



**GERMANO DE SOUSA**  
CENTRO DE MEDICINA LABORATORIAL

# **O Laboratório no Centro da Prática Clínica**

**LIVRO DE CASOS CLÍNICOS**

— 2025 —





**GERMANO DE SOUSA**  
CENTRO DE MEDICINA LABORATORIAL

# **O Laboratório no Centro da Prática Clínica**

**LIVRO DE CASOS CLÍNICOS**

— 2025 —

**Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa**

O Laboratório no Centro da Prática Clínica

Livro de Casos Clínicos - 2025

**Autoria:**

Ana Cristina Marçal  
Ana Pereira  
Ana Sousa  
Cândido Silva  
Germano de Sousa  
Grasielle Cruz  
Helena Brizido  
Hugo Costa Osório  
José Germano de Sousa  
Líbia Zé-Zé  
Luís Nogueira Martins  
Margarida Albuquerque  
Maria Favila Menezes  
Maria João Alves  
Maria José Rego de Sousa  
Marta Prata  
Noélia Piteira  
Paulo Paixão  
Rita Ribeiro  
Teresa Lourenço  
William Vacca

**Organização e edição:**

Maria José Rego de Sousa  
Maria Favila Menezes

Nota: Esta obra foi publicada originalmente em português.

Uma versão em inglês está disponível no site <https://www.germanodesousa.com/area-medica/casos-clinicos-2025/>

# ÍNDICE

- 7 Nota Introdutória
- 6 **CASO N.º 1**  
Bacteriemia *Streptococcus gallolyticus* num doente com endocardite aórtica e espondilodiscite lombar
- 11 **CASO N.º 2**  
Anomalia de *May-Hegglin*
- 14 **CASO N.º 3**  
Diagnóstico de Hemofilia C em grávida de 35 semanas
- 16 **CASO N.º 4**  
Interferências analíticas: a propósito de uma gamapatia monoclonal oculta
- 19 **CASO N.º 5**  
Macro TSH na gravidez
- 22 **CASO N.º 6**  
Miíase ocular por *Oestrus ovis* em Portugal: um caso clínico
- 25 **CASO N.º 7**  
Portadores de translocações equilibradas e abortos recorrentes - a propósito de um caso
- 28 **CASO N.º 8**  
Recém-nascido com tetrassomia 18p após um resultado NIPT de baixo risco - a importância de um bom aconselhamento pré-teste
- 31 **CASO N.º 9**  
Pesquisa de células LE. Um teste ainda útil para casos não suspeitos de Lúpus Eritematoso Sistémico (LES)?
- 34 **CASO N.º 10**  
Deteção “acidental” de malária pelo contador hematológico



## NOTA INTRODUTÓRIA

A Medicina vive hoje um tempo de profunda transformação. A investigação laboratorial, alicerçada nos avanços da biologia molecular e celular, deixou de ser apenas um suporte do diagnóstico para assumir um papel central na prática clínica. O futuro da Medicina é, cada vez mais, o da integração entre ciência laboratorial e acompanhamento clínico, numa colaboração estreita que permite terapias mais eficazes e personalizadas.

Neste contexto, o médico patologista clínico tem uma função insubstituível. Mais do que um especialista de bastidores, é um verdadeiro intérprete da linguagem da doença. É ele quem traduz a complexidade dos resultados laboratoriais em informação útil e rigorosa, indispensável ao clínico na tomada de decisões. O seu trabalho não se esgota na precisão técnica de um resultado: estende-se à reflexão conjunta, ao diálogo com os colegas assistentes e ao apoio na definição das melhores estratégias terapêuticas.

É esta visão que inspira a atividade do **Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa**. Aqui, ciência e clínica caminham lado a lado, unidas pelo compromisso de oferecer diagnósticos sólidos e soluções personalizadas para cada doente. O nosso Laboratório de Patologia Clínica é, acima de tudo, um espaço de partilha e colaboração, onde diferentes saberes se encontram em benefício da saúde.

Os casos clínicos que este livro reúne são expressão clara dessa missão. Cada exemplo reflete não apenas o rigor técnico, mas também a proximidade entre patologistas clínicos e médicos assistentes, demonstrando como a interdisciplinaridade se traduz em melhores cuidados e num acompanhamento mais humano. Que estas páginas possam servir de inspiração para todos os profissionais de saúde que acreditam, como nós, que a Medicina se constrói no diálogo entre ciência, experiência e dedicação às pessoas.

Director Clínico  
Médico Patologista Clínico, O.M. 11322  
Administrador e Fundador do Grupo Germano de Sousa



## *Bacteriemia Streptococcus gallolyticus num doente com endocardite aórtica e espondilodiscite lombar*

Maria Favila Menezes, MD<sup>1</sup>  
Margarida Albuquerque, MD<sup>1,3</sup>  
Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>  
Paulo Paixão, MD, PhD<sup>1,2</sup>  
José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>  
Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

<sup>2</sup> Hospital CUF Descobertas

<sup>3</sup> Hospital CUF Tejo

### SUMÁRIO

Os autores apresentam o caso de uma associação rara entre a endocardite aórtica por *Streptococcus gallolyticus*, subespécie *-gallolyticus* e a espondilodiscite lombar.

Em janeiro de 2018, uma doente com 78 anos de idade foi admitida para esclarecer um quadro de febre intermitente e dor lombar incapacitante e persistente, desde novembro de 2017. Os primeiros parâmetros analíticos revelaram um componente inflamatório significativo e foi inicialmente assumida, como mais provável, uma doença inflamatória não-infecciosa. Ao 10º dia de internamento, uma estripe de *Streptococcus gallolyticus/bovis* serotipo 1 foi isolada em várias hemoculturas e a hipótese de endocardite foi posteriormente confirmada pelo ecocardiograma transesofágico (vegetação na válvula aórtica).

Devido à persistência da lombalgia, foi realizada uma nova Ressonância Magnética Nuclear (RMN), (quatro semanas após a primeira), mostrando sinais de espondilodiscite com um abscesso associado. Para excluir carcinoma colorretal foi realizada uma colonoscopia que permitiu detetar um pólipó de grandes dimensões.

A identificação do agente nas hemoculturas desencadeou tanto a colonoscopia como a investigação da endocardite subjacente, permitindo a retirada de um pólipó e o diagnóstico de valvulopatia aórtica.

### ABSTRACT

The authors present a case of a rare association between aortic endocarditis caused by *Streptococcus gallolyticus*, subspecies *gallolyticus*, and lumbar spondylodiscitis.

In January 2018, a 78-year-old female patient was admitted to investigate a condition, observed since November 2017, involving intermittent fever and persistent, incapacitating lower back pain. Initial analytical parameters revealed a significant inflammatory component, and the most likely diagnosis was initially assumed to be a non-infectious inflammatory disease. On the 10th day of hospitalization, a strain of *Streptococcus gallolyticus/bovis* serotype 1 was isolated from several blood cultures, and the hypothesis of endocarditis was confirmed by transesophageal echocardiography (aortic valve vegetation).

Given the persistence of low back pain, a new magnetic resonance imaging (MRI) scan was performed (four weeks after the first), that revealed signs of spondylodiscitis with an associated abscess. A colonoscopy was performed to exclude the presence of colorectal carcinoma, which led to the detection of a large polyp.

The identification of the agent in blood cultures led to both the colonoscopy and the investigation of the underlying endocarditis, allowing the removal of a large polyp and the diagnosis of aortic valve disease.

## INTRODUÇÃO

Existem vários casos descritos na literatura que referem a associação entre a infecção por *Streptococcus gallolyticus subspécie-galloyticus*, tumores colorretais e endocardite infecciosa. No entanto, a infecção combinada deste microrganismo com patologia colorretal e espondilodiscite é rara.

Este caso ilustra a marcha de diagnóstico após a identificação inesperada de bactérias com consequente antibioterapia específica e evolução clínica favorável.

## CASO

Doente do sexo feminino, 78 anos, internada em janeiro de 2018 para esclarecer febre intermitente acompanhada de calafrios e lombalgia intensa e incapacitante, esta última instalada desde novembro de 2017. Os registos médicos prévios destacam como comorbilidades: hipertensão, insuficiência renal e bronquite crônica. História de procedimentos cirúrgicos prévios com instrumentação da coluna lombar e síndrome compressiva cervical realizados há 20 e 7 anos, respetivamente.

Os parâmetros analíticos iniciais revelaram uma insuficiência renal ligeira (uremia 86 mg/dl e creatinina 1.64 mg/dl), e uma componente inflamatória acentuada, com uma velocidade de sedimentação de 115 mm/hora, PCR de 8,7mg/dL e eletroforese de proteínas com padrão inflamatório. A RMN lombar não mostrou sinais que sugerissem espondilodiscite ou outros processos inflamatórios e a electromiografia (EMG) excluiu lesão neurológica significativa do membro inferior. Neste contexto, presumiu-se que este quadro clínico era provavelmente uma doença inflamatória não-infecciosa, tendo sido iniciada terapêutica antiálgica, corticoterapia e reabilitação. No 10º dia de internamento, foi isolada uma estirpe de *Streptococcus gallolyticus/bovis* serotipo I em quatro hemoculturas (Quilaban® BACTEC 9500®), identificada pela metodologia MALDI-TOF (BioMérieux VITEK MS®). Foi colocada a hipótese de um quadro de endocardite, embora a ecocardiograma transtorácico fosse negativo na época. No dia seguinte, o ecocardiograma transesofágico confirmou a endocardite de válvula aórtica, com regurgitação moderada e possível envolvimento da válvula mitral (imagem sugestiva de vegetação na válvula mitral). A antibioterapia com ceftriaxona foi iniciada de imediato.

Foi realizada uma colonoscopia para excluir tumores colorretais, tendo sido detetado um pólipó de grandes dimensões sem lesões ulcerativas.

Devido à dor lombar persistente, com agravamento, acompanhada por incapacitação da marcha e elevação dos parâmetros inflamatórios (VS e PCR) nos dias seguintes, foi realizada nova RMN da coluna na zona lombar, revelando espondilodiscite nos segmentos L5-S1 com abscesso do espaço epidural associado, evoluindo para os níveis L4-L5. Foram também observadas alterações inflamatórias/infecciosas nas facetas articulares L5-S1. Foi iniciada antibioterapia com vancomicina e meropenem, posteriormente alterada para linezolide e meropenem, durante quatro semanas. Não houve indicação para drenagem cirúrgica.

Após o tratamento com antibióticos, a doente evoluiu favoravelmente, com remissão da dor nas costas e da incapacidade na marcha. O controlo por ecocardiograma transesofágico revelou vegetação valvular aórtica residual sem insuficiência

valvular significativa e regressão completa da vegetação da válvula mitral. A RMN lombar melhorou substancialmente e a doente teve alta após dois meses de internamento.

## INVESTIGAÇÃO

Hemograma: anemia normocítica e normocrômica;  
Função hepática: sem alterações relevantes;  
Função renal: ureia e creatinina elevadas;  
Aumento da PCR e da velocidade de sedimentação;  
Hemoculturas: positivas para *Streptococcus gallolyticus spp gallolyticus*;  
Ecografia abdominal: sem alterações significativas;  
Ecografia renal: discreta assimetria entre o rim direito (RD) e o rim esquerdo (RE) (RE < RD);  
Ecografia cardíaca transtorácica: sem vegetação valvular;  
Eletromiografia com velocidade de condução: sem alterações neurológicas;  
Ressonância magnética nuclear da coluna lombar: processo de espondilodiscite com abscesso;  
Colonoscopia: remoção cirúrgica de pólipos grandes;  
Ecografia ginecológica e vesical: sem alterações relevantes;  
Sorologias reumatológicas negativas. Factor reumatóide e reação negativa de *Waller-Rose*;  
Imunoglobulinas séricas: dentro dos valores de referência;  
Imunoeletroforese sérica: sem alterações;  
Ecografia cardíaca transesofágica: mostrou endocardite da válvula aórtica e compromisso da válvula mitral;  
Frações C3 e C4 do complemento sem alterações significativas.

## TRATAMENTO

Antibioterapia com vancomicina e meropenem, posteriormente alterada para linezolide e meropenem, durante quatro semanas.

## RESULTADOS E SEGUIMENTO

Após o tratamento com antibióticos, a doente evoluiu favoravelmente, com remissão da dor nas costas e da incapacidade na marcha. O controlo por ecocardiograma transesofágico revelou vegetação valvular aórtica residual sem insuficiência valvular significativa e regressão completa da vegetação da válvula mitral. A RMN lombar melhorou substancialmente e a doente teve alta após dois meses de internamento.

## DISCUSSÃO

O *Streptococcus gallolyticus* (anteriormente *Streptococcus bovis*<sup>(2)</sup>), pertence ao Grupo D do *Streptococcus*, e é um agente anaeróbico facultativo Gram-positivo, catalase negativo, que faz parte da flora do trato digestivo em 2,5-15%<sup>(2)</sup> das pessoas saudáveis.

Existem várias espécies de *Streptococcus* do Grupo D, sendo a mais importante a *Streptococcus gallolyticus subspécie gallolyticus* (anteriormente *Streptococcus bovis* I), *Streptococcus gallolyticus subspécie pasteurianus* (anteriormente *Streptococcus bovis* II / 2) e *Streptococcus infantarius* (anteriormente *Streptococcus bovis* II / 1), que inclui duas subespécies: *coli* e *infantarius*.

A *Streptococcus gallolyticus* é uma importante causa de bacteriemia e de endocardite infecciosa no adulto<sup>(1)</sup>. São menos frequentes outras apresentações clínicas, como as infeções do

trato urinário, as infecções do sistema nervoso central ou as infecções vertebrais. A associação bem documentada entre endocardite infecciosa de *S. gallolyticus* e tumores colorretais justifica a indicação clínica para colonoscopia, quando a *S. gallolyticus spp gallolyticus* é identificada nos casos de bacteriemia ou de endocardite. Apesar da existência de vários artigos sobre esta associação, o tema permanece controverso; 25-80% dos doentes com bacteriemia por *S. gallolyticus* têm tumores colorretais concomitantes e 18-62% dos doentes com endocardite por *S. gallolyticus* apresentam tumores colorretais, sendo a grande maioria *S. gallolyticus spp gallolyticus* <sup>(2)</sup>. A endocardite infecciosa por *S. gallolyticus* afeta principalmente doentes idosos com comorbilidades. A apresentação é frequentemente subaguda, multivalvular e com presença de vegetação. No entanto, 43-72% dos doentes afetados não apresentam doença valvular cardíaca <sup>(1)</sup>.

Neste caso, a identificação laboratorial de *S. gallolyticus spp gallolyticus*, em quatro hemoculturas, levou aos achados no ecocardiograma, primeiro transtorácico e posteriormente transesofágico, revelando a endocardite infecciosa (lesões vegetativas na válvula aórtica e comprometimento da válvula mitral), e à colonoscopia com ressecção de um pólipó (tumor benigno).

A persistência das queixas lombares, dolorosas e incapacitantes, com febre e parâmetros inflamatórios elevados, mesmo após o início da antibioterapia, levou à investigação da imagem da coluna lombar, mostrando espondilodiscite com abscesso, tratada com antibioterapia específica. Como a doente não apresentava indicação formal para drenagem cirúrgica do abscesso, não houve estudos de cultura do agente etiológico. Contudo, a resolução clínica e a imagiologia favorável, após antibioterapia direcionada para *S. gallolyticus spp gallolyticus*, fez-nos considerar este agente como causa provável das lesões na coluna.

## PONTOS A DESTACAR

- A associação entre *Streptococcus gallolyticus* subespécie *gallolyticus*, endocardite aórtica e espondilodiscite lombar é rara.
- A bacteriemia por *Streptococcus gallolyticus* subespécie *gallolyticus*, deve levar à investigação da endocardite subjacente.
- A bacteriemia por *Streptococcus gallolyticus* subespécie *gallolyticus* ou endocardite, devem levar à colonoscopia <sup>(3)</sup>.

