem um défice de vitamina D, no período de 2022 e 2023. Este estudo pretende contribuir para um maior entendimento sobre quais as patologias que poderão estar associadas à presença de hipovitaminose D, com vista a melhorar a vigilância do estado de saúde dos utentes do HNSA.

O défice de vitamina D, afeta milhões de pessoas de todas as idades, em todo o mundo. Estudos indicam que cerca de 66% dos adultos portugueses são afetados por esta hipovitaminose (Duarte et al., 2020). A deficiência de vitamina D é definida pelo défice do metabolito 25-hidroxivitamina D (calcidiol), que compreende a concentração total de 25-hidroxivitamina D2 e 25-hidroxivitamina D3, inferior a 20 ng/mL. Caso os valores de 25-hidroxivitamina D se encontrem entre 21 e 29 ng/mL, designa-se por insuficiência de vitamina D, sendo valores superiores classificados como suficientes para manter a saúde do aparelho músculo-esquelético (Holick, 2017).

A vitamina D refere-se a um grupo de compostos lipossolúveis que desempenham um importante papel na homeostase do cálcio e no metabolismo ósseo. Existem duas formas principais desta hormona, a vitamina D2 (ergocalciferol) e D3 (colecalfiferol). A vitamina D2 resulta da irradiação ultravioleta do ergosterol, um esteroide que se encontra na membrana de alguns fungos e invertebrados, como é o caso de alguns cogumelos. A vitamina D3 é sintetizada através da irradiação ultravioleta de um precursor do colesterol, presente na pele humana e em alguns animais, como o salmão. Uma vez que a sua síntese é induzida pelo sol, esta é influenciada por fatores externos, nomeadamente pela estação do ano, hora do dia, latitude, altitude, poluição aérea, pigmentação da pele, uso de protetor solar e envelhecimento (Alves et al., 2013).

Atualmente, em Portugal, existem no mercado diversos medicamentos sujeitos a receita médica (Figura 30) e suplementos alimentares utilizados em caso de hipovitaminose D. Os suplementos podem conter a vitamina D2 ou D3, uma vez que ambas aumentam os níveis de 25-hidroxivitamina D (Alves et al., 2013). Adicionalmente, existem diversos alimentos ricos em

vitamina D que poderão ser incluídos na dieta, nomeadamente a sardinha, o atum, a cavala, a gema de ovo e os cogumelos *shitake* (Chang & Lee, 2019).



Figura 30: Exemplo de um do medicamento sujeito a receita médica de colecalciferol, comercializado em Portugal

Em ambiente clínico-laboratorial os métodos utilizados para a quantificação do calcidiol presente no organismo são ensaios de quimioluminescência. Estes determinam a concentração de calcidiol total, independentemente da origem e da ligação à proteína de ligação da vitamina D (DBP), não sendo possível diferenciar entre vitamina D₂ e D₃. De salientar que, em crianças e alguns adultos, poderá encontrar-se em circulação sanguínea um epímero de vitamina D, denominado 3-epi-25-hidroxitamina D, sendo que a sua função biológica ainda é desconhecida. Este epímero poderá falsear a quantificação de vitamina D, traduzindo-se num aumento dos seus valores. Este epímero pode ser quantificado através de *High Performance Liquid Chromatography* e Espectrometria de Massa (Engelman et al., 2014).

Devido às limitações dos métodos utilizados para a quantificação de vitamina D, têm sido realizados diversos estudos, com o objetivo de aumentar a fiabilidade dos resultados, comparando métodos e equipamentos com descritos em Adamec et al. (2011) e Freeman et al. (2014).

O défice grave de vitamina D poderá originar diversas patologias, nomeadamente o raquitismo e osteomalacia.

O raquitismo é uma patologia que afeta os ossos das crianças, presente no défice de vitamina D ou de Ca²⁺, característico de uma estrutura esguia e pernas arqueadas. Segundo Miller e Imel, (2022) o raquitismo apresentava uma variação sazonal, tendo o seu pico no final do mês de março, após as crianças permanecerem no interior dos seus lares nos meses de inverno (Miller & Imel, 2022). No entanto, esta patologia é praticamente inexistente em países desenvolvidos, uma vez que as atuais diretivas sugerem a suplementação de vitamina D, em idade pediátrica (Demay et al., 2024).

A osteomalacia é uma patologia resultante da mineralização óssea inadequada, nomeadamente de uma diminuição de minerais como o cálcio. A deficiência de vitamina D tem provado ser a principal causa de mineralização alterada levando à absorção anormal de

minerais (Cianferotti, 2022). De salientar que, atualmente, estas patologias são raras nos países desenvolvidos.

Além dos seus efeitos na homeostase de Ca^{2+} e do osso, a vitamina D afeta potencialmente outras funções regulatórias celulares, existindo estudos que estabelecem correlações entre a hipovitaminose D e diversas patologias (Alves et al., 2013).

De acordo com Herrmann e Obeid (2011), foram realizados estudos em ratos com *knockout* do recetor de vitamina D, isto é, sem expressão do recetor da vitamina D (RVD), demonstrando maior sensibilidade destes a doenças autoimunes, como doenças inflamatórias intestinais ou diabetes *mellitus* tipo 1. Já os ratos com deficiência de RVD apresentaram sinais de hipertensão, diabetes *mellitus*, problemas cardíacos, propensão para cancro, dificuldades motoras, ansiedade, entre outros (Figura 31).

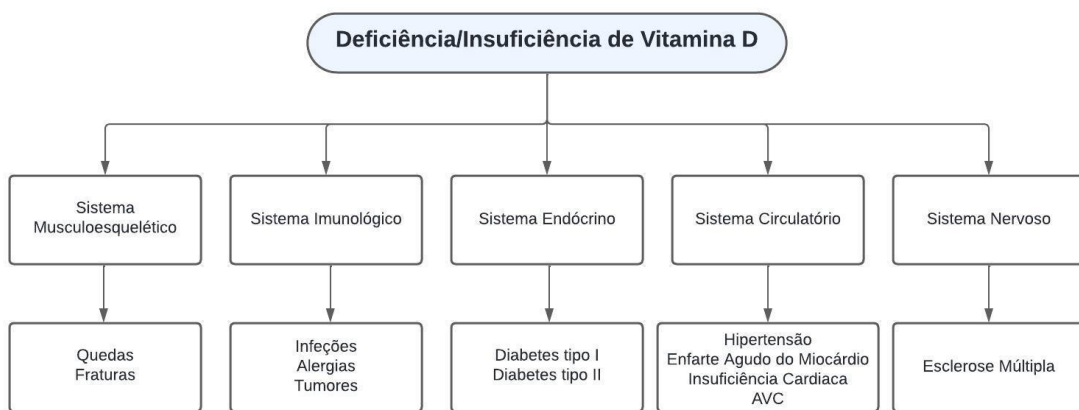


Figura 31: Associação de deficiência/insuficiência de vitamina D a doenças crônicas. Adaptado de Herrmann and Obeid, 2011

Nos últimos anos, foram realizados diversos estudos em humanos com o intuito de analisar o efeito em algumas patologias na presença de hipovitaminose D, quando expostos à toma de suplementação de vitamina D.

De acordo com Scragg et al. (2017) e Manson et al. (2019), a suplementação de vitamina D não previne doenças cardiovasculares. Neste estudo foi analisado o impacto da suplementação de vitamina D, em elevadas doses mensais, na saúde cardiovascular, no entanto os resultados obtidos foram pouco significativos (Scragg et al., 2017). Adicionalmente, Manson et al. (2019) avaliaram a suplementação de vitamina D na prevenção de cancro, todavia não se verificou a redução na incidência de cancro invasivo (Manson et al., 2019).

Num estudo realizado por Martineau et al. (2019), avaliou-se o papel da suplementação de vitamina D na prevenção de infeções respiratórias agudas, tendo concluído que é segura e protege o utente contra infeções respiratórias agudas (Martineau et al., 2019).

2. Caracterização da Vitamina D

A vitamina D abrange um grupo de substâncias lipossolúveis de diversas origens, com estruturas químicas e efeitos biológicos semelhantes, destacando-se a vitamina D2 (Figura 32) e a vitamina D3 (Figura 33) (Janoušek et al., 2022).

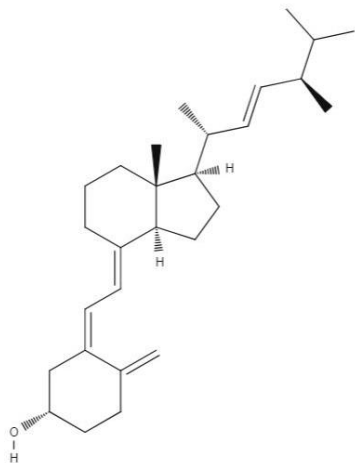


Figura 32: Vitamina D2

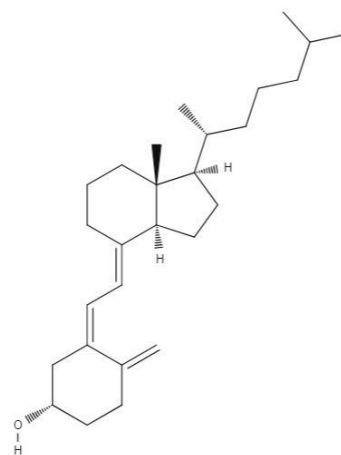


Figura 33: Vitamina D3

2.1. Metabolismo

A aquisição da vitamina D pode ser por ingestão de alimentos ricos em vitamina D, por suplementação ou por síntese através da pele quando exposta a radiação ultravioleta B (UVB), entre 290 a 315 nm (Alves et al., 2013). Cerca de 90% da reposição da vitamina D é adquirida pela via de síntese (Chang & Lee, 2019).

A síntese de colesterciferol (Figura 34), inicia-se com o precursor 7-dihidrocolesterol, existente na epiderme humana, que após radiação UVB se converte a pré-vitamina D3, que posteriormente isomeriza para vitamina D3 (Holick, 2017). Após a formação de D3, esta é convertida a 25-hidroxivitamina D, no fígado pelo citocromo P450 2R1 (CYP2R1), passando para os rins através da corrente sanguínea, onde é convertida a 1,25-dihidroxivitamina D (calcitriol) pelo CYP27B1, sendo esta a sua forma ativa (Janoušek et al., 2022).

