

**Relatório de Estágio no Laboratório
SYNLABHEALTH ALENTEJO
Dislipidemia nas várias regiões do Alentejo**

Marco António Cavaca Freire

Relatório de estágio para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Biomédicas
(2º ciclo de estudos)
Versão final após defesa

Orientador: Dra. Maria Gabriel Barroca
Co-orientador: Prof. Doutora Cândida Ascensão Teixeira Tomaz

março de 2024

Folha em branco

Declaração de Integridade

Eu, Marco António Cavaca Freire, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição M12112 de Ciências Biomédicas da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

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

Universidade da Beira Interior, Covilhã 19 /03 /2024

Folha em branco

Dedicatória

Este relatório é dedicado à minha estrelinha, pelo facto de me ter educado e ter sempre acreditado em mim e nas minhas capacidades. Espero deixar-te orgulhoso onde quer que estejas minha querida Mãe.

Folha em branco

Agradecimentos

À minha orientadora, Dra. Maria Gabriel Barroca, quero agradecer por toda a ajuda, por todos os ensinamentos, por toda a disponibilidade prestada desde o início do estágio até ao seu término e por todo o tempo dedicado a este projeto.

À minha co-orientadora, Professora Doutora Cândida Tomaz, agradeço toda a disponibilidade prestada desde o início do estágio até à conclusão do relatório e quero agradecer principalmente, por todos os ensinamentos ao longo da preparação deste relatório.

Agradeço ao Dr. Fernando Calisto, diretor técnico do laboratório, por ter permitido a realização deste projeto.

Quero, agradecer a todas as pessoas com quem trabalhei ao longo do estágio, a sua disponibilidade, simpatia, carinho e principalmente todos os conhecimentos transmitidos dentro de cada secção do estágio. Sem vocês, a minha aprendizagem neste estágio não seria a mesma, muito obrigado. Obrigado, ainda, por me transmitirem valores como pessoa, que certamente irei levar para o resto da vida.

Quero agradecer especialmente à minha colega Susana Caeiro, por todo o empenho, paciência e por todos os ensinamentos ao longo do estágio, obrigado por seres o meu braço direito no estágio.

Agradecer à Ana por me ter dado o incentivo que precisava para terminar este relatório e por acreditar sempre em mim, és incrível.

Agradecer a todos os meus colegas da Banda do Centro Cultural de Alandroal e Charanga ZulluBand, por serem como meus irmãos e por acreditarem em mim e me darem todo o incentivo para a realização deste relatório.

Por último, quero agradecer, acima de tudo, a toda a minha família e principalmente ao meu Pai e à minha prima Isabel, por toda ajuda ao longo do estágio, sem vocês nada deste estágio seria possível.

Folha em branco

Resumo

O laboratório SYNLABHEALTH ALENTEJO é um laboratório específico para a realização de análises de produtos biológicos, com o objetivo de fornecer informações detalhadas sobre o estado de saúde dos utentes, tornando possível aos médicos diagnosticarem, prevenirem e tratarem qualquer patologia. Ao longo do relatório foram descritos os tipos de análises clínicas realizados, bem como os equipamentos e os procedimentos rotineiros utilizados no laboratório. Neste, são abordados temas nas áreas de: Bioquímica, Imunologia, Serologia, Hematologia e Microbiologia.

O presente trabalho, também possui uma vertente de investigação, onde é descrito um estudo sobre a dislipidemia nas três regiões do Alentejo: Baixo, Central e Alto Alentejo. O principal objetivo foi caracterizar o perfil lipídico dos utentes dos laboratórios Synlab, nestas três diferentes regiões, e avaliar qual possui maior número de casos de dislipidemias e, conseqüentemente, um maior risco para as doenças cardiovasculares. No total, foram analisados dados de 70 160 utentes das três regiões do Alentejo, sendo 30 785 do sexo masculino e 39 375 do sexo feminino, tendo em conta os seguintes parâmetros: Triglicéridos, Colesterol Total, LDL e HDL. Para a distinção entre diabéticos e não diabéticos foram também analisados os parâmetros de Hemoglobina Glicada, (HbA1c), Glucose e Albumina (micro-albuminúria). Os resultados evidenciaram que a região onde se observou a maior prevalência de dislipidemia foi a do Baixo Alentejo, uma vez que apresentou a maior percentagem de utentes com dislipidemia relacionada com elevada concentração de colesterol. Adicionalmente, esta região possui os valores mais elevados em quase todos os parâmetros dislipidémicos, nomeadamente o LDL e os Triglicéridos. Verificou-se também que a população diabética em estudo possui os Triglicéridos mais elevados, quando comparado com a população não diabética, o que se justifica pela sua patologia metabólica. Através do estudo realizado, pode concluir-se que população do Baixo Alentejo possui um maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, quando comparada com as outras regiões do Alentejo, uma vez que os seus utentes apresentaram os valores mais elevados dos diversos parâmetros dislipidémicos em análise.