## REFERÊNCIAS

1. Aortic endocarditis and spondylodiscitis due to *Streptococcus bovis* in a patient in his eighties with colon cancer. *Scientific letters /rev Esp Geriatr Gerontol*.2010; 45(4): 241-245.
2. Ahmed S Abdulmir, Rand R Hafidh, and Fatimah Abu Bakar. The association of *Streptococcus bovis/gallolyticus* with colorectal tumors: The nature and the underlying mechanisms of its etiological role. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011; 30(1): 11.
3. Mary E. Hensler. *Streptococcus gallolyticus*, Infective Endocarditis, and Colon Carcinoma: New Light on an Intriguing Coincidence. *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 203, Issue 8, 15 April 2011, Pages 1040–1042.

# Anomalia de May-Hegglin

Noélia Piteira, PharmD, MSc<sup>1</sup>

Marta Prata, MD<sup>1</sup>

Ana Cristina Marçal, MD<sup>2</sup>

Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>

José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

<sup>2</sup> Hospital CUF Descobertas

## SUMÁRIO

Reportamos o caso de uma mulher de 23 anos, natural de Timor, referenciada à consulta de Hematologia por trombocitopenia crónica assintomática, conhecida desde 2007. No esfregaço de sangue periférico foram observadas plaquetas gigantes e inclusões citoplasmáticas basofílicas nos neutrófilos (tipo corpos de *Döhle*). A contagem plaquetária variou entre 32.000 a 89.000/ $\mu$ L, dependendo do método utilizado, sugerindo interferência da morfologia plaquetária na contagem. A função plaquetária revelou alterações ligeiras atribuíveis à trombocitopenia. Funções renal e hepática normais; anticorpos antiplaquetários negativos. Estes achados permitiram a suspeita clínica de Anomalia de *May-Hegglin*, uma entidade rara do espectro das doenças relacionadas com mutações no gene MYH9, caracterizada por macrotrombocitopenia e inclusões leucocitárias, geralmente de curso benigno e sem necessidade de terapêutica específica.

## ABSTRACT

We report the case of a 23-year-old woman from Timor, referred to the Haematology consultation for chronic asymptomatic thrombocytopenia, diagnosed in 2007. The peripheral blood smear revealed giant platelets and basophilic cytoplasmic inclusions in the neutrophils (Döhle bodies). Platelet counts ranged from 32,000 to 89,000/L, depending on the method used, suggesting an interference of platelet morphology in the count. Platelet function revealed slight changes attributable to thrombocytopenia. Normal renal and hepatic function; negative antiplatelet antibodies. These findings have led to clinical suspicion of May-Hegglin anomaly, a rare entity within the spectrum of diseases related to mutations in the MYH9 gene, characterised by macrothrombocytopenia and leukocyte inclusions, which generally has a benign course, not requiring specific treatment.

## INTRODUÇÃO

A Anomalia de *May-Hegglin*, a Síndrome de *Sebastian* e a Síndrome de *Fechtner* são doenças hereditárias autossômicas dominantes raras, caracterizadas pela tríade de plaquetas gigantes, trombocitopenia e inclusões citoplasmáticas nos granulócitos (tipo corpos de *Döhle*)<sup>(1)</sup>. Estas doenças resultam de uma mutação no gene *MYH9*, gene da cadeia pesada da miosina não muscular da classe IIA (NMMHCA), do cromossoma 22q12.3-q13.2<sup>(2)</sup>.

A macrotrombocitopenia é secundária a um defeito da maturação e fragmentação megacariocítica, que não altera a função das plaquetas. As inclusões são precipitados de cadeias pesadas de miosina que se encontram no citoplasma dos neutrófilos, eosinófilos, monócitos e basófilos<sup>(3)</sup>.

A maioria dos doentes não apresenta hemorragia clinicamente significativa, não sendo necessário tratamento. Nos raros casos em que ocorre hemorragia grave poderá ser necessária transfusão de plaquetas<sup>(3)</sup>. O tratamento com corticoides e a esplenectomia são ineficazes. Deve ser evitada medicação que interfira com a função das plaquetas, como a aspirina<sup>(4)</sup>. Alguns doentes podem apresentar outras manifestações clínicas como surdez neurosensorial, cataratas e insuficiência renal.

## CASO

Doente do sexo feminino com 23 anos, natural de Timor, recorre à consulta de Hematologia para seguimento de trombocitopenia, conhecida desde 2007. Sem queixas e sem evidência de discrasia hemorrágica.

Analticamente apresentava: hemoglobina 13.3 g/dL, leucóci-

tos 6200/ $\mu$ L (contagem diferencial sem alterações) e plaquetas 32000/ $\mu$ L (por método de impedância) e 89000/ $\mu$ L (por método de fluorescência ótica) [valores de referência 150 a 400000/ $\mu$ L]. No esfregaço sanguíneo, corado com a coloração de May Grünwald-Giemsa, confirmou-se a presença de trombocitopenia, observaram-se plaquetas maioritariamente gigantes (figuras A, B e C) e inclusões basofílicas no citoplasma dos neutrófilos e basófilos, tipo corpos de *Döhle* (figuras D, E e F). Função renal e hepática sem alterações. Anticorpos anti-plaquetários IgG negativos (<120).

Os hemogramas realizados anteriormente apresentaram número de plaquetas que oscilou entre 26 - 46000/ $\mu$ L, quantificadas por método de impedância e 77 - 89000/ $\mu$ L, por método de fluorescência ótica ou por contagem estimada em esfregaço de sangue periférico. A avaliação da função plaquetária (PFA-100), com os agonistas Colagénio/ADP e Colagénio/Epinefrina, apresentou uma ligeira alteração compatível com a trombocitopenia.

Perante uma trombocitopenia com plaquetas gigantes e inclusões citoplasmáticas nos neutrófilos e basófilos, tipo corpos de *Döhle*, considerou-se a hipótese diagnóstica de Anomalia de *May-Hegglin*.

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

A observação das inclusões citoplasmáticas, tipo corpos de *Döhle*, na presença de macrotrombocitopenia é o achado que ajuda a excluir outras causas de macrotrombocitopenia hereditária, como a Síndrome de *Bernard-Soulier*, Síndrome das plaquetas cinzentas ou doença de *von Willebrand* tipo IIB, ou macrotrombocitopenia adquirida, como a Púrpura Trombocitopénica Imune<sup>(4)</sup>.

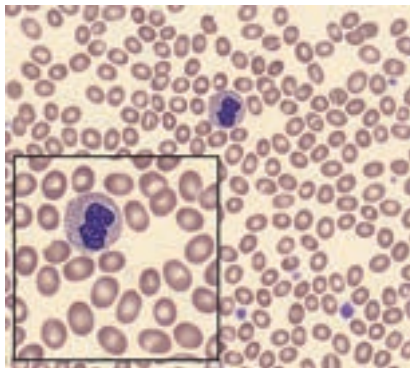


Figura A: Neutrófilos com inclusões basofílicas tipo corpos de *Döhle* e plaquetas gigantes

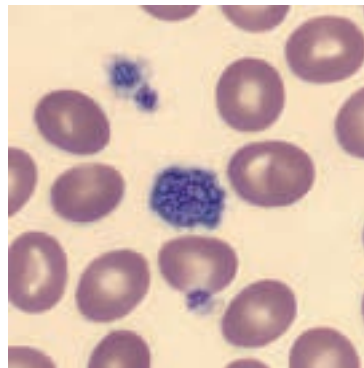


Figura B: Plaquetas macrocíticas e gigantes

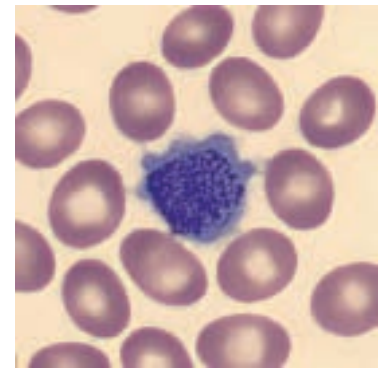


Figura C: Plaqueta gigante

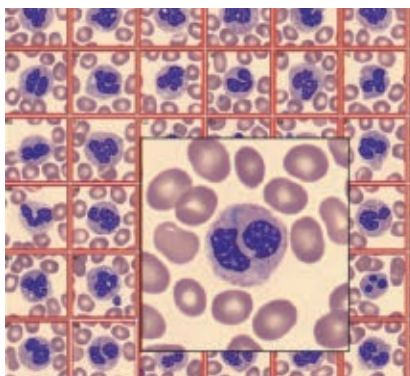


Figura D: Neutrófilos com inclusões basofílicas

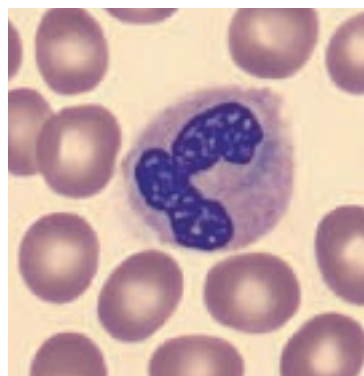


Figura E: Neutrófilo com inclusão basofílica

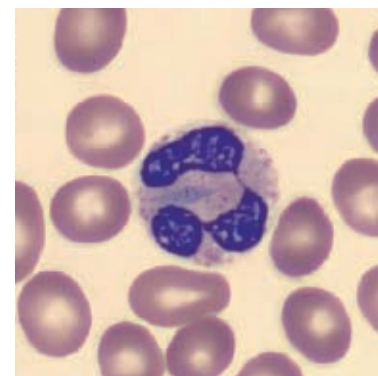


Figura F: Neutrófilo com inclusão basofílica

## DISCUSSÃO

O caso apresentado reflete o papel determinante do laboratório de Hematologia no diagnóstico diferencial de uma trombocitopenia. A observação criteriosa do esfregaço de sangue periférico revela-se essencial para evitar diagnósticos incorretos e tratamentos desnecessários ou inadequados.

Numa situação de trombocitopenia confirmada, é fundamental proceder à avaliação morfológica das plaquetas ao microscópio, com especial atenção às suas características citológicas, como o tamanho e a presença de grânulos. A identificação de plaquetas gigantes no esfregaço deve levantar a suspeita de que a contagem automática possa estar subestimada, uma vez que estas podem ser confundidas com eritrócitos e, por isso, excluídas da contagem plaquetária. Nestes casos, recomenda-se a utilização de métodos complementares mais fiáveis, como a contagem óptica fluorescente<sup>(5)</sup> ou a contagem manual estimada em esfregaço de sangue periférico.

Os autores salientam a importância de, perante uma trombocitopenia e a presença de plaquetas gigantes, ser ponderada a hipótese de estarmos perante o diagnóstico de Anomalia de *May-Hegglin* ou outra alteração genética do MYH9. Nesses casos, a pesquisa cuidadosa de inclusões citoplasmáticas basofílicas nos neutrófilos — tipo corpos de *Döhle* — pode ser determinante para a orientação diagnóstica.

## PONTOS A DESTACAR

- A contagem automática de plaquetas pode ser subestimada na presença de plaquetas gigantes, sendo recomendada a confirmação por métodos complementares, nomeadamente a contagem manual estimada.
- A presença de trombocitopenia associada a plaquetas gigantes e inclusões citoplasmáticas basofílicas nos granulócitos, do tipo corpos de *Döhle* é fortemente sugestiva da anomalia de *May-Hegglin*.
- O diagnóstico definitivo é estabelecido através da identificação da mutação no gene MYH9.
- A anomalia de *May-Hegglin* caracteriza-se por um curso clínico geralmente benigno, sendo habitualmente suficiente uma abordagem conservadora. O reconhecimento correto da anomalia é fundamental para evitar terapêuticas desnecessárias ou potencialmente prejudiciais.

## REFERÊNCIAS

1. Shinji Kunishima. *May Hegglin anomaly-from genome research to clinical laboratory*. Rinsho Byori. 2003 Sep;51(9):898-904.
2. S Kunishima, T Matsushita, T Kojima, N Amemiya, Y M Choi, N Hosaka, M Inoue, Y Jung, S Mamiya, K Matsumoto, Y Miyajima, G Zhang, C Ruan, K Saito, K S Song, H J Yoon, T Kamiya, H Saito. *Identification of six novel MYH9 mutations and genotype-phenotype relationships in autosomal dominant macrothrombocytopenia with leukocyte inclusions*. *Jornal Human Genetic*. 2001;46(12):722-9.
3. Sohaila Fatima. *May Hegglin Anomaly: Rare Entity with Review of Literature*. *Indian J Hematol Blood Transfus*. Jan-Mar 2012; 28(1):58–60.
4. Steven M. Ruhoy, Amanda Yates MLS. *Macrothrombocytopenia With Döhle Body-Like Granulocyte Inclusions: A Case Report of May-Hegglin Anomaly in a 33-Year-Old White Woman with an Update on the Molecular Findings of MYH9-Related Disease*. *Laboratory Medicine* 47:3:246-250.
5. Thamires Aparecida Dzirba, Laura Mattana Dionísio, Jéssica Rodrigues Fabro, Gisele Aparecida Langoski, Bruno Ribeiro Cruz, Jeanine Izabel Margraf Bittencourt, Everson Augusto Krum, Danielle Cristyane Kalva Borato, Mariane de Faria Moss. *Comparative analysis of platelet count between electrical impedance and optical platelet count methods in blood samples from hospitalized individuals*. *RBAC*. 2018;50(2):174-8.

# *Diagnóstico de Hemofilia C em grávida de 35 semanas*

Helena Brizido, MD<sup>1</sup>

Ana Cristina Marçal, MD<sup>1,2</sup>

Cândido Silva, MD<sup>1</sup>

Marta Prata, MD<sup>1</sup>

Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>

José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

<sup>1</sup> Hospital CUF Descobertas

## SUMÁRIO

Reportamos um caso clínico de uma mulher de 40 anos, grávida de 35 semanas, que, sem história clínica de hemorragias espontâneas ou durante trabalhos de parto anteriores, apresentou um prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT) em análises de rotina no terceiro trimestre. Através do teste de mistura, foi possível verificar a correção do aPTT, indicando um défice de um factor de coagulação. Subsequentemente, o doseamento dos fatores de coagulação revelou um défice de factor XI, confirmando o diagnóstico de Hemofilia C.

## ABSTRACT

We report a clinical case of a 40-year-old woman, 35 weeks pregnant, without a clinical history of spontaneous bleeding or bleeding during previous labours, who presented a prolonged activated partial thromboplastin time (aPTT) in routine tests during the third trimester. Through the mixing test, it was possible to verify the correction of the aPTT, which indicated a deficiency of a coagulation factor. Subsequently, the coagulation factor tests revealed a factor XI deficiency, confirming the diagnosis of haemophilia C.

## INTRODUÇÃO

A Hemofilia C é uma doença genética rara causada pelo déficit da proteína de coagulação fator XI.

Esta doença afeta 1 em cada 100.000 pessoas, mas é mais frequente em judeus Ashkenazi e descendentes (prevalência de 8% nesta comunidade). Esta baixa prevalência explica-se pelo seu padrão de transmissão genético autossômico recessivo. A Hemofilia C pode ser causada por uma diversidade de mutações genéticas, o que justifica a grande variabilidade no quadro clínico. Ao contrário das clássicas Hemofilias A e B, a Hemofilia C afeta de igual forma homens e mulheres, uma vez que o gene mutado está localizado no cromossoma 4.

A gravidade dos sintomas desta doença não se correlaciona diretamente com o nível do fator XI, o que dificulta a previsão da gravidade e frequência dos episódios hemorrágicos.

Os episódios hemorrágicos podem ocorrer após trauma físico nomeadamente após cirurgias que envolvem a mucosa oral, nariz ou trato urinário, mas raramente de forma espontânea. A extração dentária, amigdalectomia e histerectomia ou prostatectomia são exemplos de cirurgias que acarretam maior risco hemorrágico, podendo ser neste contexto a primeira manifestação da doença. Estes doentes têm uma grande tendência para ter epistaxis e hematomas, mas, raramente, para desenvolverem hemartroses ou hemorragia intracraniana espontânea.