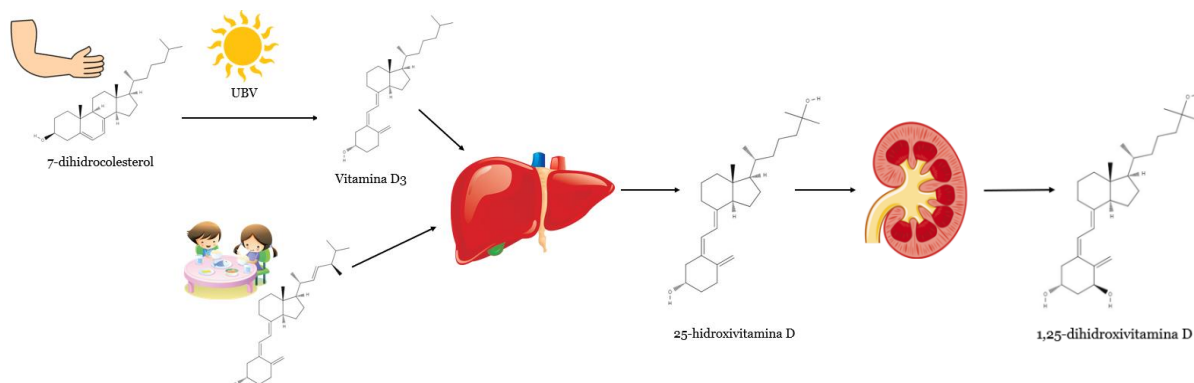


Figura 34: Síntese e metabolismo da vitamina D. Adaptado de Janoušek et al., 2022

O calcitriol apresenta alta afinidade de ligação aos RVD, que permitem um aumento da absorção intestinal de Ca^{2+} e fósforo. Quando o calcitriol se encontra em circulação, ocorre inibição dos níveis séricos de PTH, através de feedback negativo, levando a um aumento dos níveis de Ca^{2+} no soro, por aumento de absorção intestinal (Alshahrani & Aljohani, 2013). Adicionalmente, o calcitriol regula o metabolismo ósseo com a ativação de RVD presentes nos osteoblastos.

2.2. Regulação

A regulação da vitamina D no organismo é efetuada por feedback negativo. O controlo da sua concentração é efetuado através da PTH, do fator de crescimento de fibroblasto 23 (FGF23), do Ca^{2+} , e do calcitriol. A PTH estimula o CYP27B1, enquanto inibe o CYP24A1, aumentando assim os níveis de calcitriol (Bosworth & De Boer, 2013). Porém, o FGF23 tem a ação oposta à PTH, inibindo o CYP27B1 e estimulando a 24-hidroxilase, responsável pelo catabolismo da vitamina D ativa (Quarles, 2012). A sua excreção é feita através na sua forma inativa, ácido calcitrocico.

A inativação do calcitriol ocorre por 24-hidroxilação pelo CYP24A1, presente na maioria das células, no entanto este fenómeno ocorre na presença de altas concentrações plasmáticas de calcitriol.

O metabolito resultante da inativação do calcitriol é posteriormente metabolizado no fígado e nos rins resultando em ácido calcitrocico, excretado através da biliar (Figura 35). Este é o metabolito com menor atividade biológica da vitamina D (Janoušek et al., 2022).

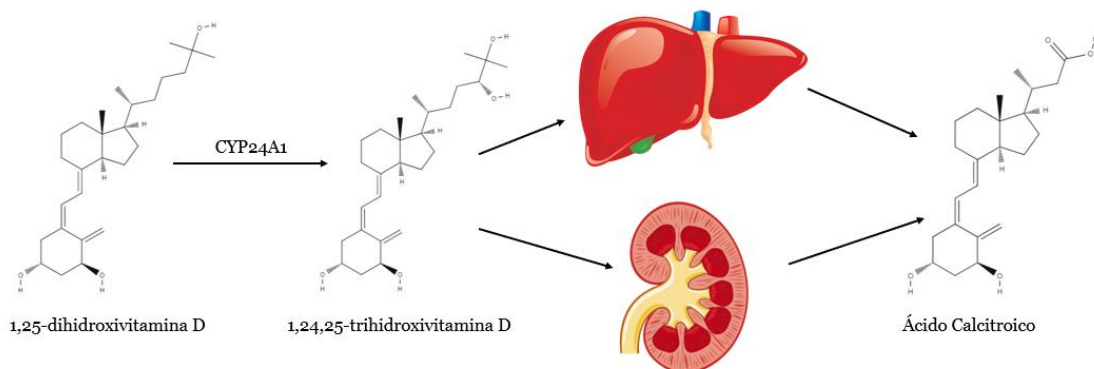


Figura 35: Formação do ácido calcitrocico. Adaptado de Janoušek et al., 2022

2.3. Doseamento

O doseamento de vitamina D no organismo é efetuado através da análise de 25-hidroxicitrocico, no soro ou plasma (Holick, 2017). Este metabolito, designado por calcidiol, compreende a 25-hidroxicitrocico D2 e 25-hidroxicitrocico D3, quantificando a vitamina D proveniente de exposição solar, bem como por ingestão. Os métodos de eleição para efetuar esta análise são os imunoenaios de quimioluminescência.

Como os métodos de doseamento clínico-laboratoriais são incapazes de fazer a distinção de D2 e D3, a diferenciação e quantificação é possível por *High Performance Liquid Chromatography* e por Espectrometria de Massa, realizados apenas em laboratórios destinados à investigação (Norma DGS N.º 004/2019).

2.4. Fatores Condicionantes

A vitamina D considera-se uma vitamina única, no sentido de ser possível a sua síntese através da exposição solar. Esta síntese pode ser influenciada por diversos fatores como a pigmentação da pele, o uso de protetores solares, o vestuário, a fraca exposição solar, a estação do ano, a idade, entre outros.

Acredita-se que a radiação UVB que atinge a superfície terrestre é mínima, uma vez que grande parte é absorvida pela camada de ozono. Como referido anteriormente a radiação UVB é essencial para a síntese de vitamina D3, pelo que a produção desta é reduzida antes das nove horas e após as quinze horas.

A pigmentação da pele é um fator relevante, sendo que a população de pele negra, apresenta níveis de vitamina D muito inferior ao da população de pele mais clara (Alves et al., 2013). Para a síntese da mesma quantidade de vitamina D, um indivíduo com pele fototipo VI requer uma exposição solar 5 a 10 vezes maior do que um indivíduo com fototipo II, de acordo com a Escala de *Fitzpatrick* (Figura 36) (Holick, 2017).



Figura 36: Classificação dos diferentes tipos de pele pela Escala de Fitzpatrick

Existem outros fatores que condicionam os valores de vitamina D no organismo, entre os quais a obesidade, a dieta e doenças que causem má absorção intestinal, doenças hepáticas com menor produção de DBP ou gravidez em que a DBP se apresenta aumentada. De salientar que na obesidade, os níveis de vitamina D apresentam-se inferiores, pois os metabolitos desta depositam-se no tecido adiposo (Pludowski et al., 2024).

2.5. Toxicidade

A intoxicação por vitamina D é extremamente rara, sendo impossível um indivíduo adquirir níveis tóxicos de vitamina D por exposição solar (Holick, 2017). Assim, a intoxicação por vitamina D resulta de uma ingestão excessiva, resultando numa hipervitaminose D (Jones, 2008).

Acredita-se que níveis de 25-hidroxivitamina D na ordem dos 100 ng/mL são excessivos e que valores superiores a 150 ng/mL são classificados como intoxicação (Alshahrani & Aljohani, 2013).

Até ao momento, as evidências de toxicidade por vitamina D em humanos são escassas, no entanto quando descrita, ocorreu através de fontes alimentares contaminadas. De acordo com Jones (2008), concentrações muito elevadas de calcidiol resultam num aumento de Ca^{2+} na corrente sanguínea (Jones, 2008). Adicionalmente, diversas evidências indicam que anteriormente à hipercalcemia, ocorre hipercalciúria, isto é aumento de Ca^{2+} presente na urina (Claudio Gonçalves de Castro, 2011).

A intoxicação por vitamina D pode provocar sintomas tais como desordens gastrointestinais, dor óssea, tonturas, fraqueza, arritmia, perda de apetite, entre outros.

3. Objetivos

Este estudo tem como objetivo avaliar o défice de vitamina D e as patologias associadas nos utentes do Serviço de Patologia Clínica do HNSA, num período compreendido entre 2022 e 2023. Adicionalmente, pretende-se contribuir para um maior entendimento sobre quais as patologias que poderão estar associadas ao défice de vitamina D, de modo a melhorar a capacidade de vigilância do estado de saúde dos utentes nos cuidados de saúde primários do HNSA.

4. Materiais e Métodos

4.1. População em Estudo

Para o presente estudo, definiu-se uma amostra populacional constituída por 2262 indivíduos, do sexo masculino e feminino, com idades compreendidas entre o 1 e os 99 anos. Destes, 93 são menores de idade e 1509 pessoas com idade igual ou superior a 60 anos.

Tendo em conta que o HNSA presta cuidados aos utentes do concelho de Seia e concelhos envolventes, tais como Gouveia, Oliveira do Hospital, Arganil, Nelas, Manteigas e Mangualde, a maioria da população em estudo deverá pertencer a estes concelhos. No entanto é de notar que o HNSA contém uma unidade de paliativos e convalescença, que usufruem dos serviços do SPC, nas quais as pessoas que permanecem, nestas unidades poderão pertencer a qualquer distrito de Portugal.

A amostra em estudo foi constituída por todos utentes do SPC do HNSA com hipovitaminose D. De referir que se excluíram as análises repetidas, uma vez que estas poderão ser realizadas no seguimento de um tratamento, como a toma de medicamentos ou suplementos alimentares, convertendo assim em resultados pouco fidedignos.