Palavras-chave

Alentejo; Colesterol total; Diabetes *mellitus*; Dislipidemia; HDL; LDL; Triglicéridos;

Folha em branco

Abstract

The SYNLABHEALTH ALENTEJO laboratory is a specialized facility for conducting analyses of biological products with the aim of providing detailed information about the health status of individuals, enabling physicians to diagnose, prevent, and treat any pathology. Throughout the report, the types of clinical analyses performed, as well as the equipment and routine procedures used in the laboratory, have been described. Topics covered include Biochemistry, Immunology, Serology, Hematology, and Microbiology.

This work also includes a research work, describing a study on dyslipidemia in three regions of Alentejo: Baixo, Central, and Alto Alentejo. The primary objective was to characterize the lipid profile of SYNLAB laboratories' users in these three different regions and assess which region has a higher number of cases of dyslipidemia, consequently posing a higher risk for cardiovascular diseases. In total, data from 70,160 users from the three regions of Alentejo were analyzed, with 30,785 being male and 39,375 females, considering the following parameters: Triglycerides, Total Cholesterol, LDL, and HDL. To distinguish between diabetics and non-diabetics, parameters such as Glycated Hemoglobin (HbA1c), Glucose, and Albumin (microalbuminuria) were also analyzed. The results revealed that the region with the highest prevalence of dyslipidemia was Baixo Alentejo, as it showed the highest percentage of individuals with dyslipidemia related to elevated cholesterol concentration. Additionally, this region has the highest values in almost all dyslipidemic parameters, notably LDL and Triglycerides. It was also observed that the diabetic population under study has higher Triglycerides compared to the non-diabetic population, which is justified by their metabolic pathology. Through the conducted study, it can be concluded that the population of Baixo Alentejo has a higher risk of developing cardiovascular diseases compared to other regions of Alentejo, as its population presented the highest values for various dyslipidemic parameters under analysis.

Keywords

Alentejo; Diabetes *mellitus*; Dyslipidaemia; HDL; LDL; Total cholesterol; Triglycerides;

Folha em branco

Índice

Parte 1: Relatório de Estágio.....	1
Capítulo 1.Caracterização do Laboratório	1
Capítulo 2.Recolha e processamento de amostras	2
2.1 Fase pré-analítica	2
2.1.1 Inscrição do utente	3
2.1.2 Colheitas.....	3
2.1.3 Receção de amostras	4
2.1.4 Triagem de amostras.....	5
2.2 Fase analítica	6
2.3 Fase pós-analítica	9
Capítulo 3.Bioquímica	10
3.1 Advia 1800 Chemistry System	11
3.1.1 Espectrofotometria	12
3.1.2 Potenciometria Indireta	12
3.1.3 Perfil Hepático.....	13
3.1.4 Perfil Pancreático	14
3.1.5 Perfil Lipídico	14
3.1.6 Perfil Renal.....	15
3.1.7 Metabolismo do ferro	15
3.1.8 Perfil Eletrolítico	16
3.1.9 Perfil Bacteriano.....	16
3.1.10 Perfil Endócrino	17
3.1.11 Perfil Cardíaco.....	17
3.1.12 Perfil de Proteínas séricas.....	18
3.2 Variant Turbo II Hemoglobin Testing System	18
3.2.1 HPLC	19
3.3 Hydrasis (Sebia).....	20
3.3.1 Albumina	21
3.3.2 α -1-Globulinas	22
3.3.3 α -2-Globulinas	22
3.3.4 β -Globulinas	23
3.3.5 γ -Globulinas.....	23
3.3.6 Eletroforese.....	24
3.4 iRICELL iChem Velocity (Beckman Coulter)	24
3.4.1 Tiras reativas	25