## CASO

Doente do sexo feminino, 40 anos de idade, grávida de 35 semanas, sem história clínica de hemorragias espontâneas e/ou durante o trabalho de parto anterior, faz análises de rotina no 3º trimestre, nas quais se destacou um prolongamento do aPTT (63,5 seg). Neste contexto, a médica assistente contacta o Laboratório de Patologia Clínica no sentido de compreender este resultado. Fez-se, imediatamente, um teste de mistura obtendo-se uma correção do aPTT (25,3 seg), resultado compatível com diagnóstico de um déficit de factor de coagulação. Nesta fase, o médico patologista clínico informa a médica assistente do resultado e dá início a um doseamento sequencial dos factores de coagulação da via intrínseca, acabando por detectar um déficit de fator XI (9,5%). Perante o diagnóstico a médica assistente opta pela indução do trabalho de parto com apoio do serviço de imunohemoterapia. É efectuado um despiste de déficit do fator XI ao recém-nascido que não se confirmou [FXI=31% (valores de referência: 10-66%)].

## DISCUSSÃO

Os doentes com Hemofilia C são, geralmente, assintomáticos; as manifestações hemorrágicas ocorrem após traumatismo. A história clínica e familiar de episódios hemorrágicos é muito importante para o diagnóstico. É, também, crucial a realização de testes de *screening* de coagulação (TP, aPTT e fibrinogénio) para despiste desta e de outras patologias da coagulação em contexto pré-operatório. As mulheres, principalmente grávidas e puérperas, constituem um grupo de risco. A maioria só é diagnosticada por menorragias ou hemorragia pós-parto.

Sempre que é detetada uma alteração nos testes de *screening* da coagulação devem ser efectuados os testes complementares para diagnóstico diferencial. Neste caso clínico, a doente

apresentava um prolongamento isolado do aPTT. Este prolongamento isolado do aPTT sugere um déficit de factor da via intrínseca ou a presença de um inibidor. O diagnóstico diferencial assenta na realização de um teste de mistura que consiste na determinação do aPTT após mistura do plasma do doente com uma *pool* de plasmas normais. A correção do aPTT após a mistura sugere o diagnóstico de déficit de factor (ao adicionarmos um plasma normal ao plasma do doente corrigimos o déficit do(s) fator(es)). A não correção do aPTT após a mistura sugere a presença de um inibidor. No caso reportado, como houve correção do aPTT efectuou-se o doseamento sequencial dos factores de coagulação da via intrínseca (por se tratar de um prolongamento isolado do aPTT), por ordem de frequência da prevalência dos défices.

A Hemofilia C ou déficit de fator XI é uma doença rara, mas que necessita de um diagnóstico precoce para que as hemorragias resultantes de cirurgias ou traumatismos sejam prevenidas não colocando em risco a vida do doente. O seu diagnóstico é difícil porque, na maioria dos casos, os doentes não sangram espontaneamente, mas é imprescindível antes de intervenções cirúrgicas. A gravidade da doença não se correlaciona com os níveis de fator XI. O tratamento ou prevenção dos episódios hemorrágicos pode ser efectuado com concentrados de fator XI, plasma fresco congelado, agentes antifibrinolíticos ou desmopressina, consoante o tipo de intervenção.

## PONTOS A DESTACAR

- A Hemofilia C (déficit de fator XI) é uma coagulopatia rara, muitas vezes assintomática, cuja gravidade clínica não se correlaciona com os níveis plasmáticos do fator XI.
- Pode ser diagnosticada incidentalmente em exames de rotina, como aconteceu neste caso com um prolongamento isolado do aPTT numa grávida sem antecedentes hemorrágicos.
- O teste de mistura é essencial no diagnóstico diferencial de um aPTT prolongado, permitindo distinguir entre déficit de fator e presença de inibidor.
- Nas mulheres, especialmente durante gravidez ou parto, é fundamental suspeitar e investigar alterações da coagulação, dado o risco acrescido de hemorragias obstétricas.
- O diagnóstico precoce permite planear medidas preventivas e terapêuticas adequadas antes de intervenções cirúrgicas ou parto, reduzindo o risco de complicações graves.

### REFERÊNCIAS

<http://td.aruplab.com/Tests/Pub/0030110>.

<https://ghr.nlm.nih.gov/condition/factor-xi-deficiency>.

<https://rarediseases.org/rare-diseases/factor-xi-deficiency/>.

<https://www.hemophilia.org/Bleeding-Disorders/Types-of-Bleeding-Disorders/Other-Factor-Deficiencies/Factor-XI>.

<https://www.hemophilia.ca/factor-xi-deficiency-hemophilia-c/>.

## *Interferências analíticas: a propósito de uma gamapatia monoclonal oculta*

Margarida Albuquerque, MD<sup>1,2</sup>  
Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>  
José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>  
Germano de Sousa, PhD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

<sup>1</sup> Hospital CUF Tejo

### SUMÁRIO

As paraproteinémias interferem com os doseamentos de metabolitos no soro produzindo resultados laboratoriais espúrios. Estes eventos podem resultar de uma interferência analítica ou pré-analítica pela presença de paraproteínas monoclonais em elevadas concentrações. Existem vários exemplos descritos na literatura de interferências em analitos tão comuns como glicose, bilirrubina, gama-glutamyltransferase, ureia, natrémia, fosforémia, proteína C reactiva e ferritina. Indicadores de hemólise, lipémia ou icterícia (índices HIL) são ferramentas comuns na prática actual como alarmes para detecção de interferências nas amostras processadas pelos grandes autoanalisadores de quimioluminescência. O verdadeiro desafio é identificar mecanismos que possam detectar e evitar resultados erróneos, ou testes desnecessários. É determinante reconhecer os fenómenos que produzem um diagnóstico inesperado.

Os autores apresentam dois casos em que o doseamento do ácido urico, revelou resultados alterados e inesperados causados pela presença de uma paraproteinémia. A investigação laboratorial exaustiva destes resultados permitiu a identificação de uma gamapatia monoclonal oculta em ambos os doentes.

### ABSTRACT

Paraproteinaemias interfere with serum metabolite assays, producing spurious laboratory results. These events can be caused by analytical or pre-analytical interference due to the presence of monoclonal paraproteins in high concentrations. There are several examples described in the literature of interference in analytes as common as glucose, bilirubin, gamma-glutamyltransferase, urea, sodium, phosphorus, C-reactive protein, and ferritin. Indicators of haemolysis, icterus or lipaemia (HIL index) are common tools in current practice to detect interference in samples processed by large chemiluminescence autoanalysers. The real challenge is to identify mechanisms that can detect and avoid erroneous results or unnecessary tests. It is crucial to recognise the phenomena that produce an unexpected diagnosis.

The authors present two cases in which uric acid measurement revealed altered and unexpected results caused by the presence of paraproteinaemia. Exhaustive laboratory investigation of these results led to the identification of occult monoclonal gammopathy in both patients.

## INTRODUÇÃO

Existem vários mecanismos de interferência descritos na literatura <sup>(3,4)</sup>. Apesar dos analisadores actuais detectarem alterações na absorção durante o curso de uma reacção, e assim a formação de turvação devido a proteínas M, não existem mecanismos validados para analisar amostras em laboratórios de alta produtividade. A interferência de paraproteínas é relativamente comum na prática laboratorial e a presença de resultados laboratoriais espúrios inexplicáveis deveria levar à pesquisa de uma paraproteína subjacente. Por outro lado, é espectável que doentes com diagnóstico de mieloma múltiplo possam ter resultados anómalos pela presença de paraproteínas em elevadas concentrações.

## CASO N°1

Um homem de 79 anos foi observado pelo seu médico de família por tonturas, cefaleias e fadiga. Não foi referida história prévia de cancro ou gota e o doente não tomava qualquer tipo de medicação, para além de uma estatina por elevação do colesterol.

Os resultados laboratoriais revelaram uma elevação extrema da uricémia (16,3 mg/dl), fora do contexto clínico com uma discreta anemia normocítica e normocrómica (12,5 g/dl).

Após vários testes de confirmação, com vários doseamentos do ácido úrico sérico (Tabela 1), deparámo-nos com a possibilidade de uma interferência analítica para este metabolito. Realizámos uma eletroforese capilar das proteínas plasmáticas e encontramos um pico na região das gamaglobulinas com um componente M de 36,1 g/dl. Por eletroforese capilar com imunobstracção, foi identificada uma gamapatia monoclonal do tipo IgM lambda.

A gamapatia oculta com síndrome de hiperviscosidade foi a verdadeira causa para os doseamentos alterados da uricémia e explica a sintomatologia do doente com tonturas e cefaleias.

Não foi identificada nenhuma interferência analítica noutros parâmetros.

O doente foi encaminhado para a consulta de hematologia, para futuras investigações.

## CASO N°2

Um homem de 75 anos foi examinado pelo seu médico de família, num exame anual de rotina.

O doseamento da uricémia revelou vários erros e incapacidade de doseamento no autoanalisador de rotina (ADVIA® Chemistry XPT, Siemens). Após duas etapas confirmatórias noutros autoanalisadores com outras metodologias (Dimension® EXL, Siemens), obtivemos doseamentos normais deste metabolito (3,4/3,8 mg/dl) (Tabela 1). Foi mais uma vez considerada a possibilidade de uma interferência analítica neste parâmetro. Foi feita uma eletroforese capilar de proteínas plasmáticas, que revelou um pico na região das gamaglobulinas, com um componente M de 30 g/dl, identificado por eletroforese capilar com imunoabsorção, como sendo uma gamapatia monoclonal do tipo de IgG kappa.

Esses achados foram comunicados e discutidos com o médico de família, e o doente foi encaminhado para a consulta de hematologia, para futuras investigações.

## RESULTADO

Ambos os doentes foram encaminhados para a consulta de hematologia, para futuras investigações.

## DISCUSSÃO

A gamapatia monoclonal é caracterizada pela presença de uma imunoglobulina monoclonal ou paraproteína no soro ou na urina e ocorre no mieloma múltiplo, macroglobulinemia de Waldenström, plasmocitoma, amiloidose e gamapatia monoclonal de significado indeterminado (MGUS) <sup>(1)</sup>.

As paraproteínas resultam da proliferação de um único clone de plasmócitos e são geralmente detectadas pelo aparecimento de uma única banda bem definida na eletroforese das proteínas séricas. A paraproteína mais comum é a IgG (aproximadamente 70%), sendo a IgM e a IgA menos comuns (aproximadamente 17% e 11%, respectivamente) <sup>(2)</sup>.

A presença de uma grande quantidade de proteína monoclonal no soro pode levar a uma série de resultados laboratoriais incomuns. Um dos mecanismos pode ser considerado pré-analítico, relacionado com a interação da paraproteína com uma gama de analitos, incluindo catiões, aniões, enzimas, hormonas ou lípidos. O outro é a interferência analítica resultante da precipitação ou aumento da viscosidade, interferindo com as leituras ópticas.

Existem vários exemplos, relatados na literatura, da interferência da gamapatia em analitos como glicose, bilirrubina, gama-glutamilttransferase, ureia, natrémia, fosforémia, proteína C reactiva, HDL e ferritina <sup>(3)</sup>. Adicionalmente, as interferências causadas por paraproteínas são relativamente

TABELA 1. RESUMO DE INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL E RESPECTIVAS METODOLOGIAS

ANALISADOR	METODOLOGIA	Doseamentos de Ac. úrico	
		Doente 1	Doente 2
ADVIA® Chemistry XPT, Siemens	Reacção enzimática Uricase Fossati	< Conc. Range, less than 0: no result	< Conc. Range, less than 0: no result
Dimension® EXL, Siemens	Reacção enzimática modificada de Uricase Kalckar	16,3 mg/dl	3.8 mg/dl
		15,3 mg/dl	3,4 mg/dl
Arquitect® Abbot	Reacção enzimática modificada de Uricase Trivedi e Kabasakalian	8,8 mg/dl	-

comuns e parecem ser dependentes da metodologia utilizada e da sua concentração sérica. Song, Yang e cols<sup>(5)</sup> acompanharam alguns doentes, verificando que como as concentrações de paraproteínas tendem a normalizar após o tratamento, as interferências também desaparecem. A progressão da doença e o aumento das concentrações de proteína monoclonal causam o aumento das interferências.

Os resultados laboratoriais inesperados, como nos casos agora apresentados, podem ser confusos ou enganadores. Podem desencadear exames laboratoriais adicionais, outros testes de diagnóstico ou até mesmo um plano de tratamento incorreto.

## PONTOS A DESTACAR

- As paraproteínas são causas comuns de resultados laboratoriais inesperados.
- Os laboratórios devem identificar rapidamente os resultados destes parâmetros e garantir que os clínicos estão cientes do potencial das interferências analíticas nos testes laboratoriais.
- Por outro lado, é de suma importância reconhecer que a investigação laboratorial cuidada destes resultados pode passar por técnicas laboriosas como a eletroforese capilar, a eletroforese por imunoabsorção ou a imunofixação em gel de agarose, revelando um diagnóstico inesperado.

## REFERÊNCIAS

1. King IR, Florkowski C. How paraproteins can affect laboratory assays: spurious results and biological effects. *Pathology* 2010; 42:5, 397-401.
2. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2006; 354: 1362–9.
3. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1240–3.
4. Song et al. Interference in a Conjugated Bilirubin Assay. *Arch Pathol Lab Med.* 2014; 138:950–954; doi: 10.5858/ arpa.2013-0042-OA.
5. Yang et al. Paraprotein Interferences With Automated Methods. *Arch Pathol Lab Med*—Vol 132, February 2008.

# Macro TSH na gravidez

Margarida Albuquerque, MD<sup>1,2</sup>

Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>

Rita Ribeiro, MSc BioChem<sup>1</sup>

José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

<sup>2</sup> Hospital CUF Tejo

## SUMÁRIO

Os recentes avanços tecnológicos permitiram melhorias significativas na precisão dos testes laboratoriais utilizados para os doseamentos séricos das hormonas da função tiroideia.

Perante a discordâncias entre os resultados de TSH, T4 e T3 livres, na ausência de sinais clínicos ou sintomas de hipotiroidismo, deve ser considerada a presença de uma interferência analítica. Os anticorpos heterófilos ou a presença de uma forma de macro-TSH resultante de um complexo imune Ig G ligado a autoanticorpos anti-TSH, podem induzir uma interpretação clínica errónea dos resultados. Durante a gravidez, a tiroide está sob uma considerável demanda, exigindo alterações fisiológicas maternas significativas, particularmente importantes se há antecedentes de doença tiroideia. A presença de autoanticorpos anti-tiroideus deve ser excluída nestes casos, uma vez que as Ig G passam a barreira feto-placentar induzindo hipotiroidismo no feto. Realizámos uma revisão de literatura e encontramos uma pequena casuística documentada nos últimos 10 anos. A prevalência de TSH elevada devido à presença de macro-TSH foi de 0,6%. Usámos como método de separação do monómero TSH do imunocomplexo, o teste de precipitação com polietilenoglicol (PEG). Relatamos o caso de uma gestante de 33 anos que na avaliação laboratorial do segundo trimestre revelou um ligeiro aumento da TSH, 5,850 mUI / L, medido por um imunoensaio de quimiluminescência de 4ª geração (Advia Centaur XP™, Siemens), com fracções livres de T4 e T3 normais, sem sinais ou sintomas de hipotiroidismo. Após o método de precipitação com PEG, a taxa de recuperação foi de 56%, o que sugere a presença de uma interferência analítica no doseamento de TSH pela presença de imunocomplexos.

## ABSTRACT

Recent technological advances have led to significant improvements in the accuracy of laboratory tests used for serum thyroid hormone assays.