4.2. Recolha de Dados

Os dados relativos aos utentes e à análise da vitamina D, tais como idade, sexo, nível de vitamina D, mês em que efetuou a análise e serviço onde a análise foi prescrita foram retirados do sistema informático *Modulab*[®], compreendendo o período de janeiro de 2022 a dezembro de 2023. As patologias associadas aos utentes foram retiradas do programa *SClínico*[®]. A recolha de informação foi feita sob anonimato, para garantir a segurança e privacidade dos utentes.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde da ULS da Guarda, reunida a 17 de maio de 2024 e posteriormente aceite pelo Concelho de Administração da ULS da Guarda, segundo a ata nº 22/2024, datada de 29 de maio de 2024. Dado o estudo ser retrospectivo e uma vez que se provou que a amostra de dados é de grandes dimensões, foi solicitada a escusa de consentimento informado do utente, o qual foi também aprovada. De modo a realizar um estudo ético, teve-se em consideração os quatros princípios da bioética, nomeadamente a beneficência, a não-maleficência, a justiça e a autonomia.

4.3. Quantificação de Vitamina D

Para quantificação de vitamina D, recorreu-se a soro dos utentes, através de métodos de imunoenaios de quimioluminescência. Caso a análise do soro não fosse realizada no dia da recolha, procedia-se ao seu congelamento em alíquotas a -20°C.

De acordo com Norma nº 004/2019 da Direção Geral de Saúde, os níveis de vitamina D devem ser determinados em situações, tais como pessoas com mais de 65 anos que vivam em unidades de internamento de cuidados continuados de longa duração e manutenção, com exposição solar limitada, pessoas que anteriormente tenham apresentado fatores de risco para deficiência de

vitamina D (má absorção intestinal, insuficiência renal e exposição solar limitada), ou com historial de deficiência de vitamina D prévia, entre outras situações.

Os níveis de vitamina D podem ser descritos como “Deficiência”, “Insuficiência” e “Suficiência”. Quando os valores de calcidiol são inferiores a 20 ng/mL é classificada como deficiência. Os valores compreendidos entre 21 e 29 ng/mL são classificados como insuficientes. Por fim, valores superiores a 30 ng/mL são designados suficientes para manter a saúde óssea, não demonstrando evidências de doença (Norma DGS N.º 004/2019).

4.4. Imunoensaio Quimioluminescência

Os níveis de vitamina D das amostras processadas no HNSA foram quantificados, com recurso ao ensaio *Alinity i 25-OH Vitamin D* da *Abbott*[®]. Este ensaio consiste num imunoensaio de micropartículas, por quimioluminescência, destinado à análise de soro ou plasma humano e analisa a 25-hidroxivitamina D, metabolito encontrado em maiores concentrações na corrente sanguínea, com um tempo de semi-vida de 2 a 3 semanas.

O *Alinity i* dispõe de um kit comercial, que contém micropartículas revestidas por anticorpos monoclonais de coelho anti-vitamina D em tampão MES (ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico, um conjugado de vitamina D marcada com acridina em tampão MES e surfactante, e ainda um diluente composto por tampão citrato com EDTA, metanol, ácido 8-anilino-1-naftaleno sulfónico e surfactante.

Para que o teste tenha o melhor desempenho, não devem ser analisadas amostras demasiado hemolisadas, com contaminação fúngica ou bacteriana, ou ainda que apresentem fibrina ou outras partículas em suspensão.

O ensaio *Alinity i 25-OH Vitamin D* apresenta um intervalo de medição entre 3,5 e 154,2 ng/mL. Este método apresenta algumas limitações, podendo originar resultados falsamente elevados, caso o utente seja tratado com anticorpos monoclonais de coelho. Adicionalmente, na presença de fatores reumatóides presentes no soro humano, estes poderão reagir com as imunoglobulinas do reagente.

4.5. Análise Estatística

Os dados foram informatizados e tratados através do *Microsoft Office Excel* e *GraphPad Prism 10*.

5. Resultados

No elevado número de amostras analisadas e processadas no SPC do HNSA é de notar que a determinação da vitamina D nos anos de 2022 e 2023 correspondeu apenas a 0,63% e 0,68%, respetivamente, de todas as análises bioquímicas efetuadas neste laboratório.

5.1. Caracterização da População

A amostra definida é constituída por 2262 indivíduos. A distribuição da população em estudo foi realizada de acordo com a idade, definindo-se quatro grupos etários, nomeadamente igual ou inferior a 18 anos, 19 a 40 anos, 41 a 59 anos e por último, igual ou superior a 60 anos (Gráfico 1). Da população em estudo, os indivíduos com idade igual ou inferior a 18 anos correspondem a 4,11% da população, 6,11% corresponde ao grupo etário compreendido entre os 19 e os 40 anos, 23,71% corresponde ao grupo etário compreendido entre os 41 e os 50 anos e por último, 66,71% da população em estudo corresponde à população com idade igual ou superior a 60 anos.

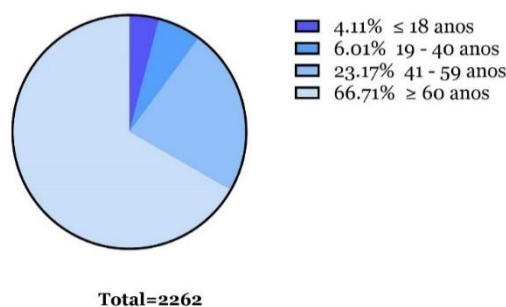


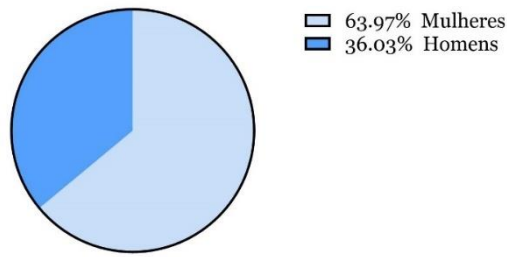
Gráfico 1: Distribuição da população em estudo por grupo etário

Na Tabela 6, são apresentados o número de indivíduos e respetiva percentagem de cada grupo etário da população em estudo.

Tabela 6: Número de indivíduos e respetiva percentagem de cada grupo etário da população em estudo

Grupo Etário	Número de Indivíduos	Percentagem (%)
≤ 18 anos	93	4,11
19 – 40 anos	136	6,01
41 – 59 anos	524	23,71
≥ 60 anos	1509	66,71

Adicionalmente, a distribuição da população em estudo foi realizada de acordo com o género, sendo que 1447 indivíduos pertencem ao sexo feminino e 815 pertencem ao sexo masculino, correspondendo a 63,97% e 36,03% respetivamente (Gráfico 2).



Total=2262

Gráfico 2: Distribuição da população em estudo por género

Complementarmente, no Gráfico 3 são apresentados o número de prescrições realizadas, por serviços hospitalares.

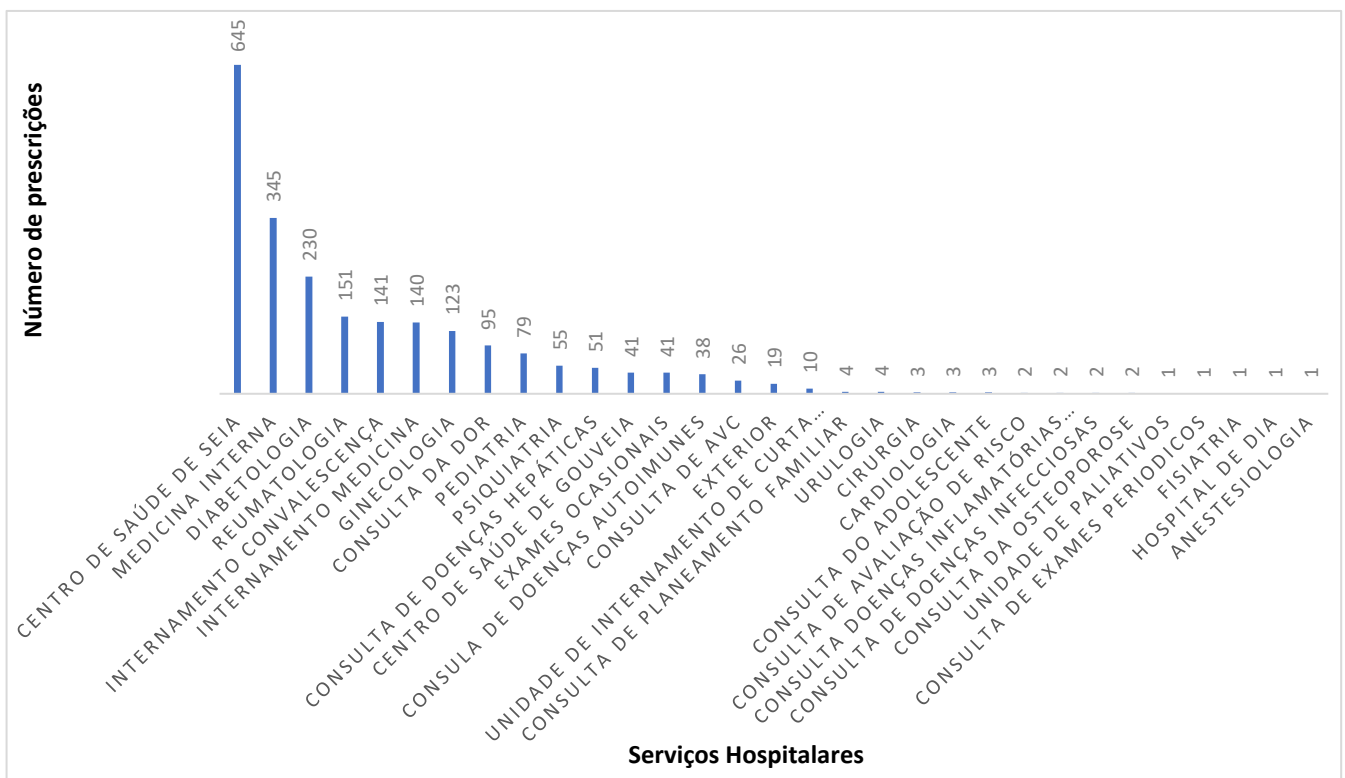


Gráfico 3: Serviços requisitantes da análise quantitativa da vitamina D

Da análise do Gráfico 3, observa-se que a prescrição de análises para quantificação de vitamina D foi realizada em 31 serviços, tendo o Centro de Saúde de Seia sido o serviço que prescreveu mais análises, contabilizando 645 prescrições, correspondendo a 28,51% do total das prescrições. A Unidade de Paliativos, a Consulta de Exames Periódicos, a Fisiatria, o Hospital de Dia e a Anestesiologia prescreveram o menor número de análises, com um total de uma prescrição cada, correspondendo a 0,04%.