Capítulo 4. Imunologia e Serologia.....	26
4.1 Ensaio imunológico.....	26
4.1.1 Ensaio de captura de anticorpos.....	26
4.1.2 Ensaio competitivo.....	27
4.1.3 Ensaio não competitivo (tipo sandwich).....	27
4.2 Advia Centaur XP.....	27
4.3 IMMULITE 2000.....	28
4.4 miniVidas.....	30
4.5 Perfis.....	30
4.5.1 Vitaminas essenciais na síntese de DNA.....	30
4.5.2 Marcadores Tumorais.....	31
4.5.3 Perfil Hormonal.....	32
4.5.4 Perfil Viral.....	38
4.5.5 Perfil Parasitário.....	40
4.5.6 Perfil Alergénico.....	40
4.5.7 Perfil Proteico.....	40
4.6 Serologia.....	41
4.6.1 Determinação de grupos sanguíneos.....	41
4.6.2 Determinação do teste de Coombs.....	43
4.6.3 Clearview IM II.....	44
4.6.4 Teste de Rosa de Bengala e Teste de Huddleson.....	45
4.6.5 VDRL / RPR.....	45
4.6.6 Teste de Waaler Rose.....	46
4.6.7 Weil-Felix (OX19 / OXK).....	46
4.6.8 Reação de Widal.....	46
Capítulo 5. Hematologia.....	48
5.1 Equipamentos e métodos.....	48
5.1.1 SYSMEX XN-550.....	48
5.1.2 Ves Matic Cube 80.....	50
5.1.3 SYSMEX CA-620.....	50
5.2 Hemograma.....	50
5.2.1 Eritrograma.....	51
5.2.2 Leucograma.....	52
5.2.3 Plaquetograma.....	53
5.3 Contagem de Reticulócitos.....	54
5.4 Velocidade de sedimentação eritrocitária.....	55
5.5 Provas de coagulação.....	55

5.6 Avaliação morfológica e contagem diferencial de células sanguíneas.....	56
Capítulo 6. Microbiologia	58
6.1 Iricell iQ200	59
6.2 Vitek.....	59
6.3 Análise de Urinas	60
6.4 Análise de Exsudatos	61
6.5 Análise de amostras de fezes.....	64
6.6 Antibiogramas	66
6.7 Galerias	67
6.8 Outros testes de identificação.....	68
6.8.1 Teste de identificação de <i>Salmonella</i> A-6o O-aglutinável.....	68
6.8.2 Teste com Optoquina.....	69
6.8.3 Teste com Bacitracina.....	69
6.8.4 Teste de diferenciação de <i>Haemophilus spp</i>	69
6.8.5 Teste de deteção da atividade das Carbapenemases	70
6.8.6 Hemoculturas	71
Parte 2: Dislipidemia nas várias regiões do Alentejo	72
Capítulo 1. Introdução	72
1.1 Metabolismo Lipídico	72
1.2 Dislipidemia, classificação, causas e diagnóstico.....	77
Capítulo 2. Objetivos	79
Capítulo 3. Métodos.....	80
Capítulo 4. Resultados e Discussão	82
4.1 Triglicéridos	83
4.2 LDL	87
4.3 HDL.....	91
4.4 Colesterol total.....	95
Capítulo 5. Conclusão e Perspetivas Futuras.....	99
Bibliografia	101
Anexos.....	107