The presence of analytical interference should be considered in case of discrepancies between TSH, free T4 and free T3 results in the absence of clinical signs or symptoms of hypothyroidism. Heterophile antibodies or the presence of a macro-TSH form resulting from an IgG immune complex bound to anti-TSH autoantibodies can lead to an erroneous clinical interpretation of the results. During pregnancy, the thyroid gland is under considerable demand, requiring significant maternal physiological adaptations, which are particularly important in case of thyroid disease history. The presence of anti-thyroid autoantibodies should be excluded in these cases, as Ig G crosses the foeto-placental barrier, inducing hypothyroidism in the foetus. We conducted a literature review and found a small number of cases documented in the last 10 years. The prevalence of elevated TSH due to the presence of macro-TSH was 0.6%. We used the polyethylene glycol (PEG) precipitation test as a method for separating the TSH monomer from the immunocomplex. We report the case of a 33-year-old pregnant woman who, in the second trimester laboratory evaluation, revealed a slight increase in TSH, 5,850 mIU/L, measured by a 4th generation chemiluminescence immunoassay (Advia Centaur XP™, Siemens), with normal free T4 and T3 fractions, without signs or symptoms of hypothyroidism. After the PEG precipitation method, the recovery rate was 56%, suggesting the presence of analytical interference in TSH measurement due to the presence of immune complexes.

## INTRODUÇÃO

Nas últimas quatro décadas, os avanços tecnológicos permitiram um aumento na sensibilidade e na especificidade dos testes laboratoriais utilizados para os doseamentos séricos das hormonas da função tiroideia.

A utilização dos ensaios de terceira e quarta gerações para a hormona estimulante da tiróide, TSH ou tirotropina, bem como a estabelecida relação log-linear com a tiroxina livre (T4), estabeleceram a TSH como o marcador mais sensível para testar a função tiroideia. A discordância entre os resultados de TSH e das fracções livres T4 e T3, sem sintomas ou sinais clínicos de hipotiroidismo devem fazer o laboratório suspeitar de uma interferência analítica. A presença de anticorpos heterófilos ou de anticorpos anti-TSH, formam imunocomplexos macromoleculares, resultando numa forma de macro-TSH, sem actividade biológica, mas que produz doseamentos alterados de TSH<sup>(1,2,7,9)</sup>. Este complexo analítico-anticorpo são uma causa bem conhecida de má interpretação clínica de resultados laboratoriais. Este fenómeno é igualmente referido como causa de macroprolactinemia<sup>(3)</sup> ou até de interferência nos doseamentos séricos de enzimas como a creatinina quinase (CK) ou amilase, exigindo um elevado grau de suspeição na identificação destes achados laboratoriais.

Este fenómeno é especialmente importante durante a gravidez, uma vez que os imunocomplexos Ig G como os de macro-TSH ou dos anticorpos anti-tiroideus passam a barreira feto placentar, induzindo hipotiroidismo fetal<sup>(6,8)</sup>.

Realizámos uma revisão de literatura dos últimos 10 anos e encontramos um pequeno número de casos documentados. A prevalência de TSH elevada por macro-TSH foi de 0,6% na população em geral<sup>(2,9)</sup> e não há dados na literatura sobre a prevalência durante a gravidez.

## CASO

Examinámos uma mulher de 33 anos, grávida de 20 semanas, saudável, sem antecedentes de doença tiroideia, com uma elevação discreta de TSH, 5,850 mUI / L (0,2-3,0), T3 livre e T4 livre normais 3,51 pg /mL (2,30-4,20) e 0,99 ng /dL (0,80-1,75), respetivamente, sem sinais ou sintomas de hipotiroidismo. Os anticorpos anti-tiroideus, anti-tiroglobulina, anti-peroxidase e anti-receptores da TSH (TRAB's), eram negativos. Após o teste de precipitação com PEG, a concentração de TSH foi novamente doseada e a presença de macro-TSH na concentração total de TSH foi calculada. A taxa de recuperação foi de 56%, com um valor corrigido de TSH para 2,100 mUI/L, o que sugere a presença do monómero de TSH e da interferência analítica no doseamento de TSH pela presença de imunocomplexos.

## INVESTIGAÇÃO

Utilizámos o imunoensaio de quimiluminescência TSH de quarta geração, no autoanalisador Advia Centaur XP™, Siemens, para o doseamento da TSH, tiroxina livre (FT4) e triiodotironina livre (FT3).

Para os anticorpos anti-tiroideus, anti-tiroglobulina e anti-peroxidase, utilizámos o ensaio imunométrico quimiluminescente de dois locais, Immulite 2000™, DPC.

Os anticorpos anti-receptor de TSH (TRAb) foram analisados por radioimunoensaio (RIA).

Como método de separação do imunocomplexo utilizámos o teste de precipitação com polietilenoglicol (PEG), o PEG 6000 (Wako Junyaku kogyo k.k.™, Tóquio, Japão).

Resumimos na Tabela 1, as investigações laboratoriais realizadas.

## DISCUSSÃO

A interferência do ensaio na medição da TSH é relativamente comum. Alguns autores referem que em cerca de 0,5 a 5% das amostras testadas para função tiroideia, o doseamento de TSH é analiticamente suspeito de estar alterado por uma interferência analítica<sup>(2)</sup>. A elevação espúria da TSH deve ser considerada e investigada quando incongruentes com a apresentação clínica, particularmente em elevações superiores a 10 mUI/L<sup>(2)</sup>. No entanto, pequenas alterações aos valores de referência devem ser igualmente investigados com métodos laboratoriais adicionais e fora da rotina habitual, sob pena de serem feitas investigações clínicas e tomadas decisões terapêuticas desnecessárias.

O valor de referência geralmente aceite para a TSH no sangue circulante é de 0,350-5,500 mUI / L<sup>(6)</sup>. A secreção de TSH está sob o controle do nível T3 e da hormona libertadora da tireotropina (TRH). Em algumas situações, a relação recíproca entre a TSH sérica e as concentrações das fracções livres é interrompida. A interferência no ensaio, como a presença de anticorpos anti-TSH, é uma dessas situações<sup>(2,7,8,9,10)</sup>.

A doença da tiróide na gravidez é uma entidade clínica comum<sup>(1,3,5,6,7,9,10)</sup>, 20% das gestantes apresentam anticorpos anti-tiroideus positivos, 2 a 3% têm hipotiroidismo não diagnosticado e 0,3 a 0,5%, hipertiroidismo<sup>(3)</sup>.

A interpretação dos valores de TSH na gravidez deve ser feita de acordo com os valores ajustados à idade gestacional, conforme sugerido por Stagnaro-Green et al<sup>(5)</sup>, e referidos como evidência III b na Norma da Direcção Geral da Saúde em 2011: no 1º trimestre: 0,1 – 2,5 mU/L; no 2º trimestre: 0,2 – 3,0 mU/L e no 3º trimestre: 0,3 – 3,0 mU/L<sup>(6)</sup>.

A presença de macro-TSH parece afetar a maioria dos ensaios de TSH disponíveis comercialmente. As causas de interferência analítica referidas na literatura incluem a presença na

TABELA 1. Resumo dos resultados

Investigações laboratoriais	Resultados	Conclusões
<b>1. Sem tratamento</b>		
TSH, Advia™ Centaur-Siemens	5,850 mUI/L (0,2-3,0)	Elevação da TSH com eutiroidismo clínico e laboratorial.
F T3, Advia™ Centaur-Siemens	3,51 pg/mL (2,30-4,20)	Sugestivo de interferência analítica
F T4, Advia™ Centaur-Siemens	0,99 ng/dL (0,80-1,75)	
<b>2. Precipitação com PEG e reanálise do sobrenadante</b>		
TSH, Advia™ Centaur-Siemens	2,10 mUI/L (0,2-3,0)	Interferência analítica por macromoléculas
% de recuperação TSH	56%	

amostra de anticorpos heterófilos, anticorpos humanos anti-rato ou anti-coelho e a presença de fator reumatoide positivo <sup>(2,7,8,9,10)</sup>. O mecanismo comum para a interferência positiva neste ensaio é a reticulação dos anticorpos de captura e de sinal do imunoenensaio em sanduíche, gerando falsamente o sinal de detecção com aumento do resultado da TSH <sup>(2,8)</sup>. Paralelamente, por ser uma macromolécula, a depuração renal da macro-TSH é marcadamente reduzida, com aumento da sua concentração sérica e elevação do doseamento de TSH. A atividade biológica atribuída à presença de macro-TSH é reduzida <sup>(2,7,8,9,10)</sup>, pelo que os pacientes permanecem clínica e laboratorialmente, eutiroideus.

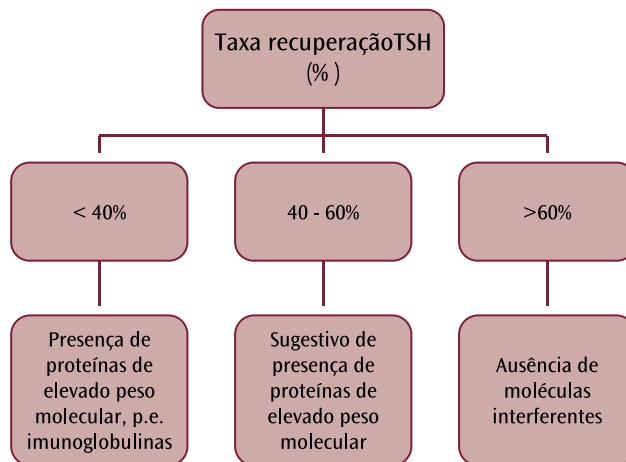
Todos os laboratórios de diagnóstico clínico devem realizar testes de investigação adicionais, acompanhando resultados alterados de TSH, inconsistentes com o estado clínico do paciente e / ou com valores de tiroxina livre normais. Esta questão é particularmente importante na monitorização laboratorial da grávida com doença tiroideia e no *screening* neonatal, mas deverá ser aplicada a qualquer situação.

Um dos métodos de eleição é o teste de precipitação com polietilenoglicol (PEG) <sup>(2,4,7,8,9,10)</sup>. O PEG actua como substância quelante, adsorvendo os eventuais anticorpos heterófilos e outras imunoglobulinas presentes nestas amostras, permitindo discriminar as substâncias de interferência de verdadeiros casos de TSH elevada.

No nosso laboratório, realizamos o teste de precipitação com PEG, de acordo com o procedimento descrito por Sakai et al <sup>(8)</sup>, dissolvendo 2,5 g de PEG 6000 (Wako Junyaku kogyo K.k., Tóquio, Japão) em 10 mL de água destilada. Volumes iguais de uma solução de 25% de PEG e soro do paciente são misturados e centrifugados a 3000 g por 5min. O sobrenadante é separado e o nível de TSH é doseado pelo Advia Centaur XP <sup>TM</sup>, Siemens. A taxa de recuperação do TSH é calculada pela seguinte fórmula <sup>(8)</sup>:

Taxa de recuperação de TSH (%) =  $2 \times \text{TSH (após absorção)} / \text{TSH (antes da absorção)} \times 100$ .

A interpretação dos resultados é feita de acordo com o seguinte algoritmo <sup>(8)</sup>:



Neste caso, a taxa de recuperação foi de 56%, com um valor corrigido de TSH para 2,100 mUI/L, normal para a idade gestacional, o que sugere a presença do monómero de TSH e da interferência analítica no doseamento de TSH pela presença de imunocomplexos. O reconhecimento precoce desta interferência no ensaio da TSH pode evitar erros de diagnóstico e investigação e / ou tratamentos desnecessários.

## PONTOS A DESTACAR

- A macro-TSH é uma interferência analítica sub-diagnosticada.
- As técnicas laboratoriais descritas podem diagnosticar esta entidade rara, causa de elevação isolada do TSH em indivíduos clinicamente eutiroideus.
- A doença da tiróide na gravidez é uma entidade clínica comum e as pacientes com macro-TSH devem ser acompanhadas, especialmente aquelas com anticorpos anti-tiroideus positivos.
- Um diálogo próximo entre o clínico e o laboratório é determinante na abordagem desses casos, permitindo a detecção de casos de macro-TSH, prevenindo o início de terapia de substituição hormonal para um eventual caso de hipotireoidismo subclínico.

## REFERÊNCIAS

1. Soldin, O et al, "The Use of TSH in Determining Thyroid Disease: How Does It Impact the Practice of Medicine in Pregnancy?" Review Article. *Journal of Thyroid Research*. vol 2013, Article ID 148157.
2. Mills, F. et al, "An immunoglobulin G complexed form of thyroid-stimulating hormone (macro thyroid-stimulating hormone) is a cause of elevated serum thyroid-stimulating hormone concentration". *Ann Clin Biochem*. 2013 Sep; 50(Pt 5):416-20.
3. Alves, M. et al, "Disfunção tiroideia na gravidez". *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*. 2007-02: 47-56.
4. Leslie, H et al "Laboratory and clinical experience in 55 patients with macroprolactinemia identified by a simple polyethylene glycol precipitation method". *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86: 2743–2746.
5. Stagnaro-Green et al. "Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of thyroid disease during pregnancy and postpartum". *Thyroid* 21:1-45,2011.
6. Norma DGS nº 039/2011." Prescrição de Exames Laboratoriais para Avaliação e Monitorização da Função Tiroideia."
7. Halsall, DJ et al, "Macro thyrotropin-IgG complex causes factitious increases in thyroid-stimulating hormone screening tests in a neonate and mother". *Clin Chem* 2006;52: 1968-1969.
8. Sakai, H et al, "Falsely elevated thyroid-stimulating hormone (tsh) level due to macro-tsh". *Endocrine Journal* 2009, 56 (3), 435-440.
9. Rix M, Laurberg P, Porzig C, Kristensen SR. "Elevated thyroid-stimulating hormone level in a euthyroid neonate caused by macro thyrotropin-IgG complex". *Acta Paediatr* 2011 Feb 25. doi: 10.1111/j.1651- 2227.2011.02212.x.
10. Loh et al. "Macro-Thyrotropin: A Case Report and Review of Literature". *J Clin Endocrinol Metab* 97: 1823–1828, 2012.

# Miíase ocular por *Oestrus ovis* em Portugal: um caso clínico

Maria Favila Menezes, MD<sup>1</sup>  
Luís Nogueira Martins, MD<sup>1</sup>  
Paulo Paixão, MD, PhD<sup>1</sup>  
Maria João Alves, MD<sup>2</sup>  
Hugo Costa Osório, MD<sup>2</sup>  
Líbia Zé-Zé, MD<sup>2</sup>  
William Vacca, MD<sup>3</sup>  
Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>  
José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>  
Germano Sousa, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge – Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas

<sup>3</sup> Hospital São Gonçalo (Lagos)

## SUMÁRIO

A miíase humana é mais prevalente em regiões rurais<sup>(3,11)</sup>, devido à maior exposição a animais hospedeiros e condições sanitárias propícias ao ciclo de vida dos dípteros causadores. No entanto também estão descritos casos em áreas urbanas<sup>(7,8)</sup>. As larvas podem invadir ou infestar diferentes tecidos humanos, sendo classificadas como oftalmomiíase ou miíase ocular quando invadem o olho ou a região ocular, podendo causar lesões significativas<sup>(4,6,12)</sup>.

Os autores relatam o caso de um homem de 26 anos, de férias no sul de Portugal (Algarve), que, durante uma caminhada numa zona rural, “sentiu algo bater no olho”, seguido por uma sensação de corpo estranho e dificuldade em abrir o olho. No serviço de urgência hospitalar, foram observadas doze larvas, associadas a uma leve inflamação da conjuntiva. Uma das larvas foi identificada morfológicamente como pertencente à espécie *Oestrus ovis* (família *Oestridae*) e classificada como oftalmomiíase externa<sup>(3,4)</sup>. Foi tentada a confirmação molecular da amostra da larva de inseto por amplificação do DNA mitocondrial da subunidade I do Citocromo Oxidase (COI), utilizando os *primers* LCO1490 e HCO2198<sup>(1)</sup>. No entanto, não teve sucesso, muito provavelmente devido à qualidade e à pequena quantidade de material que chegou ao laboratório.

O diagnóstico precoce permitiu uma rápida intervenção com a remoção das larvas para evitar lesões residuais, com menos complicações e destruição das estruturas oculares. Até onde sabemos, este é o primeiro caso descrito de miíase ocular em Portugal, causado pela espécie *Oestrus ovis*. O caso serve de alerta para o diagnóstico dessas infestações em países do sul da Europa, especialmente em áreas rurais<sup>(13)</sup>, bem como para a importância do diagnóstico precoce.