5.2. Caracterização dos Níveis de Vitamina D

Os níveis de vitamina D da população em estudo foram coletados, com o intuito de analisar a situação geral da população. Os dados obtidos permitiram identificar diversas situações de deficiência, potencial deficiência ou valores considerados suficientes, sendo que 50,49% da população em estudo apresenta deficiência em vitamina D, 31,61% apresenta valores insuficientes e 17,90% apresenta valores considerados suficientes (Gráfico 4).

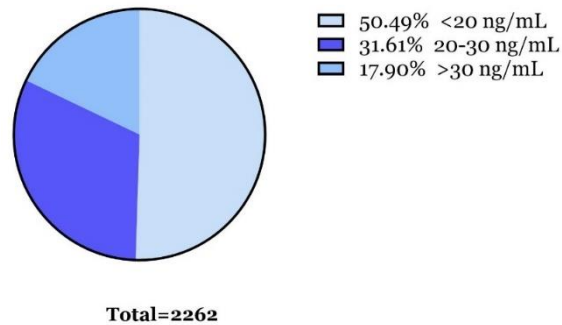


Gráfico 4: Distribuição dos níveis de vitamina D na população em estudo

Adicionalmente, elaborou-se um histograma para melhor visualização da distribuição dos níveis de vitamina D na população em estudo (Gráfico 5). Após a análise dos dados obtidos, o valor médio de vitamina D populacional é de 21,39 ng/mL, a mediana é 19 ng/mL, com um desvio padrão de 12,77.

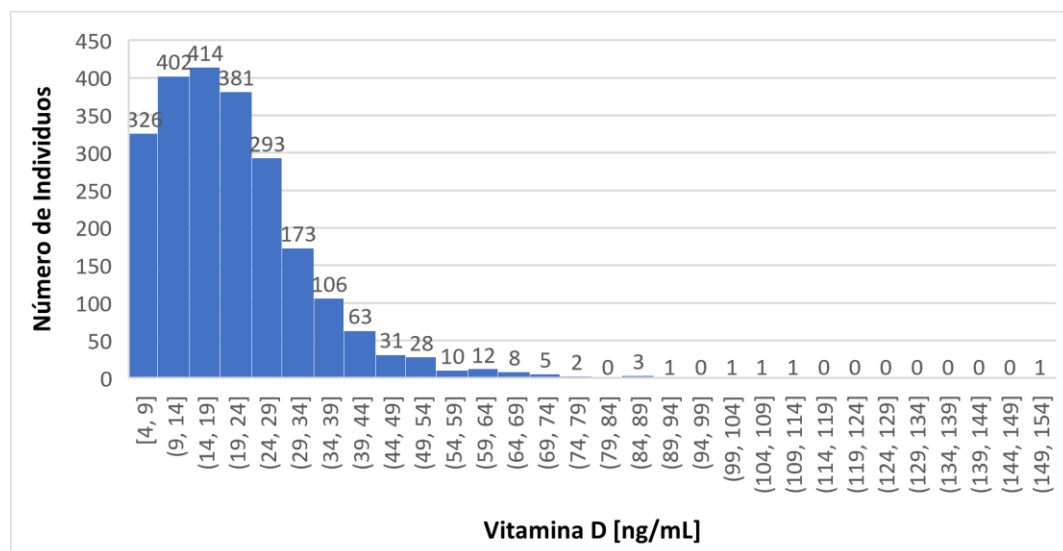


Gráfico 5: Distribuição dos níveis de vitamina D populacional

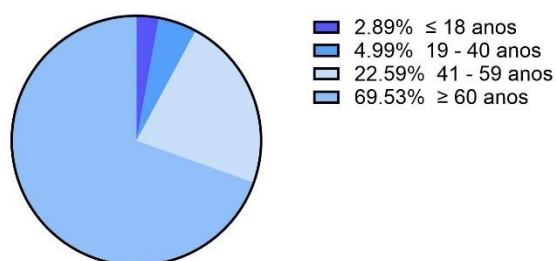
Pela análise do Gráfico 5, observa-se que se quantificaram valores de vitamina D compreendidos entre 4 e 154 ng/mL. Dos 2262 indivíduos analisados, 39 apresentaram valores de 25-hidroxivitamina D na ordem de 4 ng/mL e apenas um apresentou uma concentração tóxica de vitamina D, nomeadamente 154 ng/mL.

Adicionalmente, constata-se que, da população em estudo, 715 indivíduos apresentavam deficiência em vitamina D e 405 não apresentavam hipovitaminose D, correspondendo a 31,61% e 17,90%, respetivamente. De salientar que 50,49% da população em estudo, ou seja, 1142 indivíduos, apresenta défices de vitamina D, contabilizando-se valores de 25-hidroxivitamina D inferior a 20 ng/mL. Assim sendo, 82,10% da amostra populacional apresenta hipovitaminose D.

5.3. Caracterização da População com Défice de Vitamina D

Da população em estudo, 1142 indivíduos, ou seja 50,49%, apresentam deficiência em vitamina D. À semelhança da população total em estudo, procedeu-se à caracterização e análise da população com défice de vitamina D, de acordo com os seguintes parâmetros: distribuição por grupos etários, por género e por serviços hospitalares onde se prescreveu a análise.

Segundo a distribuição da população em estudo por grupos etários (Gráfico 6), constatou-se que a população com idade igual ou inferior a 18 anos corresponde apenas a 2,89%, 4,99% corresponde a indivíduos com idade compreendida entre 19 e 40 anos, 22,59% corresponde ao grupo compreendido entre os 41 e os 59 anos e por último, 69,53% da população em estudo corresponde aos indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos.



Total=1142

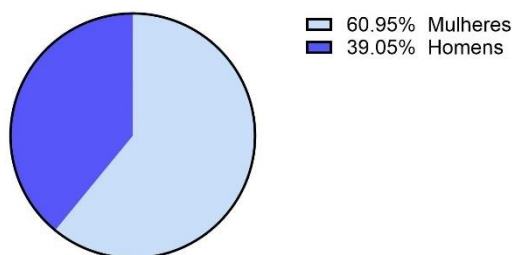
Gráfico 6: Distribuição por grupo etário da população com défice de vitamina D

Na Tabela 7, são apresentados o número de indivíduos e respetiva percentagem de cada grupo etário da população em estudo.

Tabela 7: Número de indivíduos e respetiva percentagem de cada grupo etário da população com défice de vitamina D

Grupo Etário	Número de Indivíduos	Percentagem (%)
≤ 18 anos	33	2,89
19 – 40 anos	57	4,99
41 – 59 anos	258	22,59
≥ 60 anos	794	69,54

Adicionalmente, realizou-se a distribuição da população em estudo por género (Gráfico 7), sendo que dos 1142 indivíduos, 696 são do sexo feminino e 446 do sexo masculino, correspondendo a 60,95% e 39,05% respetivamente.



Total=1142

Gráfico 7: Distribuição por género da população com défice de vitamina D

No Gráfico 8, estão representados os serviços hospitalares onde a análise para quantificação da vitamina D foi prescrita, bem como o número de prescrições efetuadas. Dos 27 serviços prescritores de análises, o Centro de Saúde de Seia foi o serviço que contabilizou maior número de prescrições (310 prescrições), seguido pela Medicina Interna, com 153 prescrições e em terceiro o Internamento Convalescença, localizado no interior do HSNA, com 115 prescrições.

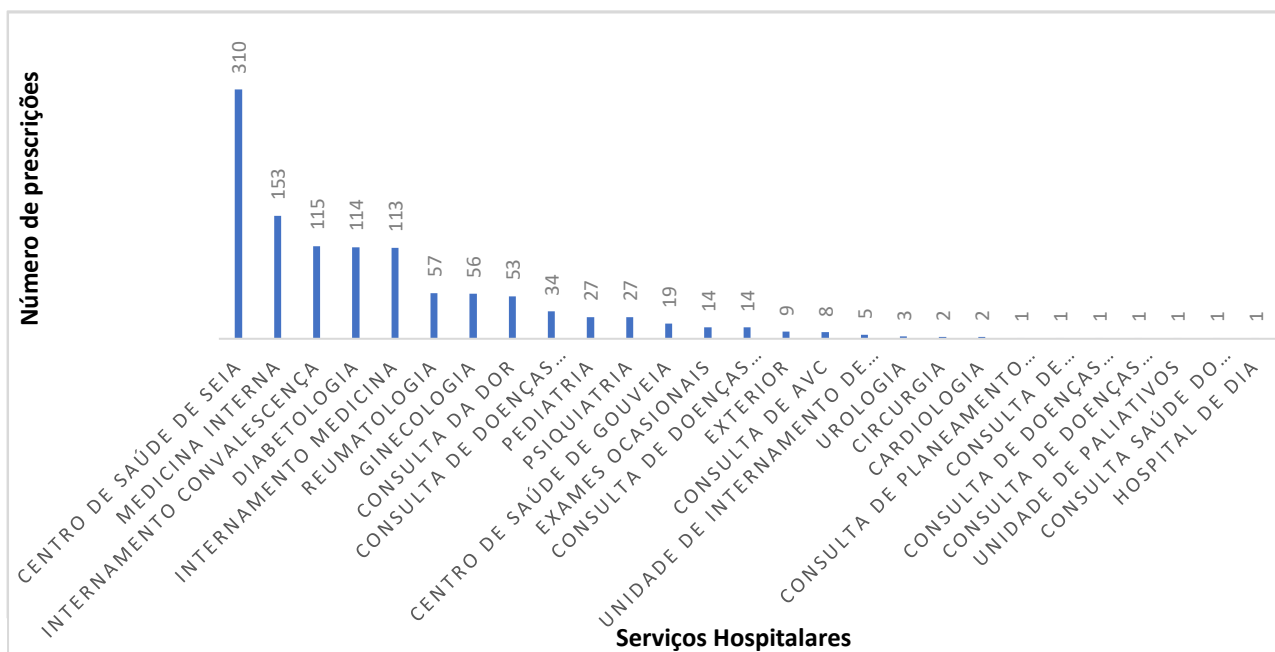


Gráfico 8: Serviços requisitantes da análise quantitativa da vitamina D da população com défice de vitamina D

Adicionalmente, analisou-se o número de utentes com deficiência de vitamina D, obtidos em cada mês, no período compreendido entre janeiro de 2022 e dezembro de 2023. Como se pode observar pelo Gráfico 9, o défice de vitamina D é maior nos meses de inverno do que nos meses de maior exposição solar, como o verão, reforçando a importância da exposição solar para a

aquisição desta vitamina. O mês que apresenta maior número de hipovitaminose D é março de 2022, com 101 determinações de vitamina D resultante em déficit. O mês que apresentou menos hipovitaminose D, com apenas 22 determinações deficientes em vitamina D, foi dezembro desse mesmo ano e agosto de 2023.