Folha em branco

Lista de Figuras

Figura 1- Fluxograma da fase pré-analítica no laboratório SUNLABHEATH ALENTEJO.	2
Figura 2- Fluxograma da fase analítica no laboratório SYNLABHEALTH AL ENTEJO, incluindo os diversos equipamentos utilizados.	7
Figura 3- Perfil eletroforético das proteínas plasmáticas em um pH Alcalino Adaptado de [23].	21
Figura 4- Grupos Sanguíneos. Adaptado de [46].	42
Figura 5- Card com Grupo Sanguíneo A positivo.	43
Figura 6- Card-ID LISS/Coombs.	44
Figura 7- Fluxograma de análise de urinas.	60
Figura 8- Meios de cultura utilizados para a inoculação de exsudatos, amostras de pus e expetoração.[57].	62
Figura 9- Meios líquidos de enriquecimento.[57].	63
Figura 10- Meios de cultura utilizados nas Coproculturas.[57].	65
Figura 11- Escolha das cartas utilizadas no equipamento Vitek.[57].	67
Figura 12- Componentes estruturais das lipoproteínas (A) e sua relação com diâmetro e densidade (B) Adaptado de [87].	73
Figura 13- Conjunto de interações dos monócitos, macrófagos no processo de formação da placa aterosclerótica. (Adaptado de [91].)	75
Figura 14- Metabolismo das HDL.[92]	76
Figura 15- Concentração de triglicéridos nos utentes do sexo masculino com:	83
Figura 16- Concentração de triglicéridos nos utentes do sexo feminino com:	84
Figura 17- Concentração de LDL nos utentes do sexo masculino com:	87
Figura 18- Concentração de LDL nos utentes do sexo feminino com:	88
Figura 19- Concentração de HDL nos utentes do sexo masculino com:	91
Figura 20- Concentração de HDL nos utentes do sexo feminino com:	92
Figura 21- Concentração de colesterol total nos utentes do sexo masculino com:	95
Figura 22- Concentração de colesterol total nos utentes do sexo feminino com:	96
Figura 23- Percentagem de utentes do sexo masculino com colesterol \geq 200 mg/dL: .	97
Figura 24- Percentagem de utentes do sexo feminino com colesterol \geq 200 mg/dL: ...	98

Folha em branco

Lista de Tabelas

Tabela 1- Parâmetros quantificados no sistema ADVIA 1800, tipos de perfis e técnicas utilizadas.....	11
Tabela 2- Parâmetros determinados pelo equipamento Hydrasis (Sebia) e técnicas utilizadas.....	21
Tabela 3- Parâmetros determinados pelo equipamento iRICELL iChem Velocity e técnicas utilizadas.....	25
Tabela 4- Parâmetros determinados no sistema Advia Centaur XP e tipos de perfis associados.....	28
Tabela 5- Parâmetros determinados no sistema IMMULITE 2000 e tipos de perfis associados.....	29
Tabela 6- Parâmetros determinados no eritrograma.....	51
Tabela 7- Tipos de Leucócitos.....	52
Tabela 8- Parâmetros determinados no plaquetograma.....	54
Tabela 9- Tipos de amostras biológicas, placas a inocular e meios de enriquecimento utilizados.....	64
Tabela 10- Espécies de <i>Haemophilus</i> e a sua resposta aos fatores de crescimento. ^[57] ..	70
Tabela 11- Tipos de dislipidemias. ^{[88][95]}	77
Tabela 12- Dados demográficos dos utentes em estudo.....	107
Tabela 13- Parâmetros lipídicos dos utentes do sexo masculino não diabéticos com colesterol superior ou igual a 200 mg/dL.....	108
Tabela 14- Médias e Medianas dos parâmetros lipídicos dos utentes do sexo masculino não diabéticos com colesterol inferior a 200 mg/dL.....	109
Tabela 15- Médias e medianas dos parâmetros lipídicos dos utentes do sexo masculino diabéticos com colesterol superior ou igual a 200 mg/dL.....	110
Tabela 16- Médias e medianas dos parâmetros lipídicos dos utentes do sexo masculino diabéticos com colesterol inferior a 200 mg/dL.....	111
Tabela 17- Médias e Medianas dos parâmetros lipídicos das utentes do sexo feminino não diabéticas com colesterol superior ou igual a 200 mg/dL.....	112
Tabela 18- Médias e Medianas dos parâmetros lipídicos das utentes do sexo feminino não diabéticas com colesterol inferior a 200 mg/dL.....	113
Tabela 19- Médias e medianas dos parâmetros lipídicos das utentes do sexo feminino diabéticas com colesterol superior ou igual a 200 mg/dL.....	114
Tabela 20- Médias e medianas dos parâmetros lipídicos das utentes do sexo feminino diabéticas com colesterol inferior a 200 mg/dL.....	115

Tabela 21- Percentagens de utentes com colesterol total superior a 200 mg/dL, no Baixo Alentejo.	116
Tabela 22- Percentagens de utentes com colesterol total superior a 200 mg/dL, no Alentejo Central.....	116
Tabela 23- Percentagens de utentes com colesterol total superior a 200 mg/dL, no Alto Alentejo.	116