## ABSTRACT

Human myiasis is more prevalent in rural areas<sup>(3,11)</sup> due to the increased exposure to host animals and sanitary conditions favourable to the life cycle of the causative diptera. However, cases have also been reported in urban areas<sup>(7,8)</sup>. The larvae can invade or infest different human tissues and the condition is classified as ophthalmomyiasis or ocular myiasis when they invade the eye or ocular region, causing significant damage<sup>(4,6,12)</sup>.

The authors report the case of a 26-year-old man, on holidays in southern Portugal (Algarve) who, while walking in a rural area, ‘felt something hitting his eye’, followed by a foreign body sensation and difficulty in opening his eye. In the hospital emergency department, twelve larvae were observed, associated with mild inflammation of the conjunctiva. One of the larvae was morphologically identified as belonging to the species *Oestrus ovis* (*Oestridae* family) and classified as external ophthalmomyiasis<sup>(3,4)</sup>. Molecular confirmation of the insect larva sample was attempted by amplifying the mitochondrial DNA of cytochrome oxidase subunit I (COI) using LCO1490 and HCO2198 *primers*<sup>(1)</sup>. However, the attempt was unsuccessful, most likely due to the quality and small quantity of material received by the laboratory.

Early diagnosis allowed for rapid intervention with removal of the larvae to prevent residual lesions, reducing complications and destruction of ocular structures. To our knowledge, this is the first reported case of ocular myiasis in Portugal caused by *Oestrus ovis*. The case serves as a warning for the diagnosis of these infestations in southern European countries, especially in rural areas<sup>(13)</sup>, as well as for the importance of early diagnosis.

## INTRODUÇÃO

Miíases são parasitoses dos tecidos de vertebrados causadas por larvas de ectoparasitas dípteros (ordem Diptera)<sup>(2)</sup>. Diversas espécies de moscas causam miíase traumática ou de feridas, incluindo moscas das famílias *Calliphoridae*, *Muscidae*, *Oestridae*, *Phoridae* e *Sarcophagidae*. A ocorrência e prevalência da miíase estão associadas a fatores ambientais, nomeadamente à abundância e distribuição da população de moscas e à suscetibilidade dos hospedeiros vertebrados.

A miíase humana ocorre geralmente em áreas rurais, onde as pessoas vivem em contato direto com animais, mas também pode ocorrer em áreas urbanas. As larvas das espécies acima mencionadas afetam diferentes tecidos humanos. A oftalmomiíase ou miíase ocular representa menos de 5% de todos os casos de miíase. Esta patologia pode ser dividida em formas externas (99,62% dos casos descritos nos países mediterrânicos) e internas (cerca de 0,38%).

A oftalmomiíase é tipicamente observada em agricultores, pastores e viajantes em áreas rurais. *Oestrus ovis* é a causa mais comum de oftalmomiíase externa.

Dado que esta condição é muito incomum em Portugal, os médicos podem não considerar este diagnóstico.

No caso descrito, a identificação das larvas só foi possível com base nos dados clínico-epidemiológicos e na morfologia do esqueleto cefalofaríngeo da larva L1.

## CASO

Homem de 26 anos, residente nos EUA e de férias no sul de Portugal (Algarve), sofreu um trauma súbito no olho direito durante uma caminhada numa zona rural, seguido de sensação de corpo estranho e dificuldade em abrir o olho. No mesmo dia, o paciente dirigiu-se ao serviço de urgência do hospital de Lagos com quadro de dor ocular.

O exame físico revelou a presença de doze larvas vivas na córnea, juntamente com uma leve inflamação da conjuntiva. As larvas foram removidas com a ajuda de uma zaragatoa e colocadas em tubo estéril e seco para análise microbiológica. O olho foi lavado e aplicado antibiótico tópico. Após 24 horas com o olho protegido, o paciente foi referenciado à consulta de oftalmologia onde foi confirmado que todas as larvas haviam sido removidas. Não houve evidência de lesão tecidual, e o paciente teve alta medicado com antibiótico e corticoide tópicos.

A identificação molecular da larva foi tentada por meio da subunidade I do citocromo oxidase (COI). Foi realizada a amplificação por biologia molecular (PCR) do DNA mitocondrial utilizando os *primers* LCO1490 e HCO2198. A amostra de larva recebida no laboratório foi homogeneizada com 200 µl de tampão de lise utilizando um *Mixer Mill MM400*<sup>®</sup> (Retsch GmbH, Haan, Alemanha) com uma esfera de aço de 3 mm. Os ácidos nucleicos foram extraídos do homogeneizado obtido (NUCLISENS<sup>®</sup> *easyMAG*, Biomérieux). A extração total dos ácidos nucleicos foi feita na plataforma automatizada NUCLISENS<sup>®</sup> *easyMAG* (Biomérieux) e eluída em 60 µl de solução tampão.

Para a amplificação por PCR, foram utilizados 10 µl de DNA e 10 pmol de cada *primer*, adicionados ao reagente *FastStart PCR master*, com volume final de reação de 25 µl (Roche, Basileia, Suíça). As condições de PCR foram as seguintes: desnaturação a 95 °C por 3 minutos, 40 ciclos de 94 °C por 20 s, 50 °C por 20 s e 72 °C por 30 s, com uma extensão final a 72 °C por 5 minutos.

Como a amplificação resultou numa banda fraca (observada por eletroforese em gel de agarose a 1,5% - TAE 1x), foi realizada uma segunda rodada de amplificação com o mesmo protocolo de PCR. Os amplicons obtidos foram purificados com o kit *JETquick PCR Product Purification Spin* (GENOMED GmbH, Löhne, Alemanha) e sequenciados com o analisador genético ABI Prism 3130<sup>®</sup> (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

A identificação molecular não foi possível devido à baixa concentração de DNA obtida a partir da extração de uma única larva. Os resultados da sequência não apresentaram qualidade suficiente para obtenção da sequência do COI.

Um traço larval foi estudado sob um estereomicroscópio utilizando chaves de identificação para larvas de terceiro estágio de moscas causadoras de miíase. As placas espiraculares posteriores não estavam presentes no traço larval, pelo que a identificação foi baseada no esqueleto cefalofaríngeo. Ambas as estruturas são comumente utilizadas na identificação morfológica.

A larva foi morfológicamente identificada como larva de *Oestrus ovis* (família *Oestridae*), e o diagnóstico de oftalmomiíase foi confirmado (Figura 1).



Figura 1

## RESULTADO E SEGUIMENTO

O doente regressou aos EUA, não tendo relatado consequências a longo prazo.

## DISCUSSÃO

A miíase humana tem uma distribuição mundial, com maior número de espécies e maior abundância nas regiões tropicais e subtropicais de países com baixos níveis socioeconômicos. Os principais fatores de risco são a falta de higiene e a presença de lesões supurativas (fator importante para a deposição de ovos). A maioria dos casos é diagnosticada de forma acidental e o verdadeiro impacto da miíase é desconhecido devido à subnotificação e à ausência de identificação do agente causador.

A miíase pode ser classificada em: miíase hematófaga (alimentação de sangue), miíase cutânea (formas de ferida, furuncular e migratória), miíase cavitária (ex.: ocular, oral, nasofaríngea), miíase urogenital e intestinal. A pseudomiíase é caracterizada pela ingestão acidental de larvas. A forma mais frequente é a miíase cavitária, onde a infestação recebe

o nome do órgão atingido, como no caso da oftalmomiíase. A miíase ocular ocorre com mais frequência na primavera e no verão, sendo mais comumente causada por *Oestrus ovis*, mas outras espécies já foram descritas, como *Gasterophilus sp.*, *Wohlfahrtia magnifica*, *Chrysomya bezziana*, *Cordylobia anthropophaga* e *Dermatobia hominis*, entre outras.

*Oestrus ovis* é uma espécie de mosca amplamente distribuída, conhecida pelo seu parasitismo, que pode ter grande impacto na saúde veterinária<sup>(9,10)</sup>, com perdas significativas na produção animal. Afeta principalmente ovelhas, cervos e cabras, mas pode ser encontrada de forma ocasional em bovinos, cavalos, cães e humanos.

O ciclo de vida de *Oestrus ovis* inicia-se com a postura dos ovos, que são fecundados e eclodem dentro do corpo da fêmea, formando larvas com cerca de 1 mm. A fêmea deposita algumas larvas, numa pequena gota de muco, diretamente na narina do animal hospedeiro. As larvas de primeiro estágio atravessam a mucosa nasal, entram nos seios nasais e evoluem para o segundo estágio larval. As larvas de segundo estágio crescem até cerca de 20 mm (4/5 de polegada) de comprimento. Quando estão completamente desenvolvidas, descem pelo canal nasal e caem no solo, onde se enterram para pupação. O ciclo de vida depende da temperatura ambiente — pode durar de 25 a 35 dias em clima quente, mas até 10 meses em climas frios. A pupa leva de 3 a 9 semanas para maturar, após o que emerge a mosca adulta.

A oftalmomiíase é considerada externa<sup>(4,6,7,13)</sup> (ou superficial) quando a infestação ocorre nos tecidos superficiais do olho, e interna quando há invasão intraocular. Na forma externa, a miíase conjuntival é a mais frequente. *Oestrus ovis* é o principal agente da oftalmomiíase externa, e a maioria dos casos é observada em áreas rurais do norte e sul com clima mais fresco. Os sintomas são agudos e relacionados ao movimento e à resposta inflamatória induzida pela larva. O número de larvas observadas varia (entre 5 e 18).

A oftalmomiíase interna pode ser uma complicação da forma externa, com menor número de larvas envolvidas (geralmente uma) e sintomas mais severos: olho vermelho, dor ocular, perda de visão e escotomas. Outras espécies de moscas associadas à oftalmomiíase interna são *Dermatobia hominis* e *Hypoderma spp.*

No caso apresentado, foi considerada a possibilidade de miíase ocular externa com base no contexto epidemiológico e no início agudo e característico dos sintomas, como sensação de corpo estranho e dor ocular. A visualização macroscópica de doze larvas no olho afetado e posterior identificação morfológica da espécie *Oestrus ovis* em laboratório de referência confirmaram o diagnóstico. A identificação molecular foi tentada após a identificação morfológica, mas a quantidade de material biológico disponível era pequena e de baixa qualidade, inviabilizando a extração de DNA, amplificação por PCR e, conseqüentemente, a sequenciação do gene COI.

Complicações como úlceras de córnea, descolamento de retina, celulite orbitária e perda de visão são raras e não ocorreram neste paciente.

O tratamento da miíase ocular externa consiste na aplicação de anestésico local (que também reduz a atividade das larvas), seguida da sua remoção mecânica. Anti-histamínicos e antibióticos tópicos podem ser prescritos, se necessário.

Embora alguns casos tenham sido descritos em diversos países europeus, em Portugal existem apenas dois casos de miíase previamente publicados. Este é o primeiro caso descrito de miíase ocular com identificação da espécie em Portugal, e serve como alerta para a possibilidade destas infestações em países do sul da Europa<sup>(13)</sup>, especialmente em áreas rurais. Destaca, ainda, a importância do diagnóstico e tratamento precoce, com remoção rápida das larvas, de forma a evitar lesões residuais.

## PONTOS A DESTACAR

- Este caso serve como chamada de atenção para um diagnóstico pouco comum em países do sul da Europa.
- A remoção precoce da larva é crucial para reduzir o processo inflamatório e evitar lesões oftálmicas.
- O diagnóstico de miíase cavitária é desafiador, especialmente para clínicos que não estão familiarizados com esta doença.

## REFERÊNCIAS

1. Folmer, O.; Black, M.; Hoeh, W.; Lutz, R.; Vrijenhoek, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 1994, 3, 294–299.
2. Service M. *Medical entomology for students*. 5th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2008. p. 289.
3. Bizarro, J. M. S.; Nina, J. S.; Ribeiro, H.; Faustino, M. R. M. *Miases: Revisão a propósito de um caso clínico por Oestrus ovis Linnaeus*. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas*, Lisboa, v. 18, n.1, p. 75-82, 1995.
4. James A. Cameron, Nader M. Shoukrey, Abdullah A. Al-Garni. Conjunctival Ophthalmomyiasis Caused by the Sheep Nasal Botfly (*Oestrus ovis*). *American journal of Ophthalmology*, 112: 331-334, 1991.
5. André Marques, António Rodrigues, Silvana Belo, Marta Esteves Guedes. *CASE REPORT Unusual panuveitis in a child: toxocarías associated with ocular myiasis*.
6. Suzzoni-Blatger, L. Villeneuve, B. Morassin, J. Chevallier, *Un cas d'ophthalmomyiasis externe humaine à Oestrus ovis L. à Toulouse (France)*, Volume 1076, Issue 10, 12/2000, Pages 975-1069.
7. Otranto D, Cantacessi C, Santantonio M, Rizzo G. *Oestrus ovis causing human ocular myiasis: from countryside to town centre*. *Clin Exp Ophthalmol* 2009 Apr;37(3):327-8.
8. Basmacıyan L, Gabrielle PH, Valot S, et al. *Oestrus ovis external ophthalmomyiasis: a case report in Burgundy France*. *BMC Ophthalmol*. 2018;18(1):335.
9. McGarry J, Penrose F, Collins C. *Oestrus ovis infestation of a dog in the UK*. *J Small Anim Pract*. 2012;53(3):192-193.
10. Einer H, Ellegård E. *Nasal myiasis by Oestrus ovis second stage larva in an immunocompetent man: case report and literature review*. *J Laryngol Otol*. 2011;125(7):745-746.
11. Fabio Francesconi, Omar Lupi. *Myiasis*. *Clinical Microbiology Reviews* Jan 2012, 25 (1) 79-105.
12. Sucilathangam G. and al. *External Ophthalmomyiasis which was Caused by Sheep Botfly (Oestrus ovis) Larva: A Report of 10 Cases*. *Journal of clinical and diagnostic research*. 2013 March, vol7(3):539-542.
13. Pupiç-Bakrač, A., Pupiç-Bakrač, J., Škara Kolega, M. et al. *Human ophthalmomyiasis caused by Oestrus ovis—first report from Croatia and review on cases from Mediterranean countries*. *Parasitol Res* 119, 783–793 (2020).

## *Portadores de translocações equilibradas e abortos recorrentes - a propósito de um caso*

Ana Pereira, Biol, EGH<sup>1</sup>  
Ana Sousa, Biol, EGH<sup>1</sup>  
Teresa Lourenço, MD<sup>1</sup>  
Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>  
José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>  
Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Genética - Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

### SUMÁRIO

As anomalias cromossómicas estruturais equilibradas, em particular as translocações recíprocas, constituem uma das causas genéticas mais frequentemente associadas à perda gestacional recorrente. Apresentamos o caso de uma mulher de 38 anos, com dois abortos espontâneos e história familiar sugestiva, nomeadamente múltiplas perdas gestacionais na mãe e na irmã portadora de uma translocação equilibrada familiar. A presença de translocações equilibradas pode originar gâmetas com desequilíbrios cromossómicos, resultando em infertilidade, abortos ou descendência com malformações. A identificação deste tipo de alteração permite não só estabelecer a causa das perdas reprodutivas, como também orientar adequadamente o aconselhamento genético e considerar estratégias reprodutivas como o diagnóstico genético pré-implantação ou o diagnóstico pré-natal em futuras gestações.

### ABSTRACT

Balanced structural chromosomal abnormalities, particularly reciprocal translocations, are one of the genetic causes most frequently associated with recurrent pregnancy loss. We present the case of a 38-year-old woman with two spontaneous abortions and a suggestive family history, namely multiple pregnancy losses in her mother and sister, who is a carrier of a balanced familial translocation. The presence of balanced translocations can lead to gametes with chromosomal imbalances, resulting in infertility, miscarriages or offspring with malformations. Identifying this type of disorder not only allows the cause of reproductive losses to be established, but also enables appropriate genetic counselling and consideration of reproductive strategies such as pre-implantation genetic diagnosis or prenatal diagnosis in future pregnancies.