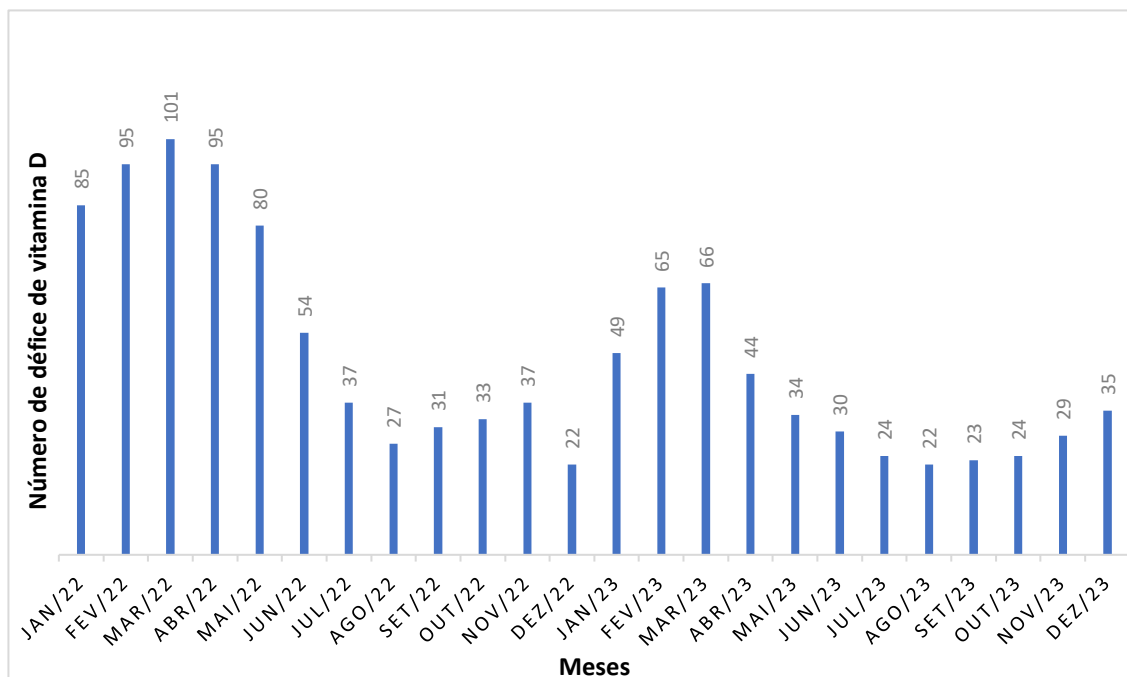


Gráfico 9: Número de determinação de vitamina D resultantes em déficit de janeiro de 2022 a dezembro de 2023

5.4. Análise dos Níveis de Vitamina D e Patologias Associadas

De todos os indivíduos que apresentam deficiência de vitamina D, observou-se um total de 31 patologias. De notar que 323 participantes que apresentaram déficit de vitamina D, não apresentaram qualquer diagnóstico ou patologia, correspondendo a 28,28% da população com deficiência de vitamina D. Da população em estudo, 251 indivíduos apresentaram mais do que uma patologia, ou seja, comorbilidades como diabetes *mellitus* tipo II, hipertensão arterial, doenças cardíacas e doença renal.

A patologia que mais se destacou foi a hipertensão arterial, estando presente em 10,51% da população com déficit de vitamina D, seguido de artrose, com 6,13%, de diabetes *mellitus* tipo II com 5,52%, e de doenças oncológicas com 4,99%, seguido das demais patologias identificadas no Gráfico 10.

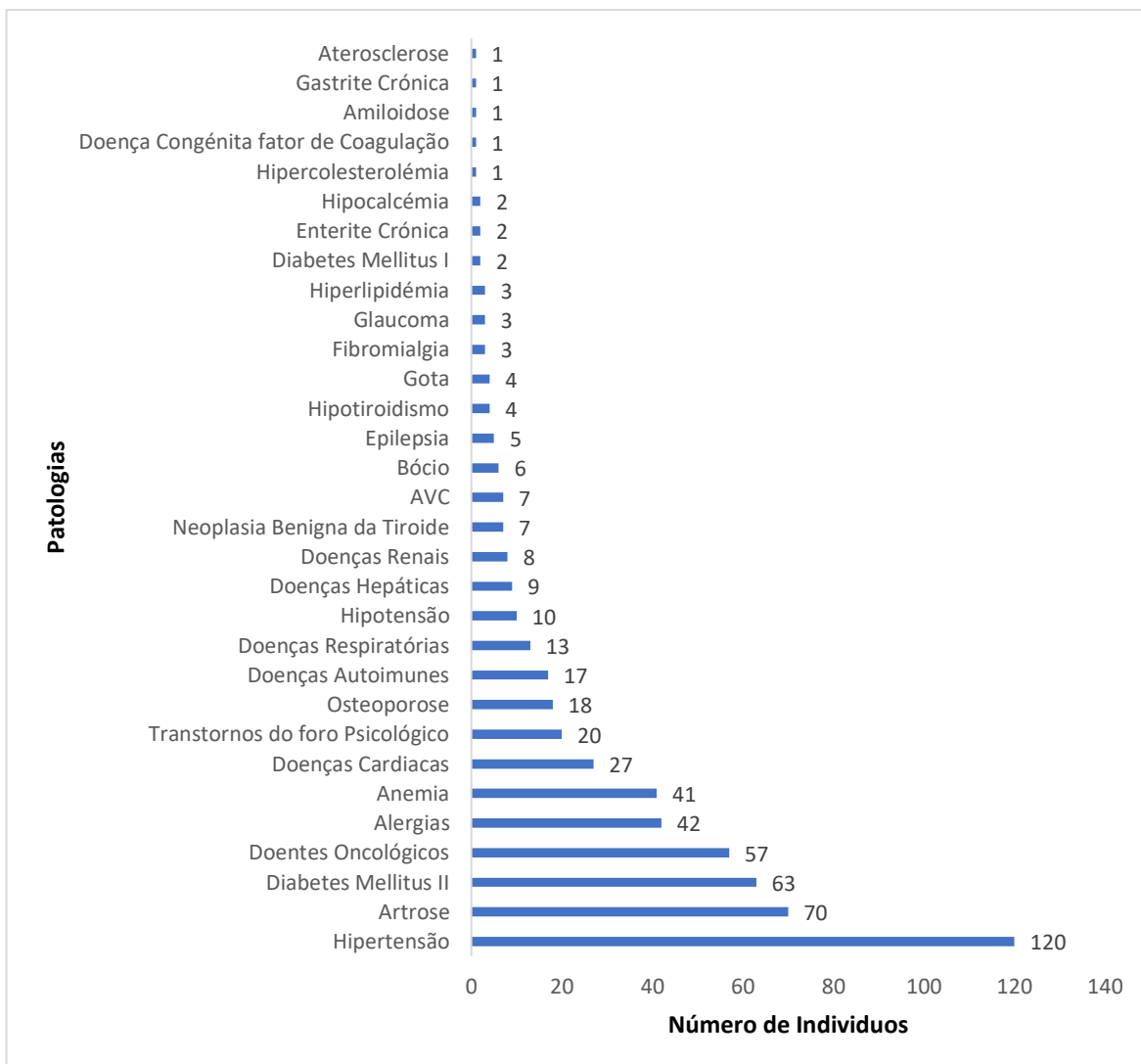


Gráfico 10: Patologias existentes nos utentes do SPC do HNSA, com deficiência de vitamina D

6. Discussão

Para a elaboração do presente estudo, estabeleceu-se uma amostra populacional constituída por 2262 indivíduos, dos quais foram coletados dados relativos aos níveis de vitamina D. Numa fase inicial, procedeu-se à análise dos indivíduos que apresentavam deficiência de vitamina D, nomeadamente 1142 indivíduos. Posteriormente, analisou-se a existência de patologias associadas a um défice de vitamina D, constatando-se que da população em estudo, 251 indivíduos apresentavam deficiência de vitamina D e diversas patologias, simultaneamente.

A deficiência em vitamina D tem sido considerada um problema crescente a nível mundial, existindo evidências que sugerem uma possível relação entre baixos níveis de vitamina D e outras patologias, para além das doenças ósseas (Holick, 2017; Janoušek et al., 2022).

Os resultados obtidos demonstram que cerca de 82,10% da população em estudo apresenta hipovitaminose D, sendo que 50,49% apresentam deficiência de vitamina D. De acordo com a distribuição feita por grupos etário e por género, observa-se que a maioria dos portadores de deficiência de vitamina D são mulheres com idade igual ou superior a 60 anos. Uma vez que o sexo feminino apresenta maior percentagem de deficiência de vitamina D, será importante a realização de futuros estudos, visando perceber o fundamento desta tendência, averiguando se será consequência das hormonas femininas.

De referir também que, da população em estudo, 715 indivíduos apresentam insuficiência de vitamina D, podendo vir a desenvolver deficiência desta vitamina. Existem diversos fatores a considerar, nomeadamente a idade avançada da maioria da população em estudo. No entanto, em pessoas mais velhas, é incerta a razão subjacente à diminuição da síntese de vitamina D, resultando em baixos valores desta.