## INTRODUÇÃO

Vários estudos sobre perturbações da gravidez indicam que o aborto espontâneo é uma das complicações frequentes, totalizando cerca de 10-15% das gestações clinicamente reconhecidas. No entanto, o aborto recorrente, atualmente estabelecido pela ESHRE (*European Society of Human Reproduction and Embriology*) como a ocorrência de 2 ou mais perdas gestacionais, não é tão frequente e ocorre apenas em cerca de 1-2% das mulheres <sup>(1)</sup>. Embora sejam conhecidos alguns dos fatores de risco para a perda gestacional recorrente, tais como o Síndrome Anti Fosfolipídico, alterações endócrinas, alterações cromossômicas, algumas anomalias uterinas entre outros, a grande maioria dos casos permanecem sem etiologia conhecida.

As alterações cromossômicas são a causa genética mais frequente, responsável pelas perdas gestacionais recorrentes <sup>(2)</sup>.

Em cerca de 2-8% dos casais com perdas gestacionais recorrentes, pelo menos um deles é portador de uma anomalia cromossômica, sendo as mais frequentes as anomalias cromossômicas estruturais equilibradas. Em casais jovens com história familiar de abortos recorrentes aumenta a probabilidade de um dos elementos do casal poder ser portador de uma alteração cromossômica equilibrada. As anomalias cromossômicas estruturais equilibradas incluem as translocações recíprocas (61%), as translocações Robertsonianas (16%), as inversões pericêntricas (8%) e as inversões paracêntricas (8%) <sup>(3,4)</sup>.

A translocação recíproca, a mais frequente das alterações cromossômicas estruturais, é uma anomalia que envolve pelo menos duas quebras em dois cromossomas diferentes e a troca entre eles dos segmentos respetivos. Essa alteração pode ser equilibrada ou desequilibrada, ocorrer de novo ou ser herdada. Geralmente, um portador de uma translocação equilibrada não apresenta anomalias fenotípicas, no entanto tem um risco aumentado, em relação ao não portador, de apresentar alterações reprodutivas tais como: infertilidade, abortamentos de repetição e descendência com malformações e/ou atraso mental.

## CASO

Apresentamos o caso clínico de uma mulher de 38 anos de idade, saudável, a quem foi solicitado o estudo citogenético por ter uma história pessoal de 2 abortos espontâneos. O primeiro ocorreu em 2008, numa gestação de cerca de 10 semanas, e o segundo ocorreu em 2019, às 7 semanas de gestação.

Tem um filho de 4 anos de idade, do sexo masculino, aparentemente, com um desenvolvimento psicomotor adequado para a idade.

Na história familiar, há a realçar, que nos antecedentes obstétricos da sua progenitora, atualmente com 70 anos de idade, existe referência a 4 abortos espontâneos, os quais ocorreram sempre entre as 6 e as 8 semanas de gestação e, no intervalo de outras gestações eficazes <sup>(3)</sup>. Há ainda a referir que a sua irmã, de 48 anos de idade, no intervalo de duas gestações normais, teve também ela 2 abortos espontâneos, os quais ocorreram às 6 e 7 semanas de gestação respetivamente.

## MÉTODO

A realização do cariótipo a partir de sangue periférico foi efetuada de acordo com um protocolo standard; os cromossomas foram corados pela técnica de *G-banding*; foram analisadas 20 metafases através do sistema de cariotipagem automatizado Cytovision (Leica) e a alteração identificada no estudo citogenético realizado foi reportada de acordo com o *International System for Human Cytogenomic Nomenclature* (2020).

## RESULTADO

O estudo citogenético realizado ao casal, revelou na mulher, a existência de uma translocação recíproca e aparentemente equilibrada entre o braço longo de um dos cromossomas 9 e o braço longo de um dos cromossomas 16 com pontos de quebra em 9q34.1 e 16q22 – (Figura 1).

Posteriormente foi realizado o estudo citogenético aos seus pais confirmando que a translocação (9;16) foi herdada do seu pai – (Figura 2). A irmã do caso index que apresentava história de abortos recorrentes mostrou também ser portadora da mesma translocação familiar – (Figura 3).



Figura 1. Cariótipo: 46,XX,t(9;16)(q34.1;q22).



Cariótipo

Figura 2. Cariótipo: 46,XY,t(9;16)(q34.1;q22).



Figura 3. Cariótipo: 46,XX,t(9;16)(q34.1;q22).

## DISCUSSÃO

A perda gestacional é sempre uma situação que acarreta um forte impacto físico e emocional para qualquer casal pelo que, a identificação das suas causas é extremamente importante para um adequado acompanhamento destas famílias. Apresentámos o caso de uma família, portadora de uma translocação recíproca e equilibrada entre o cromossoma 9 e o cromossoma 16, com história de abortos recorrentes em pelo menos 2 gerações.

As translocações cromossômicas equilibradas são a causa genética mais frequente em casais que experienciam perda gestacional recorrente.

Os portadores de translocações recíprocas apresentam risco aumentado de descendência com alterações cromossômicas equilibradas, portanto iguais às dos seus progenitores, ou desequilibradas, resultantes da presença de monossomias e/ou trissomias parciais dos cromossomas envolvidos.

Algumas das alterações desequilibradas não serão compatíveis com uma gestação de termo, sendo também previsível uma incidência aumentada de abortos espontâneos e nados vivos com síndromes específicos resultantes de anomalias

múltiplas congénitas e/ou com alterações do desenvolvimento psico-motor.

Algumas das alterações desequilibradas não serão compatíveis com uma gestação de termo, sendo também previsível uma incidência aumentada de abortos espontâneos e nados vivos com síndromes específicos resultantes de anomalias múltiplas congénitas e/ou com alterações do desenvolvimento psico-motor.

Identificar a presença de alterações cromossômicas em casais com abortos recorrentes permite conhecer a causa dos mesmos, permite avaliar o risco de recorrência em futuras gravidezes, bem como oferecer a possibilidade de um diagnóstico pré-natal de anomalias cromossômicas nessas mesmas gestações.

Neste contexto, sempre que seja diagnosticada uma alteração cromossômica num dos elementos do casal, estará indicada uma consulta de Aconselhamento Genético, com indicação da realização de Diagnóstico Pré-Natal e, em casos particulares, proposto o recurso ao Diagnóstico Genético Pré-Implantação, em futuras gestações.

Está também indicado o estudo citogenético dos progenitores no sentido de estabelecer a herança da alteração cromossômica encontrada, de modo a poderem ser identificados eventuais familiares em risco<sup>(5)</sup>.

## PONTOS A DESTACAR

- Translocações recíprocas equilibradas são uma causa genética frequente e silenciosa de aborto recorrente — o portador é geralmente fenotipicamente normal, mas tem risco reprodutivo aumentado.
- A necessidade de aconselhamento genético após a identificação de uma translocação equilibrada, para avaliar risco reprodutivo futuro e informar sobre opções reprodutivas tais como diagnóstico genético pré-implantação (DGPI) ou diagnóstico pré-natal (DPN).
- Este estudo mostra a importância de incluir a história familiar nos casos de aborto recorrente — um dado muitas vezes negligenciado.

## REFERÊNCIAS

1. ESHRE Early Pregnancy Guideline Development Group. April, 2019.
2. Zirui Dong et al. *Genome Sequencing Explores Complexity of Chromosomal Abnormalities in Recurrent Miscarriage*. *The American Journal of Human Genetics* 105, 1102–1111, December 5, 2019.
3. Pal AK, Ambulkar PS, Waghmare JE, Wankhede V, Shende MR, Tarnekar AM. *Chromosomal aberrations in couples with pregnancy loss: A retrospective study*. *J Hum Reprod Sci* 2018;11:247-53.
4. M.T.M. Franssen et al. *Reproductive outcome after PGD in couples with recurrent miscarriage carrying a structural chromosome abnormality: a systematic review*. *Human Reproduction Update*, Vol.17, No.4 pp. 467–475, 2011.
5. Gardner RJM, Sutherland GR. *Chromosome abnormalities and genetic counselling*. 5th ed. (Oxford Monographs on Medical Genetics); 2018.

## *Recém-nascido com tetrassomia 18p após um resultado NIPT de baixo risco - a importância de um bom aconselhamento pré-teste*

Ana Pereira, Biol, EGH<sup>1</sup>  
Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>  
Teresa Lourenço, MD<sup>1</sup>  
Graziele Cruz, BIOCH<sup>2</sup>  
José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>  
Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Genética, Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

<sup>2</sup> Unidade de Diagnóstico Pré-Natal, Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

### SUMÁRIO

O teste pré-natal não invasivo tem vindo a assumir um papel central no rastreio de aneuploidias fetais, oferecendo elevada sensibilidade para as trissomias 13, 18 e 21. Contudo, a sua crescente utilização como alternativa a técnicas invasivas levanta preocupações quanto à compreensão das suas limitações. Apresentamos o caso de um recém-nascido com fenótipo dismórfico e diagnóstico pós-natal de tetrassomia 18p, apesar de um resultado NIPT pré-natal de baixo risco. A tetrassomia 18p é uma condição rara, associada a idade materna avançada, e manifesta-se por dismorfias craniofaciais, atraso do neurodesenvolvimento e outras alterações. Este caso reforça a importância de um aconselhamento genético pré-teste claro e completo, alertando que o NIPT, apesar de valioso, não substitui o diagnóstico citogenético nem exclui anomalias raras.

### ABSTRACT

Non-invasive prenatal testing has increasingly taken on a central role in foetal aneuploidy screening, with high sensitivity for trisomies 13, 18, and 21. However, its growing use as an alternative to invasive techniques raises concerns about the understanding of its limitations. We present the case of a newborn with a dysmorphic phenotype and a postnatal diagnosis of tetrasomy 18p, despite a low-risk prenatal NIPT result. Tetrasomy 18p is a rare condition associated with advanced maternal age, manifested by craniofacial dysmorphism, neurodevelopmental delay, and other abnormalities. This case reinforces the importance of clear and comprehensive genetic counselling prior to testing, emphasising that NIPT, although valuable, does not replace cytogenetic diagnosis nor does it rule out rare anomalies.

## INTRODUÇÃO

Desde 2012, que o teste pré-natal não invasivo (NIPT– *Noninvasive Prenatal Testing*) é utilizado, em todo o mundo, como teste de primeira linha ou aplicado de forma contingente no rastreamento das trissomias 13, 18 e 21. O teste é baseado em métodos moleculares de elevada complexidade que analisam o DNA placentar livre, a partir de plasma de sangue materno. Estudos recentes sugerem que o NIPT pode substituir o rastreamento combinado convencional para as síndromes de Patau, Edwards e Down realizado a todas as grávidas, a partir das 10 semanas. Os vários testes, disponíveis comercialmente, utilizam diferentes metodologias, todas elas altamente complexas e podem representar um desafio para os profissionais de saúde no que diz respeito ao aconselhamento genético aos casais que optam por realizar NIPT, tendo em conta que esta é uma área em contínua e rápida evolução <sup>(1,2,3)</sup>.

Neste artigo descrevemos o caso de uma mulher de 39 anos de idade que optou por fazer um teste pré-natal não invasivo às 15 semanas de gestação, como teste de rastreio para as principais aneuploidias. Este teste foi realizado em alternativa à amniocentese devido à idade materna avançada e resultou num *baixo risco* para as principais aneuploidias. Às 37 semanas e 6 dias de gestação, nasceu um bebé do sexo masculino por cesariana eletiva devido a uma restrição de crescimento fetal.

## MÉTODOS

O estudo genético efectuado ao recém-nascido após o nascimento foi um array (aCGH) e o mesmo foi completado por citogenética convencional (cariótipo). Ambos os testes foram realizados através de amostra de sangue periférico.

a) aCGH:

A amostra foi hibridada com uma amostra comercial de referência de DNA humano masculino (Promega biotech). Para a detecção de variações no número de cópias (CNV), relacionadas com o atraso mental e/ou síndromes dismórficas, foi usado o Agilent array-CGH (fabricado por Agilent Tech). A análise dos dados foi realizada usando o genoma de referência hg19 e a análise estatística foi realizada com o software ADM-2. A análise do aCGH define como 5 o número mínimo de sondas consecutivas para considerar como válidas as CNVs detectadas. As regiões sindromáticas incluídas neste formato são cobertas por uma resolução média estimada de aproximadamente 100 kb e de 350bp para o resto do genoma

b) Cariótipo:

Para a caracterização citogenética do resultado obtido por arrayCGH, foram realizadas 2 culturas independentes de linfócitos estimulados por fitohemaglutinina a partir de uma amostra de sangue periférico. A colheita das culturas foi realizada após 72 horas de incubação a 37°C com *colcemid* e foram cariotipadas 30 células através do sistema automatizado de cariotipagem Cytovision (Leica). Os cromossomas foram previamente corados por bandas GTG e a análise citogenética foi realizada de acordo com os parâmetros disponibilizados pelo Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana (ISCN 2016).

## RESULTADO

O NIPT realizado às 15 semanas de gestação revelou um *baixo risco* de trissomia dos cromossomas 13, 18 e 21. Após o parto

e perante um fenótipo dismórfico no recém-nascido, incluindo fácies peculiar, hipospadias, orelhas baixamente implantadas, hipertonia dos membros e palato em ogiva, foi solicitada um aCGH.

A análise de aCGH detectou uma triplicação de todo o braço curto do cromossoma 18 (Figura 1).

A análise citogenética realizada revelou a presença de um cromossoma metacêntrico marcador supranumerário em todas as células analisadas, constituído por dois braços curtos do cromossoma 18 (47,XY,+mar) (Figura 2), confirmando a presença de um isocromossoma 18p.

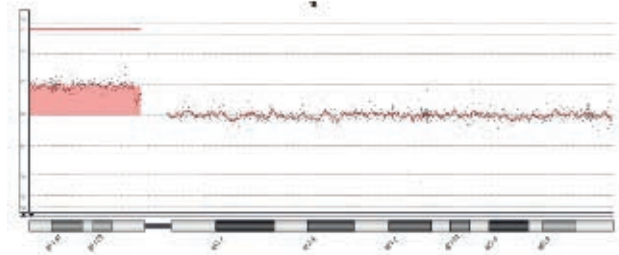


Figura 1. Perfil anormal do arrayCGH (Agilent 60K) - triplicação de todo o braço curto da chr18. arr [hg19] 18p11.32p11.21 (14.316-14.915.809) x4



Figura 2. Análise citogenética do recém-nascido do sexo masculino, mostrando dois cromossomas 18 normais (à esquerda) e o isocromossoma 18p supranumerário (à direita).

Aos progenitores foi efectuado estudo citogenético no sentido de determinar a hereditariedade do isocromossoma 18p e para avaliar com precisão o risco de recorrência em futuras gestações. Ambos tinham cariótipos normais.

## CONCLUSÃO

Os isocromossomas são cromossomas supranumerários, constituídos por duas cópias do mesmo braço do cromossoma formando cada braço uma imagem em espelho do outro braço, resultando numa tetrassomia do braço envolvido. O isocromossoma 18p resulta na tetrassomia 18p (OMIM# 614290) e foi descrito pela primeira vez em 1963 por Froland. É uma alteração cromossômica rara com poucos casos descritos não mosaicos, com uma sobrevivência média além dos dois anos de idade. Ocorre com uma frequência de 1 em 140.000 nados vivos, afectando sexo feminino e masculino de igual modo.

A maioria dos casos descritos de tetrassomia 18p é detetada após o nascimento e tem uma incidência de casos *de novo* muito associada à idade materna avançada. Estudos científicos sugerem que o isocromossoma 18p ocorre por não disjunção na meiose II, frequentemente observada em mulheres com idade avançada <sup>(4)</sup>.

As principais características da tetrassomia 18p são: baixo peso ao nascimento, hipotonia, défice cognitivo moderado a severo, atraso da linguagem acentuado, pouca ou nenhuma capacidade de autoalimentação. Apresentam também micro-

cefalia, dolicocefalia e alterações craniofaciais tais como face de forma oval, orelhas de implantação baixa, estrabismo, nariz pequeno, filtro longo, o lábio superior central sobrepondo-se ao lábio inferior, boca pequena e arco palatino acentuado <sup>(5,6)</sup>.

A incorporação do NIPT na prática obstétrica tem apresentado um grande impacto. O NIPT permite alcançar sensibilidades e especificidades mais elevadas no rastreio pré-natal de aneuploidias dos cromossomas 13, 18 e 21, com taxas mais baixas de falsos-positivos, em comparação com os marcadores séricos maternos. Adicionalmente, o NIPT permite obter resultados de forma mais precoce, ainda no primeiro trimestre, e resulta num decréscimo de procedimentos invasivos, associados a um risco de perda gestacional após o mesmo. Embora seja claro que esta nova opção de rastreio possa oferecer grandes benefícios para as mulheres preocupadas com o risco de ter um bebé com uma aneuploidia comum, o aconselhamento genético adequado, antes do teste, é essencial para garantir que as futuras mães são informadas das limitações do NIPT.

As mulheres grávidas que optam pela realização de NIPT necessitam de informação sobre as vantagens e as limitações

deste método de rastreio pré-natal tais como o facto deste teste não detetar alterações parciais dos cromossomas 13, 18 e 21 (como neste caso em particular) e um resultado de baixo risco não garante uma gravidez sem alterações. É preciso considerar que as mulheres submetidas ao teste e que obtêm um resultado de baixo risco podem ficar com uma falsa sensação de segurança. Assim, é necessário fazer um aconselhamento genético adequado antes da realização do teste, explicando detalhadamente as suas vantagens e desvantagens, bem como as limitações em comparação com os outros métodos, garantindo igualmente um bom acompanhamento obstétrico <sup>(7)</sup>.

## PONTOS A DESTACAR

- O aconselhamento pré-teste é fundamental para uma adequada compreensão das limitações e vantagens da realização do teste.
- O diagnóstico genético, citogenético ou molecular, continua indispensável nos casos com anomalias ecográficas, mesmo após rastreios “negativos”.
- Este caso ilustra o risco da falsa sensação de segurança proporcionada por um resultado de NIPT de baixo risco.

## REFERÊNCIAS

1. Elena Kypri, Marios Ioannides, Achilleas Achilleos, George Koumbaris, Philippos Patsalis and Markus Stumm\* *Non-invasive prenatal screening tests –update 2022*; J Lab Med 2022.
2. Thomas Liehr *et al*: *Non invasive Prenatal Testing – When Is It Advantageous to Apply?*. *Biomed Hub* 2017;2:458432.
3. Anthony R. Gregg *et al*: *Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics*. *Genetics in Medicine*.28 July 2016.
4. Kotzot D, Bundscherer G, Bernasconi F, *et al*. *Isochromosome 18p results from maternal meiosis II nondisjunction*. *Eur J Hum Genet*. 1996;4:168–174.
5. *Prenatal Diagnosis of Mosaic Tetrasomy 18p in a Case without Sonographic Abnormalities*. *IJMCM*. 2017 Winter; 6(1): 61–65.
6. Peng *et al*; *Prenatal genetic diagnosis of tetrasomy 18p from maternal trisomy 18p: a case report*; *Molecular Cytogenetics* (2022).
7. Christopher Zahn; *ACOG Statement on FDA Warning on Genetic Non-Invasive Prenatal Screening Tests*; Apr 20, 2022.

## *Pesquisa de células LE. Um teste ainda útil para casos não suspeitos de Lúpus Eritematoso Sistémico (LES)?*

Cândido Silva MD<sup>1</sup>  
Margarida Albuquerque, MD<sup>1</sup>  
Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>  
José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>  
Germano de Sousa, PhD<sup>1</sup>

Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

1

### SUMÁRIO

Os autores descrevem um caso de uma doente do sexo feminino diagnosticada com lúpus eritematoso sistémico (LES) com uma apresentação clínica exuberante num contexto de febre e alterações mucocutâneas. A investigação laboratorial revelou alterações na morfologia do aspirado da medula óssea compatíveis com as células descritas em 1948 por Hargraves, a que chamamos células LE. Apesar de na altura ser considerado critério de diagnóstico, atualmente é considerado um teste de baixa sensibilidade, sendo substituído pela detecção de anticorpos antinucleares (ANA) por imunofluorescência indirecta em células Hep2. Em casos clínicos não suspeitos de LES (nomeadamente, para esclarecimento de citopenias), identificar células LE pode fornecer uma orientação importante para o diagnóstico e não deve ser desvalorizada na prática clínica.

### ABSTRACT

The authors describe a case of a female patient diagnosed with systemic lupus erythematosus (SLE) with an exuberant clinical presentation in the context of fever and mucocutaneous manifestations. Laboratory investigation revealed changes in bone marrow aspirate morphology consistent with the cells described in 1948 by Hargraves, which we call LE cells. Although at the time it was considered a diagnostic criterion, it is now considered a low sensitivity test and has been replaced by antinuclear antibody (ANA) detection by indirect immunofluorescence in Hep2 cells. In clinical cases where SLE is not suspected (namely, to clarify cytopenia), identifying LE cells can provide important guidance for diagnosis and should not be underestimated in clinical practice.

## CASO

MOPR, sexo feminino, 53 anos, leucodérmica, com quadro clínico de anorexia, astenia marcada, emagrecimento, odinofagia e febre alta com cerca de 1 mês de evolução. No exame objectivo apresentava edema do palato, úlceras da mucosa oral, lesões exantemáticas urticariformes da região do dorso e membros inferiores e pequenas adenopatias cervicais e inguinais.

## INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL

Dos exames complementares de diagnóstico, salienta-se: anemia normocítica e normocrômica, hiporregenerativa (Hb – 8.6 g/dL, VGM – 88,5 fL, HGM – 29.1 pg, reticulócitos –  $0.04 \times 10^9/L$ ), leucopenia com linfocitopenia (GB –  $3.0 \times 10^9/L$ , L –  $0.47 \times 10^9/L$ ), plaquetas em número normal ( $230 \times 10^9/L$ ), VS elevada (63 mm), ferritina elevada (1217 ng/mL; valor de referência 10 a 291 ng/mL).

No esfregaço de sangue periférico observaram-se *rouleaux* eritrocitários, sem outras alterações significativas. O estudo imunológico revela, consumo da fração C3 e C4 do complemento, 48,25 mg/dl (90-180) e 7,20 mg/dl (20-40) respectivamente, com ds-DNA a positivo após confirmação por metodologia de referência (imunofluorescência indireta em *Crithidia luciliae*) (figura 1).

A pesquisa de anticorpos antinucleares por Imunofluorescência indireta (IFI) em células Hep2, foi positiva em título elevado (640), revelando um padrão homogêneo e um padrão citoplasmático fino granular denso (figura 2).

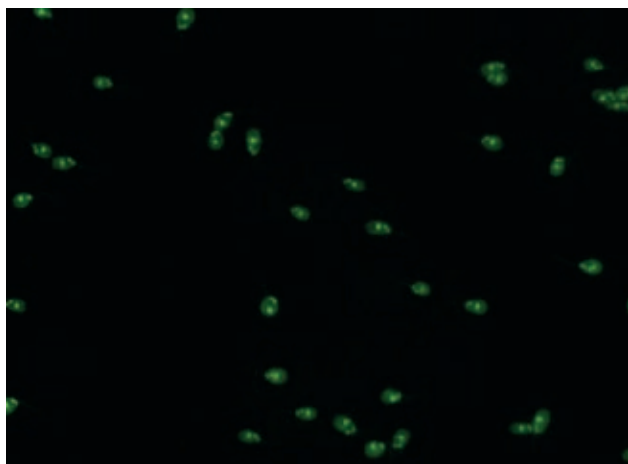


Figura 1. Imunofluorescência indireta em *Crithidia luciliae*.

O estudo dos autoanticorpos específicos pela metodologia de imunoblot revela a presença de autoanticorpos anti-histonas, anti-nucleossomas e de anticorpos anti-ribossomal P, todos em títulos elevados (figura 3).

A avaliação da função renal revela uma diminuição acentuada da clearance da creatinina 64 ml/min (88-128), bem como a presença de proteinúria, 0,26 g/24h (<0,15).

Realizou biópsia cutânea que não excluiu Lupus Eritematoso Subagudo.

Para esclarecimento de bicitopenia e do quadro febril foi efectuado estudo morfológico da medula óssea. No aspirado de medula óssea (MO), colheita efectuada para tubo com anticoagulante (EDTA), observaram-se algumas células LE (neutrófilos com inclusões citoplasmáticas de material nuclear amorfo) (figura 4 e 5) e massas de material nuclear amorfo rodeadas por vários neutrófilos (rosetas) (figura 6 e 7).

## DISCUSSÃO

O Lupus Eritematoso Sistémico (LES) é uma doença autoimune multisistémica complexa de gravidade variável e que pode apresentar sinais e sintomas inespecíficos. Em alguns indivíduos podem predominar as alterações cutâneas e osteoarticulares e noutros pode afectar quase todos os órgãos e sistemas. Pela sua variabilidade e complexidade de apresentação, o *American College of Rheumatology (ACR)* estabeleceu em 1982, critérios de diagnóstico que foram posteriormente revistos em 1997 e, mais tarde reavaliados em 2012 pelo *Systemic Lupus International Collaborating Clinics*.

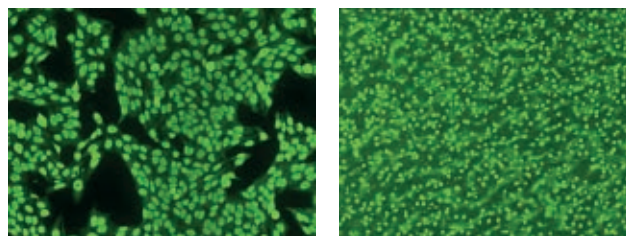


Figura 2. Imunofluorescência indireta em células Hep2 positiva com padrão homogêneo e padrão citoplasmático fino granular denso num título de 640.

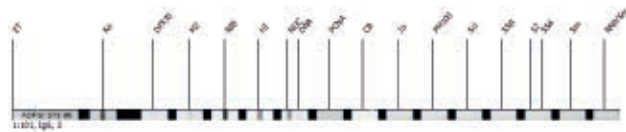


Figura 3. Imunoblot com autoanticorpos anti-histonas, anti-nucleossomas e anti-ribossomal P, positivos.

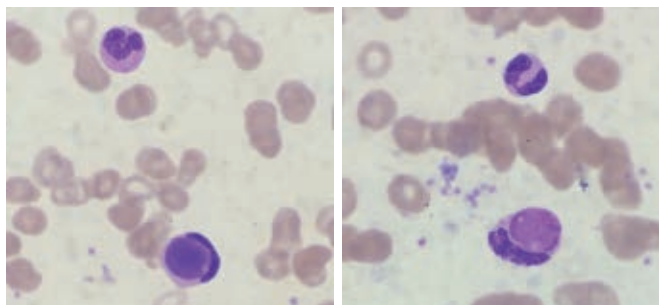


Figura 4.e 5. Esfregaço de sangue medular com Células LE, neutrófilos com inclusões citoplasmáticas de material nuclear amorfo. Coloração Hematoxilina e Eosina. Ampliação 1000X.

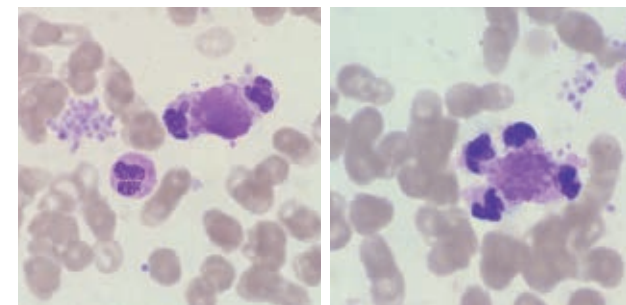


Figura 6 e 7. Esfregaço de sangue medular com massas de material nuclear amorfo rodeadas por vários neutrófilos (rosetas). Coloração Hematoxilina e Eosina. Ampliação 1000X.

Os sinais e sintomas devem estar presentes consecutiva ou simultaneamente:

1. Exantema malar: erupção no nariz e região malar em forma de borboleta
2. Exantema discóide: eritema disperso por todo o corpo, incluindo couro cabeludo
3. Fotossensibilidade
4. Úlceras na mucosa oral e nasal, geralmente indolores
5. Artrite não erosiva em duas ou mais articulações, com edema e derrame intra-articular.
6. Serosites
7. Alterações no sistema nervoso: convulsões e/ou psicose
8. Alteração função renal: proteinúria > 0,5 g/24 h ou cilindros celulares
9. Alterações Hematológicas: anemia hemolítica, leucopenia ou trombocitopenia
10. Alterações Imunológicas
  - Anti ds-DNA, ou
  - Anti-Sm, ou
  - Anticorpos anti-fosfolípido (APL) baseado em:
    - Níveis anormais de anticorpos anti-cardiolipina IgG ou IgM
    - Anticoagulante Lúpico positivo em método padronizado
    - Teste serológico falso positivo confirmado para *Treponema pallidum*, durante pelo menos 6 meses
11. ANA (anticorpos antinucleares) na ausência de terapêutica farmacológica <sup>(1,2)</sup>.

Para confirmação do diagnóstico de LES é necessária a presença de 4 ou mais destes critérios (pelo menos 1 clínico e 1 laboratorial) ou biópsia renal positiva para nefrite lúpica com ANA'S ou anticorpo anti- ds DNA positivos <sup>(1,2)</sup>.

O LES afeta indivíduos de todas as faixas etárias, etnias e sexo. No entanto, em mais de 75% dos casos, os pacientes são do sexo feminino, a maioria entre os 15 e os 44 anos de idade. A faixa etária mais frequente para o início da doença é entre os 18 e os 55 anos, no entanto pode manifestar-se em qualquer idade. Os familiares de pacientes com doenças autoimunes têm um risco superior de desenvolverem a doença, existindo assim uma predisposição familiar <sup>(2)</sup>.

Para o diagnóstico inicial de LES devem ser solicitados os seguintes testes laboratoriais:

1. Screening de ANA por IFI

2. Anticorpos anti-dsDNA

3. Anticorpos anti-Sm; U1 nRNP; SS-A; SS-B

4. Anticorpos anti-fosfolípido

5. Factores do complemento C3 e C4, e se ambos normais, CH50

6. Outros anticorpos com interesse: Anti-histonas, associado ao lupus induzido por fármacos), Anti-ribosomal P, associado a manifestações neuropsiquiátricas e Anti-nucleossomas <sup>(3,4)</sup>.

O método de referência para o estudo dos ANA é a Imunofluorescência indirecta (IFI) em substracto de células Hep2 (linhagem celular derivada de células do carcinoma da laringe humana). Estas células, pela sua elevada sensibilidade e especificidade, permitem observar um elevado número de padrões nucleares e citoplasmáticos, com destaque para o estudo de estruturas celulares de elevada importância decisional, como por ex. o elevado número e as dimensões das mitoses <sup>(5)</sup>. O padrão nuclear descrito como homogêneo, i.e, com uma distribuição homogênea da fluorescência por todo o nucleoplasma das células Hep2, com acentuada imunofluorescência dos cromossomas na placa equatorial da célula mitótica, está associado à presença de anticorpos anti-histonas e a anticorpos anti -ds DNA, que estão presentes em 95% dos casos com Lupus induzido por fármacos e em 50 a 80% dos doentes com LES ativo ou inativo <sup>(5)</sup>.

Uma célula LE é um leucócito, quase sempre um neutrófilo, que fagocitou material nuclear desnaturado de outra célula em resultado da actividade antinuclear existente no plasma<sup>(6)</sup>. Este fenómeno foi descrito pela primeira vez por Hargraves et al., na medula óssea, em 1948 <sup>(7)</sup>.