Existem diversos fatores a considerar aquando da discussão dos resultados obtidos. Os valores de hipovitaminose D observados poderão ser justificados pela diminuição da síntese de vitamina D, por exposição solar limitada ou pela diminuição na produção de esteroides (precursores da vitamina D). Adicionalmente, a toma de alguns medicamentos poderá alterar a síntese de vitamina D, nomeadamente as estatinas, comumente utilizadas na população mais idosa (Kupisz-Urbańska et al., 2021).

Num estudo realizado por Pilz et al. (2018) observou-se que a mulher grávida não apresentava défice de vitamina D, apresentando um pico na concentração de calcitriol e um valor normal de calcidiol, uma vez que este passa através da placenta para o bebé (Pilz et al., 2018). Esta resposta biológica poderá falsear o valor verdadeiro de vitamina D, sendo apenas possível quantificar os níveis concretos de vitamina D após o parto (Pilz et al., 2018). De salientar que no presente estudo não foi possível determinar se as participantes em idade fértil se encontravam grávidas, podendo os resultados obtidos estarem falseados.

Das 31 patologias identificadas, a hipertensão arterial foi a patologia mais observada na população em estudo, correspondendo a 10,51%. Relativamente aos utentes com diabetes *mellitus*, observou-se que 0,18% e 5,52% da população em estudo apresentavam diabetes *mellitus* tipo I e tipo II, respetivamente. Adicionalmente, verificou-se que 4,99% da população apresentava doença oncológica e 2,36% doenças cardíacas. Comparando os estudos realizados em ratos com

knockout do RVD por Herrmann e Obeid (2011), no presente estudo observam-se resultados semelhantes às patologias descritas, tanto em modelo animal, como no ser humano (Herrmann & Obeid, 2011). Todavia, de acordo com Scragg et al. (2017) e Manson et al. (2019), a suplementação de vitamina D não deverá alterar o prognóstico dos utentes com estas patologias (Manson et al., 2019; Scragg et al., 2017).

Segundo Martineau et al. (2019), constata-se a eficácia de suplementação de vitamina D na prevenção de infeções respiratórias agudas (Martineau et al., 2019). No presente estudo, cerca de 1,14% da população apresentam doenças respiratórias, pelo que poderão adotar-se medidas de prevenção visando o seu bem-estar, como a toma de suplementos de vitamina D.

Como descrito em Miller and Imel (2022), o raquitismo, uma patologia associada à deficiência de vitamina D, variava ao longo do ano, apresentando um pico no mês de março (Miller & Imel, 2022). Embora neste estudo não se tenha observado nenhum caso de raquitismo, observou-se que o número de casos com deficiência de vitamina D apresenta o mesmo padrão, sendo os meses de março de 2022 e de 2023, os que apresentam o maior número de hipovitaminose D. Por outro lado, observou-se um menor número de hipovitaminose D no mês de agosto dos dois anos em estudo, reforçando a importância da exposição solar na síntese de vitamina D.

É de conhecimento geral que a elevada exposição solar, nomeadamente nas horas de maior intensidade de radiação UV, pode levar ao aparecimento de cancro da pele. Todavia, está descrito na literatura que é neste período que ocorre maior síntese de vitamina D. Adicionalmente, a utilização de protetores solares é também um fator limitativo da síntese de vitamina D. Deste modo, torna-se essencial encontrar um equilíbrio que permita a otimização da síntese de vitamina D, através da exposição solar, sem comprometer a exposição solar segura, evitando assim a probabilidade de desenvolvimento de cancro.

Existem diversas limitações que poderão ter influência nos resultados obtidos. Os métodos utilizados em laboratórios clínicos quantificam o calcidiol total, não sendo assim possível fazer a distinção de 25-hidroxitamina D₂ e 25-hidroxitamina D₃ e o calcidiol livre. Adicionalmente, não é possível aferir a presença de epímeros com o 3-epi-25-hidroxitamina D, diferenciando da 25-hidroxitamina D. Embora as duas formas, D₂ e D₃, levem ao aumento de 1,25-diidroxitamina D, estas diferem na forma como é adquirida e no seu tempo de vida na circulação sanguínea. Adicionalmente, é de salientar que o teste utilizado não quantifica valores inferiores a 3,5 ng/mL e superiores 154,2 ng/mL. Por último, é de referir que o sistema informático utilizado para registo de resultados define como limite inferior 4 ng/mL, pelo que valores inferiores a este limite não são registados no relatório clínico. Além disso, não foi possível aferir se todas as patologias existentes estão documentadas no registo clínico do utente.

Tendo como base os resultados obtidos no presente estudo, foi possível identificar quais as patologias presentes nos utentes com deficiência de vitamina D, destacando-se a hipertensão arterial, a artrose, o cancro, a diabetes *mellitus*, as alergias, as anemias, as doenças cardíacas, as doenças do foro psicológico, a osteoporose e as doenças autoimunes.

7. Conclusão e Perspetivas Futuras

No âmbito do estágio realizado no SPC do HNSA, foram adquiridas importantes competências teóricas e práticas, através do contacto com a rotina diária de laboratório hospitalar, permitindo desenvolver atividades inerentes à prestação de cuidados de saúde à população do concelho de Seia.

Em Portugal, estima-se que cerca de 66% da população apresenta baixos níveis de vitamina D (Duarte et al., 2020). Como tal, o principal objetivo deste estudo consistiu em identificar as patologias associadas à presença de défice de vitamina D.

O estudo realizado permitiu verificar que a vitamina D é essencial à saúde humana, pois desempenha um papel importante no organismo, desde a saúde do sistema músculo-esquelético, através da sua ação no metabolismo ósseo, a outras funções regulatórias celulares. Com este estudo, concluiu-se que a maioria da população apresenta défice de vitamina D, pelo que seria pertinente clarificar a causa subjacente aos resultados obtidos.

O presente estudo identificou 31 patologias associadas na população em estudo. Diversos estudos demonstram uma potencial associação entre os baixos níveis de vitamina D e diversas patologias, contudo serão necessários estudos adicionais para clarificar o papel da vitamina D no desenvolvimento de diversas patologias. Adicionalmente, seria pertinente desenvolver e aprofundar estudos que analisem as funções da vitamina D e o seu papel em patologias que não se encontram descritas na literatura, tais como hipotireoidismo, hiperlipemia, hipercolesterolemia, fibromialgia, gota e amiloidose.

O presente estudo realça a necessidade e a importância de avaliar os níveis de vitamina D na população em geral, bem como as patologias que possam estar associadas à deficiência de vitamina D.

8. Bibliografia

Adamec, J., Jannasch, A., Huang, J., Hohman, E., Fleet, J. C., Peacock, M., Ferruzzi, M. G., Martin, B., & Weaver, C. M. (2011). Development and optimization of an LC-MS/MS-based method for simultaneous quantification of vitamin D₂, vitamin D₃, 25-hydroxyvitamin D₂ and 25-hydroxyvitamin D₃. *Journal of Separation Science*, 34(1), 11–20. <https://doi.org/10.1002/jssc.201000410>

Alshahrani, F., & Aljohani, N. (2013). Vitamin D: Deficiency, sufficiency and toxicity. In *Nutrients* (Vol. 5, Issue 9, pp. 3605–3616). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu5093605>

Alves, M., Bastos, M., Leitão, F., Marques, G., Ribeiro, G., & Carrilho, F. (2013). Vitamina D—importância da avaliação laboratorial. *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*, 8(1), 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.rpedm.2012.12.001>

APTT-SP (liquid) HemosIL®. (2017)

Araujo, E., Souza, A., Barbosa, F., Cruz, G., Marques, K., Gama, L., Valvasori, M., Costa, M., Lamenha, R., & Vieira, T. (2021). Perfil epidemiológicos dos pacientes encaminhados para o laboratório de referência do grupo gsh no ano 2020. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 43, S325–S326. <https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.552>

Arnold, K. B., & Chung, A. W. (2018). Prospects from systems serology research. In *Immunology* (Vol. 153, Issue 3, pp. 279–289). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/imm.12861>

Aydin, S., Ugur, K., Aydin, S., Sahin, İ., & Yardim, M. (2019). Biomarkers in acute myocardial infarction: Current perspectives. In *Vascular Health and Risk Management* (Vol. 15, pp. 1–10). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S166157>

Bharmal, S. H., Pendharkar, S. A., Singh, R. G., Goodarzi, M. O., Pandol, S. J., & Petrov, M. S. (2017). Relationship between circulating levels of pancreatic proteolytic enzymes and pancreatic hormones. *Pancreatology*, 17(6), 876–883. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2017.09.007>

Bontempi, M. (2022). Semi-empirical anticoagulation model (SAM): INR monitoring during Warfarin therapy. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 49(3), 271–282. <https://doi.org/10.1007/s10928-021-09783-8>

Bosworth, C., & De Boer, I. H. (2013). Impaired Vitamin D Metabolism in CKD. *Seminars in Nephrology*, 33(2), 158–168. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2012.12.016>

Boxhoorn, L., Voermans, R. P., Bouwense, S. A., Bruno, M. J., Verdonk, R. C., Boermeester, M. A., van Santvoort, H. C., & Besselink, M. G. (2020). Acute pancreatitis. In *The Lancet* (Vol. 396, Issue 10252, pp. 726–734). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31310-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31310-6)

Brent, G. A. (2012). Mechanisms of thyroid hormone action. In *Journal of Clinical Investigation* (Vol. 122, Issue 9, pp. 3035–3043). <https://doi.org/10.1172/JCI60047>

Brouwer, S., Rivera-Hernandez, T., Curren, B. F., Harbison-Price, N., De Oliveira, D. M. P., Jespersen, M. G., Davies, M. R., & Walker, M. J. (2023). Pathogenesis, epidemiology and control of Group A Streptococcus infection. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 21, Issue 7, pp. 431–447). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00865-7>

Camire, R. M. (2021). Blood coagulation factor X: molecular biology, inherited disease, and engineered therapeutics. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 52(2), 383–390. <https://doi.org/10.1007/s11239-021-02456-w>

Celkan, T. T. (2020). What does a hemogram say to us? In *Turkish Archives of Pediatrics* (Vol. 55, Issue 2, pp. 103–116). <https://doi.org/10.14744/TurkPediatriArs.2019.76301>