## CONCLUSÃO

A pesquisa de células LE foi considerada, durante décadas e antes da pesquisa dos autoanticorpos, um teste de rastreio e o teste mais específico para o diagnóstico do LES <sup>(8,9)</sup>. Embora atualmente seja considerado um teste redundante e de baixa sensibilidade, a observação das células LE num aspirado de medula óssea, sobretudo em casos clínicos não suspeitos de LES (nomeadamente para esclarecimento de citopenias), pode fornecer uma orientação importante para o diagnóstico e não deve ser desvalorizada na prática clínica <sup>(8,9)</sup>.

## REFERÊNCIAS

1. Hochberg MC. *Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [letter]*. *Arthritis Rheum* 1997;40:1725.
2. Bertsias G, Cervera R, Boumpas D: *Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis and Clinical Features*, *EULAR Textbook on Rheumatic Diseases*, 2012.
3. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. *The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus*. *Arthritis Rheum* 1982;25:1271---7.
4. Judy H. Cho, M.D, Peter K. Gregersen, M.D.: *Genomics and the Multifactorial Nature of Human Autoimmune Disease: N Engl J Med* 2011;365:1612-23.
5. Nancy Agmon-Levin, Jan Damoiseaux, Cees Kallenberg, et al: *International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies*. *Ann Rheum Dis* published online October 14, 2013 doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203863. Downloaded from ard.bmj.com on November 19, 2013 - Published by group.bmj.com.
6. Abbas Hashim Abdulsalam, Nafila Sabeeh, Abdulsalam Hatim and Barbara J. Bain: *Diagnosis of systemic lupus erythematosus from a bone marrow aspirate*. *American Journal of Hematology*, Jun 2012, Volume 87, Issue 6, page 620.
7. Hargraves M, Richmond H, Morton R: *Presentation of two bone marrow components; the "Tart" cell and the "L.E." cell*. *Proceedings of the Staff Meetings of the Mayo Clinic* 1948; 23:25–28.
8. Mukta Pujani Shivani Kushwaha Neha Sethi Anu Beniwal Shailaja Shukla: *Lupus erythematosus cells in bone marrow: the only clue to a previously unsuspected diagnosis of systemic lupus erythematosus*. *Acta Cytologica* 2013; 57: 652–654.
9. Xu M, MacNeal LA, Wittman BJ, Rutledge JC: *Is Identification of Lupus Erythematosus Cells Still Useful? A Case Report*. *Pediatr Dev Pathol*. 2016 Sep/Oct; 19(5):424-427. Epub 2015 Nov 18.

## *Deteção “acidental” de malária pelo contador hematológico*

Cândido Silva, MD<sup>1</sup>  
Marta Prata, MD<sup>1</sup>  
Helena Brízido, MD<sup>1</sup>  
Maria José Rego de Sousa, MD, MSc, PhD<sup>1</sup>  
José Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>  
Germano de Sousa, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

### SUMÁRIO

Reportamos um caso clínico de uma mulher de 59 anos residente em Angola, que se apresentou na consulta externa de Ortopedia por gonartrose. Durante os exames pré-operatórios, foi realizado um hemograma que revelou uma *flag* indicando a presença de eritrócitos parasitados, além de uma distribuição celular atípica no citograma. Um teste imunocromatográfico confirmou a infecção por malária, detectando antígeno de todas as espécies humanas do parasita. O esfregaço de sangue mostrou eritrócitos parasitados por *Plasmodium malariae*. Ao contactar o médico assistente, este informou que a paciente apresentava febre nas últimas semanas, e, embora suspeitasse de malária, não solicitou análises específicas, interpretando o quadro clínico como relacionado à gonartrose.

### ABSTRACT

We report a clinical case of a 59-year-old woman residing in Angola who presented at the orthopaedic outpatient clinic for gonarthrosis. During preoperative assessment, a CBC revealed a *flag* indicating the presence of parasitised erythrocytes, in addition to atypical cell distribution in the cytogram. An immunochromatographic test confirmed malaria infection, detecting antigens from all human species of the parasite. The blood smear revealed erythrocytes parasitised by *Plasmodium malariae*. When contacted, the attending physician reported that the patient had had a fever in recent weeks and, although he suspected malaria, he did not request specific tests, interpreting the clinical picture as related to gonarthrosis.

## INTRODUÇÃO

A malária é uma doença infecciosa que causa centenas de milhares de mortes por ano, principalmente em zonas endêmicas. Em 2018 estima-se que ocorreram 228 milhões de casos de malária no mundo e cerca de 405000 mortes nesse ano causadas por esta infecção <sup>(1)</sup>. A utilização dos novos contadores hematológicos pode ser útil no diagnóstico de malária, principalmente nos casos em que não há suspeita clínica e em áreas não endêmicas <sup>(2)</sup>. Apesar do esfregaço de sangue periférico ser o método *gold standard* para o diagnóstico, os novos contadores hematológicos estão dotados de tecnologia que nos faz suspeitar da presença deste parasita no sangue através de *flags* e de uma distribuição celular específica no citograma quando é realizado o hemograma.

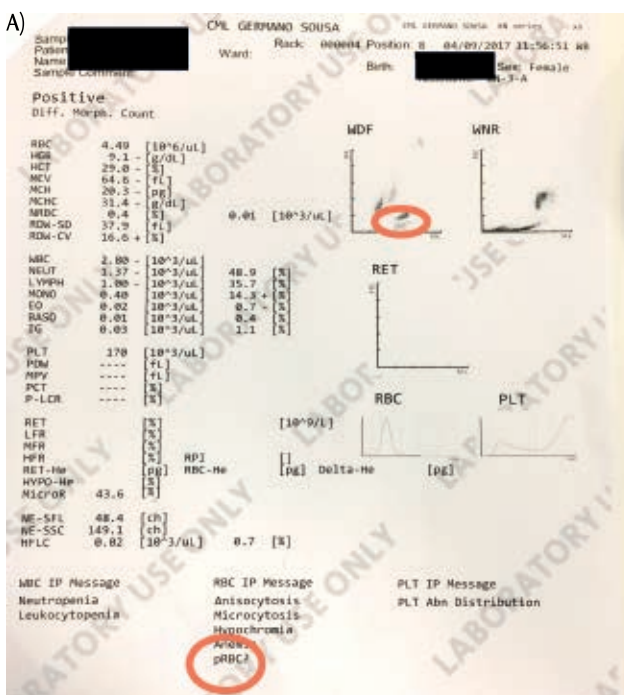


Figura 1. Hemograma com flag “pRBC”

## CASO

Doente do sexo feminino, 59 anos, recorre à consulta externa de Ortopedia da CUF Alvalade por uma gonartrose. É solicitado hemograma em contexto de análises pré-operatórias. Após detecção de flag pRBC <sup>(A)</sup> (*parasitic red blood cell*) e visualização de uma distribuição celular atípica no citograma <sup>(A)</sup> do hemograma efectuou-se um teste imunocromatográfico para detecção rápida e qualitativa de plasmódio <sup>(B)</sup> que foi positivo para o antígeno comum (pLDH) às quatro espécies de plasmódio que causam doença no ser humano (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*). No esfregaço de sangue periférico <sup>(C)</sup> observaram-se raros eritrócitos parasitados por plasmódio com morfologia sugestiva de *Plasmodium malariae* (trofozoítos e esquizontes).



Figura 2. Teste imunocromatográfico Malária

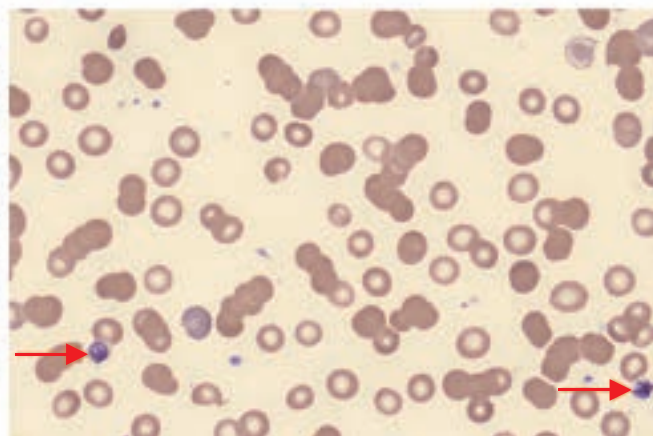
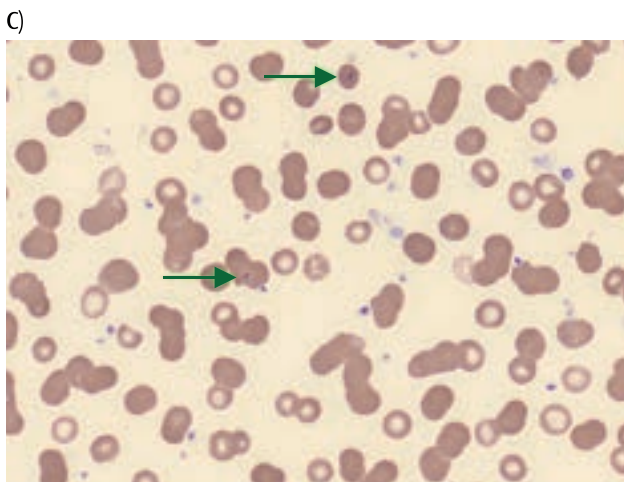


Figura 3. Esfregaço de sangue periférico: trofozoítos (seta verde) e esquizontes (seta laranja) de *Plasmodium malariae*.

Foi contactado médico assistente, que referiu tratar-se de uma doente residente em Angola, febril nas últimas semanas. Este quadro terá sido interpretado no contexto da gonartrite e, apesar de ter colocado hipótese de malária, não requisitou exames complementares nesse sentido. A doente foi encaminhada para a Consulta de Infeciologia.

## DISCUSSÃO

Uma vez que a malária não é endémica na Europa, a pesquisa de plasmódio, só é efetuada quando há suspeita clínica. Os fluxos migratórios e o aumento das viagens a regiões tropicais têm contribuído para um aumento significativo dos casos de malária pelo que é fundamental ter parâmetros que nos façam considerar esta hipótese diagnóstica, mesmo quando não há suspeita clínica (o doente apresenta muitas vezes sintomatologia inespecífica).

Alguns dos novos contadores hematológicos (p.e. Sysmex XE-2100) fazem a diferenciação dos glóbulos brancos conjugando 3 sinais distintos: a *forward scatter light* (FSC), a *side scatter light* (SSC) e a *side fluorescence light* (SFL). A intensidade da FSC indica o volume da célula enquanto a SSC traduz a complexidade e conteúdo da célula (p.e. núcleo e grânulos). A SFL indica a quantidade de DNA e RNA presente na célula. Estas determinações são feitas em diferentes “canais” do contador hematológico, sendo que no canal *white blood cell differential* (WDF) conseguimos obter uma diferenciação dos glóbulos brancos com informação morfológica dos mesmos. Uma observação cuidada e pormenorizada do citograma obtido no canal “WDF” permite suspeitar da presença de plasmódio pela presença de um *cluster* celular “anormal” abaixo da zona dos neutrófilos e na zona dos eosinófilos<sup>(3)</sup>. Este fenómeno justifica-se pelo facto de no canal “WDF” os glóbulos vermelhos não estarem completamente lisados pelo que, mesmo com um número reduzido de eritrócitos parasitados, há um aumento da fluorescência na zona dos neutrófilos ou dos eosinófilos, levando, por vezes, a contagens falsamente elevadas de neutrófilos ou eosinófilos. A activação da *flag* (pRBC ou iRBC: *infected red blood cell*) pelo contador

hematológico permite a obtenção de uma contagem correta de neutrófilos e eosinófilos a partir do canal “WNR”, evitando resultados falseados pela presença de trofozoítos, gametócitos e/ou esquizontes<sup>(4)</sup>.

Resumindo, a presença de uma distribuição “anormal” dos leucócitos no citograma em “WDF” e/ou das *flags* (pRBC; iRBC) no hemograma, podem ser os primeiros e únicos sinais para suspeitar de uma infeção por plasmódio.

Concluimos assim que os novos contadores hematológicos são ferramentas muito importantes no diagnóstico de malária, representando uma mais-valia, principalmente, nos casos em que a suspeita clínica é baixa ou ausente. No entanto, constituem apenas uma ajuda para o médico Patologista Clínico, que deverá confirmar a suspeita por observação de esfregaço de sangue periférico.

## PONTOS A DESTACAR

- A malária pode ser diagnosticada incidentalmente em hemogramas realizados por outros motivos, mesmo sem suspeita clínica prévia, graças às funcionalidades dos novos contadores hematológicos.
- Os contadores hematológicos modernos (como o Sysmex XE-2100) usam citometria de fluxo com fluorescência e podem detetar padrões celulares atípicos (ex. *flags* como pRBC ou iRBC) sugestivos de infeção por *Plasmodium sp.*
- A presença de um *cluster* “anormal” no citograma WDF (na zona dos eosinófilos ou abaixo dos neutrófilos) pode levantar suspeita de malária, mesmo em amostras com poucos eritrócitos parasitados.
- Estas alterações podem levar a contagens erroneamente elevadas de neutrófilos ou eosinófilos, sendo corrigidas se o equipamento ativar a *flag* e recorrer ao canal alternativo (WNR).
- Apesar do apoio tecnológico, a confirmação diagnóstica de malária continua a exigir a observação microscópica direta do esfregaço de sangue periférico por um médico Patologista Clínico.

## REFERÊNCIAS

1. World malaria report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2022; J Lab Med 2022.
2. Campuzano-Zuluaga G, Alvarez-Sanchez G, Escobar Gallo GE, et al. Design of malaria diagnostic criteria for the sysmex XE-2100 hematology analyser. *Am J Trop Med Hyg* 2010; 82:402-11.
3. Huh HJ, Oh GY, Huh JW, et al. Malaria detection with the sysmex XE-2100 hematology analyzer using pseudo eosinophilia and abnormal WBC scattergram. *Ann Hematol* 2008; 87:755-9.
4. Roccafort V, Liuzzi G, Porreca WP et al. A case of malaria diagnosed accidentally with Sysmex XN-9000 automated analyzer. *J Lab Petic Med* 2019; 4:13.





**Sede e Laboratório Central**  
Pólo Tecnológico de Lisboa,  
Rua Cupertino Miranda, 9  
Lote 8 1600-513 Lisboa  
Centro de Medicina  
Laboratorial Germano de  
Sousa  
ERS N.º E117709 - LICENÇA DE  
FUNCIONAMENTO N.º 11097/2015

**Laboratório Central Porto**  
Edifício Trindade Domus  
Rua Heróis Martires de  
Angola, N.º 15  
4000-285 Porto  
CMLGS, Lda.  
ERS N.º E141471 - LICENÇA DE  
FUNCIONAMENTO N.º 17296/2019

**Laboratório Viseu**  
Rua Belo Horizonte,  
N.º 12-14 - Piso -1  
3500-612 Viseu  
Centro de Medicina  
Laboratorial Germano  
de Sousa Viseu, Lda.  
ERS N.º E135094 - LICENÇA DE  
FUNCIONAMENTO N.º 14889/2018

**Laboratório Coimbra**  
Quinta de Voimarães, Rua  
de S. Teotónio, Lote 5 - N.º 21  
3000-377 Coimbra  
Centro de Anatomia  
Patológica Germano  
de Sousa, Lda.  
ERS N.º E105585 - LICENÇA DE  
FUNCIONAMENTO N.º 10676/2015

**Laboratório Açores**  
Avenida D. João III, N.º 28  
R/C - 9500-310 Ponta  
Delgada - Centro de Medicina  
Laboratorial Germano de  
Sousa-Açores, Lda.  
DRS SA1/2019/337 - LICENÇA DE  
FUNCIONAMENTO DRS N.º 381RG/2019

*De norte a sul do país,  
mais de 550 postos  
ao serviço do doente.*

*Para mais informações:  
N.º Verde 800 209 498*



[www.germanodesousa.com](http://www.germanodesousa.com)