Chang, S. W., & Lee, H. C. (2019). Vitamin D and health - The missing vitamin in humans. In *Pediatrics and Neonatology* (Vol. 60, Issue 3, pp. 237–244). Elsevier (Singapore) Pte Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2019.04.007>

Cianferotti, L. (2022). Osteomalacia Is Not a Single Disease. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 23). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms232314896>

Claudio Gonçalves de Castro, L. (2011). O sistema endocrinológico vitamina D The vitamin D endocrine system. In *Arq Bras Endocrinol Metab* (Vol. 55, Issue 8). <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0004-27302011000800010>

Clerico, A., Passino, C., Franzini, M., & Emdin, M. (2016). Natriuretic peptides as biomarkers of cardiac endocrine function in heart failure: New challenges and perspectives. In *Future Cardiology* (Vol. 12, Issue 5, pp. 573–584). Future Medicine Ltd. <https://doi.org/10.2217/fca-2016-0013>

Cornes, M., Van Dongen-Lases, E., Grankvist, K., Ibarz, M., Kristensen, G., Lippi, G., Nybo, M., & Simundic, A. M. (2017). Order of blood draw: Opinion Paper by the European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). In *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (Vol. 55, Issue 1, pp. 27–31). Walter de Gruyter GmbH. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0426>

Day, K. S., Rempel, L., Rossi, F. M. V., & Theret, M. (2024). Origins and functions of eosinophils in two non-mucosal tissues. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1368142>

D-Dimer HS HemosIL®. (2007)

De Brito, B. B., Da Silva, F. A. F., Soares, A. S., Pereira, V. A., Cordeiro Santos, M. L., Sampaio, M. M., Moreira Neves, P. H., & De Melo, F. F. (2019). Pathogenesis and clinical management of *Helicobacter pylori* gastric infection. In *World Journal of Gastroenterology* (Vol. 25, Issue 37, pp. 5578–5589). Baishideng Publishing Group Co. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i37.5578>

Demay, M. B., Pittas, A. G., Bikle, D. D., Diab, D. L., Kiely, M. E., Lazaretti-Castro, M., Lips, P., Mitchell, D. M., Murad, M. H., Powers, S., Rao, S. D., Scragg, R., Tayek, J. A., Valent, A. M., Walsh, J. M. E., & McCartney, C. R. (2024). Vitamin D for the Prevention of Disease: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgae290>

Di Cello, A., Borelli, M., Marra, M. L., Franzon, M., D'Alessandro, P., Di Carlo, C., Venturella, R., & Zullo, F. (2019). A more accurate method to interpret lactate dehydrogenase (LDH) isoenzymes' results in patients with uterine masses. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 236, 143–147. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.03.017>

Dian, Z., Sun, Y., Zhang, G., Xu, Y., Fan, X., Yang, X., Pan, Q., Peppelenbosch, M., & Miao, Z. (2021). Rotavirus-related systemic diseases: clinical manifestation, evidence and pathogenesis. In *Critical Reviews in Microbiology* (Vol. 47, Issue 5, pp. 580–595). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1907738>

Diário da República, 1.^a série — N.º 75 — 16 de abril de 2014 (2014)

Diário Da República, 1.^a Série - A — N.º 30 — 5 de fevereiro de 1992 (1992)

Diário Da República, 1.^a Série — N.º 171 — 4 de setembro de 2008 (2008)

Dorgalaleh, A., Favalaro, E. J., Bahraini, M., & Rad, F. (2021). Standardization of Prothrombin Time/International Normalized Ratio (PT/INR). In *International Journal of Laboratory Hematology* (Vol. 43, Issue 1, pp. 21–28). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13349>

Duarte, C., Carvalheiro, H., Rodrigues, A. M., Dias, S. S., Marques, A., Santiago, T., Canhão, H., Cunha Branco, J., José, & Pereira Da Silva, A. (2020). *Prevalence of vitamin D deficiency and its predictors in the Portuguese population: a nationwide population-based study*. <https://doi.org/10.1007/s11657-020-0695-x/Published>

Dumaine, J. E., Tandel, J., & Striepen, B. (2020). *Cryptosporidium parvum*. In *Trends in Parasitology* (Vol. 36, Issue 5, pp. 485–486). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.11.003>

Elstrott, B., Khan, L., Olson, S., Raghunathan, V., DeLoughery, T., & Shatzel, J. J. (2020). The role of iron repletion in adult iron deficiency anemia and other diseases. In *European Journal of Haematology* (Vol. 104, Issue 3, pp. 153–161). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ejh.13345>

Engelman, C. D., Bo, R., Zuelsdorff, M., Steltenpohl, H., Kirby, T., & Nieto, F. J. (2014). Epidemiologic study of the C-3 epimer of 25-hydroxyvitamin D₃ in a population-based sample. *Clinical Nutrition*, 33(3), 421–425. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.06.005>

Fan, Z., Huo, Y., Sun, H., & Wei, X. (2021). *Imaging and Mechanism of Leukocyte Recruitment and Function in Inflammation and Infections* (Z. Fan, Y. Huo, H. Sun, & X. Wei, Eds.). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/978-2-88966-975-2>

Fathil, M. F. M., Md Arshad, M. K., Gopinath, S. C. B., Hashim, U., Adzhri, R., Ayub, R. M., Ruslinda, A. R., Nuzaihan, M., Azman, A. H., Zaki, M., & Tang, T. H. (2015). Diagnostics on acute myocardial infarction: Cardiac troponin biomarkers. In *Biosensors and Bioelectronics* (Vol. 70, pp. 209–220). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.03.037>

Favresse, J., Yolande, L., & Gras, J. (2021). Evaluation of a Capillary Electrophoresis System for the Separation of Proteins. *Journal of Applied Laboratory Medicine*, 6(6), 1611–1617. <https://doi.org/10.1093/jalm/jfab044>

Freeman, J., Wilson, K., Spears, R., Shalhoub, V., & Sibley, P. (2014). Influence of vitamin D binding protein on accuracy of 25-hydroxyvitamin D measurement using the ADVIA Centaur vitamin D total assay. *International Journal of Endocrinology*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/691679>

Gomez, H., & Kellum, J. A. (2015). Understanding Acid Base Disorders. In *Critical Care Clinics* (Vol. 31, Issue 4, pp. 849–860). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2015.06.016>

Gowda, S., Desai, P. B., Hull, V. V., Math, A. A. K., Vernekar, S. N., & Kulkarni, S. S. (2009). *A review on laboratory liver function tests*. Pan Afr Med J. 2009

Hankins, J. (2006). The Role of Albumin in Fluid and Electrolyte Balance. *Journal of Infusion Nursing*, 29(5), 260–265. doi:10.1097/00129804-200609000-00004

Herrmann, W. & Obeid, R. (2011). *Vitamins in the prevention of human diseases*. Berlin, New York: De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/9783110214499>

- Hoffbrand A.V., & Moss P.A.H. (2013). *Fundamentos em Hematologia* (6ª). Artmed Editora
- Holick, M. F. (2017). The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. In *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* (Vol. 18, Issue 2, pp. 153–165). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11154-017-9424-1>
- Huang, G., Kovalic, A. J., & Graber, C. J. (2020). Prognostic value of leukocytosis and lymphopenia for coronavirus disease severity. *Emerging Infectious Diseases*, 26(8), 1839–1841. <https://doi.org/10.3201/eid2608.201160>
- Ismail, O. Z., & Bhayana, V. (2017). Lipase or amylase for the diagnosis of acute pancreatitis? In *Clinical Biochemistry* (Vol. 50, Issue 18, pp. 1275–1280). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.07.003>
- Italiani, P., & Boraschi, D. (2014). From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Frontier in Immunology*, Volume 5. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00514>
- Janoušek, J., Pilařová, V., Macáková, K., Nomura, A., Veiga-Matos, J., Silva, D. D. da, Remião, F., Saso, L., Malá-Ládová, K., Malý, J., Nováková, L., & Mladěnka, P. (2022). Vitamin D: sources, physiological role, biokinetics, deficiency, therapeutic use, toxicity, and overview of analytical methods for detection of vitamin D and its metabolites. In *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* (Vol. 59, Issue 8, pp. 517–554). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408363.2022.2070595>
- Jones, G. (2008). *Pharmacokinetics of vitamin D toxicity*. 582S–586S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/88.2.582S>
- Jorge, M., Instituto, C., Lutz, A., Aparecida De Freitas, C., & Instituto, O. (2019). *Importância da gestão da qualidade na realização dos testes sorológicos de HIV*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27750.78406>
- Kupisz-Urbańska, M., Płudowski, P., & Marciniowska-Suchowierska, E. (2021). Vitamin d deficiency in older patients—problems of sarcopenia, drug interactions, management in deficiency. In *Nutrients* (Vol. 13, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu13041247>
- Lee, M. W., Pourmorady, J. S., & Laine, L. (2020). Use of fecal occult blood testing as a diagnostic tool for clinical indications: A systematic review and meta-analysis. In *American Journal of Gastroenterology* (Vol. 115, Issue 5, pp. 662–670). Wolters Kluwer Health. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000000495>
- Li, J. N., & Yuan, S. Y. (2019). Fecal occult blood test in colorectal cancer screening. In *Journal of Digestive Diseases* (Vol. 20, Issue 2, pp. 62–64). Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12712>

Manson, J. E., Cook, N. R., Lee, I.-M., Christen, W., Bassuk, S. S., Mora, S., Gibson, H., Gordon, D., Copeland, T., D'Agostino, D., Friedenberg, G., Ridge, C., Bubes, V., Giovannucci, E. L., Willett, W. C., & Buring, J. E. (2019). Vitamin D Supplements and Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease. *New England Journal of Medicine*, 380(1), 33–44. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1809944>

Martineau, A. R., Jolliffe, D. A., Greenberg, L., Aloia, J. F., Bergman, P., Dubnov-Raz, G., Esposito, S., Ganmaa, D., Ginde, A. A., Goodall, E. C., Grant, C. C., Janssens, W., Jensen, M. E., Kerley, C. P., Laaksi, I., Manaseki-Holland, S., Mauger, D., Murdoch, D. R., Neale, R., ... Hooper, R. L. (2019). Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory infections: Individual participant data meta-analysis. *Health Technology Assessment*, 23(2), 1–44. <https://doi.org/10.3310/hta23020>

Mascia Brunelli S.p.A. (2020). *STREP PNEUMONIAE*

McDermott, M. T. (2020). Hypothyroidism. In *Annals of Internal Medicine* (Vol. 173, Issue 1, pp. ITC1–ITC16). American College of Physicians. <https://doi.org/10.7326/AITC202007070>

McPherson Richard A., & Pincus Matthew R. (2007). *Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais de Henry* (McPherson Richard A. & Pincus Matthew R., Eds.; 21ª edição). Manole.

Menchinelli, G., Liotti, F. M., Fiori, B., De Angelis, G., D'Inzeo, T., Giordano, L., Posteraro, B., Sabatucci, M., Sanguinetti, M., & Spanu, T. (2019). In vitro evaluation of BACT/ALERT®VIRTUO®, BACT/ALERT 3D®, and BACTECTM FX automated blood culture systems for detection of microbial pathogens using simulated human blood samples. *Frontiers in Microbiology*, 10(FEB). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00221>

Miller, W. L., & Imel, E. A. (2022). Rickets, Vitamin D, and Ca/P Metabolism. In *Hormone Research in Paediatrics* (Vol. 95, Issue 6, pp. 579–592). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000527011>

Narimani, R., Esmaeili, M., Rasta, S. H., Khosroshahi, H. T., & Mobed, A. (2021). Trend in creatinine determining methods: Conventional methods to molecular-based methods. In *Analytical Science Advances* (Vol. 2, Issues 5–6, pp. 308–325). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/ansa.202000074>

Norma Nº 004/2019 - Prevenção e Tratamento Da Deficiência de Vitamina D (2019). www.dgs.pt

Olson, J. D. (2015). D-dimer: An Overview of Hemostasis and Fibrinolysis, Assays, and Clinical Applications. In *Advances in Clinical Chemistry* (Vol. 69, pp. 1–46). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2014.12.001>

Palmer, B. F., & Clegg, D. J. (2017). Diagnosis and treatment of hyperkalemia. In *Cleveland Clinic Journal of Medicine* (Vol. 84, Issue 12, pp. 934–942). Cleveland Clinic Educational Foundation. <https://doi.org/10.3949/ccjm.84a.17056>

Park, J., & Kang, S.-J. (2024). The ontogenesis and heterogeneity of basophils. *Discovery Immunology*, 3(1). <https://doi.org/10.1093/discim/kyae003>

Parker, V., & Tormey, C. A. (2017). The direct antiglobulin test: Indications, interpretation, and pitfalls. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 141(2), 305–310. <https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0444-RS>

Paula Maria. (n.d.). *BioTécnica - Biotecnologia Avançada*. Retrieved May 15, 2024, from <https://biotecnica.ind.br/es/determinacao-de-troponina-i-como-marcador-de-lesao-miocardica/>

Peretz, A., On, A., Koiefman, H., Brodsky, D., Isakovitch, N., Glyatman, T., & Paritsky, M. (2013). BACTEC™ FX system as a tool for culturing gastric biopsies and *Helicobacter pylori* diagnosis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 32(12), 1541–1543. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1908-7>

Phillips J, & Henderson AC. (2018). Hemolytic Anemia: Evaluation and Differential Diagnosis. *American Academy of Family Physicians, Volume 98*(6), 354–361

Pilz, S., Zittermann, A., Obeid, R., Hahn, A., Pludowski, P., Trummer, C., Lerchbaum, E., Pérez-López, F. R., Karras, S. N., & März, W. (2018). The role of vitamin D in fertility and during pregnancy and lactation: A review of clinical data. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Vol. 15, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102241>

Plebani, M. (2006). Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 44(6), 750–759. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2006.123>

Pludowski, P., Grant, W. B., Karras, S. N., Zittermann, A., & Pilz, S. (2024). Vitamin D Supplementation: A Review of the Evidence Arguing for a Daily Dose of 2000 International Units (50 µg) of Vitamin D for Adults in the General Population. In *Nutrients* (Vol. 16, Issue 3). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/nu16030391>

Quarles, L. D. (2012). Role of FGF23 in vitamin D and phosphate metabolism: Implications in chronic kidney disease. In *Experimental Cell Research* (Vol. 318, Issue 9, pp. 1040–1048). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.02.027>

RecombiPlasTin 2G HemosIL®. (2017)

Rosales, C. (2018). Neutrophil: A cell with many roles in inflammation or several cell types? In *Frontiers in Physiology* (Vol. 9, Issue FEB). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>

Ryan, U. M., Feng, Y., Fayer, R., & Xiao, L. (2021). Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia* – a 50 year perspective (1971–2021). In *International Journal for Parasitology* (Vol. 51, Issues 13–14, pp. 1099–1119). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.08.007>

Ryniec, J., & Esfandiari, N. (2021). *Early Serum hCG in IVF: Are We Trending in the Right Direction?* <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00347-8/Published>

SARSTEDT Products. (n.d.). Retrieved October 19, 2023, from <https://www.sarstedt.com/en/products/diagnostic/>

Sawieres, S. (2022). Liver function tests: indication and interpretation. *The royal pharmaceutical society's official journal*, Vol 308. <https://doi.org/10.1211/PJ.2022.1.124202>

Sciacovelli, L., Padoan, A., Aita, A., Basso, D., & Plebani, M. (2023). Quality indicators in laboratory medicine: State-of-the-art, quality specifications and future strategies. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 61(4), 688–695. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-1143>

Scragg, R., Stewart, A. W., Waayer, D., Lawes, C. M. M., Toop, L., Sluyter, J., Murphy, J., Khaw, K. T., & Camargo, C. A. (2017). Effect of monthly high-dose vitamin D supplementation on cardiovascular disease in the vitamin D assessment study: A randomized clinical trial. *JAMA Cardiology*, 2(6), 608–616. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2017.0175>

Shieh, W. J. (2022). Human adenovirus infections in pediatric population - An update on clinico–pathologic correlation. In *Biomedical Journal* (Vol. 45, Issue 1, pp. 38–49). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2021.08.009>

Simundic, A. M., Bölenius, K., Cadamuro, J., Church, S., Cornes, M. P., Van Dongen-Lases, E. C., Eker, P., Erdeljanovic, T., Grankvist, K., Guimaraes, J. T., Hoke, R., Ibarz, M., Ivanov, H., Kovalevskaya, S., Kristensen, G. B. B., Lima-Oliveira, G., Lippi, G., Von Meyer, A., Nybo, M., ... Vermeersch, P. (2018). Joint EFLM-COLABIOCLI Recommendation for venous blood sampling. In *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (Vol. 56, Issue 12, pp. 2015–2038). De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0602>

- Sinkala, M., Zulu, M., Kaile, T., Simakando, M., Chileshe, C., Kafita, D., & Nkhoma, P. (2017). Performance characteristics of kidney injury molecule-1 in relation to creatinine, urea, and microalbuminuria in the diagnosis of kidney disease. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 7(2), 94. <https://doi.org/10.4103/2229-516x.205811>
- Spasovski, G., Vanholder, R., Allolio, B., Annane, D., Ball, S., Bichet, D., Decaux, G., Fenske, W., Hoorn, E. J., Ichai, C., Joannidis, M., Soupart, A., Zietse, R., Haller, M., Van Der Veer, S., Van Biesen, W., & Nagler, E. (2014). Clinical practice guideline on diagnosis and treatment of hyponatraemia. In *European Journal of Endocrinology* (Vol. 170, Issue 3). BioScientifica Ltd. <https://doi.org/10.1530/EJE-13-1020>
- Sterns, R. H. (2015). Disorders of Plasma Sodium — Causes, Consequences, and Correction. *New England Journal of Medicine*, 372(1), 55–65. <https://doi.org/10.1056/nejmra1404489>
- Strassburg, C. P. (2010). Hyperbilirubinemia syndromes (Gilbert-Meulengracht, Crigler-Najjar, Dubin-Johnson, and Rotor syndrome). *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*, 24(5), 555–571. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2010.07.007>
- Ulrich, P. S., Bastian, I. N., & Chen, D. J. (2022). Clinical Significance of BD Bactec FX Blood Culture Incubation beyond 96 Hours (4 Days). *Journal of Clinical Microbiology*, 60(7). <https://doi.org/10.1128/jcm.00549-22>
- Vattepu, R., Sneed, S. L., & Anthony, R. M. (2022). Sialylation as an Important Regulator of Antibody Function. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.818736>
- Weitz, J. I., Fredenburgh, J. C., & Eikelboom, J. W. (2017). *A Test in Context: D-Dimer*. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.09.024>
- Widick, P., & Winer, E. S. (2016). Leukocytosis and Leukemia. In *Primary Care - Clinics in Office Practice* (Vol. 43, Issue 4, pp. 575–587). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2016.07.007>
- Williams, B. A., Evans, M. A., Honushefsky, A. M., & Berger, P. B. (2017). Clinical prediction model for time in therapeutic range while on warfarin in newly diagnosed atrial fibrillation. *Journal of the American Heart Association*, 6(10). <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.006669>
- Wine, Y., Horton, A. P., Ippolito, G. C., & Georgiou, G. (2015). Serology in the 21st century: The molecular-level analysis of the serum antibody repertoire. In *Current Opinion in Immunology* (Vol. 35, pp. 89–97). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2015.06.009>

Yang, S., Chen, J., Fu, J., Huang, J., Li, T., Yao, Z., & Ye, X. (2024). Disease-Associated *Streptococcus pneumoniae* Genetic Variation. *Emerging Infectious Diseases*, 30(1), 39–49. <https://doi.org/10.3201/eid3001.221927>

Yang, Y., Mei, L., Chen, J., Chen, X., Wang, Z., Liu, L., & Yang, A. (2023). Legionella pneumophila-mediated host posttranslational modifications. In *Journal of Molecular Cell Biology* (Vol. 15, Issue 5). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjado32>

Ziaei Chamgordani, S., Yadegar, A., & Ghourchian, H. (2024). *C. difficile* biomarkers, pathogenicity and detection. In *Clinica Chimica Acta* (Vol. 558). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2024.119674>