Lista de Acrónimos

ADP	Adenosina difosfato
AEQ	Avaliação externa de qualidade
AFP	Alfafetoproteína
ALT	Alanina Aminotransferase
AMP	2-amino-2-metil-1-propanol
ASO	Anti-estreptolisina-O
AST	Aspartato Aminotransferase
ATP	Adenosina trifostato
AVC	Acidente vascular cerebral
BHI	Caldo coração-cérebro
CAM	Gelose Campylosel
CEA	Antigénio Carcinoembrionário
CHCM	Concentração de Hemoglobina corpuscular média
CK	Creatina Quinase
Cl ⁻	Ião Cloro
CLED	Cistina Lactose Deficiente em Eletrólitos
CLIA	<i>Chemiluminescent Immunoassay</i>
CMV	Citomegalovírus
COS	Gelose Columbia Sangue
CQI	Controlo de qualidade interno
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EA	Ésteres de acridina
ELFA	<i>Enzyme Linked Fluorescent Assay</i>
FSH	Hormona foliculestimulante
FT3	Triiodotironina livre
FT4	Tiroxina livre
GGT	Gamma-glutamil transferases
GN	Gram negativa
GnRH	<i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
GP	Gram positiva
HAE	Gelose chocolate Haemophilus
HbA1c	Hemoglobina glicada A1
HBV	Vírus da hepatite B
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HCT	Hematócrito

HCV	Vírus da hepatite C
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HGB	Hemoglobina
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
hsPCR	Proteína C reativa ultrasensível
IDL	Lipoproteína de densidade intermédia
Ig	Imunoglobulina
IgE	Imunoglobulina E
IM	Mononucleose infecciosa
LDH	Lactato Desidrogenase
LDL	Lipoproteína de alta densidade
LH	Hormona luteinizante
MBPL	Manual de boas práticas laboratoriais
MCK	Gelose <i>Mac Conkey</i>
Mg	Magnésio
MHE	Mueller Hinton E
MβL	<i>metallo-β-lactamase</i>
NAD ⁺	Dinucleótido de nicotinamida e adenina
OMS	Organização Mundial de saúde
OXA-48	oxicillinase
PCR	Proteína C reativa
PCT	Plaquetócrito
PDW	Índice de distribuição plaquetário
PLT	Número total de Plaquetas
PNAEQ	Programa Nacional de Avaliação Externa de Qualidade
<i>p</i> -NP	<i>p</i> -nitrofenol
<i>p</i> -NPP	<i>p</i> -nitrofenilfosfato
PPM	Partículas paramagnéticas
PSA	Antígeno prostático específico
PTGO	Prova de tolerância à glicose oral
PTH	Hormona paratiroideia
PVX	Gelose chocolate PolyViteX
RBC	Eritrócitos
RDW-CV	Volume de Eritrócitos em percentagem
RDW-SD	Volume de Eritrócitos em fentolítros
RIQAS	<i>Randox International Quality Assessment Schem</i>
RPR	<i>Rapid Plasma Reagin</i>
SALM	Gelose <i>Salmonella</i>
SEHH	<i>Sociedad Espanhola de Hematologia y Hemoterapia</i>
SEQC	<i>Sociedad Española de Quimica Clínica</i>
SGC	Gelose Sabouraud Gentamicina Cloranfenicol
SLS	Surfactante aniónico
SLS-HB	Lauril sulfato de sódio-hemoglobina
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SNS	Sistema nacional de saúde
STRB	Gelose <i>chromID</i> Strep B
T ₃	Triiodotironina
T ₄	Tiroxina
TODD H-T	Caldo TODD-Hewitt + Antibióticos

TP	Tempo de Protrombina
TSH	Tirotropina
TTPa	Tempo de Tromboplastina Parcial ativado
VCM	Volume corpuscular médio
VDRL	<i>Veneral Disease Research Laboratory</i>
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VPM	Volume Plaquetar médio
XLD	Gelose XLD
βhCG	Hormona Gonadotrofina Coriônica Humana

Folha em branco

Parte 1: Relatório de Estágio

Capítulo 1. Caracterização do Laboratório

O SYNLABHEALTH ALENTEJO, SA, é um laboratório pertencente ao SYNLAB Group que consiste numa empresa multinacional na área de diagnósticos médicos. Esta empresa é englobada pelas marcas Synlab e Labco, sendo por isso líder no mercado de serviços de diagnóstico clínico, no qual têm apostado fortemente nos últimos anos, permitindo uma evolução dos seus serviços de diagnóstico, nomeadamente uma melhor disponibilidade à população, com uma maior rapidez e eficácia/qualidade.

O SYNLABHEALTH ALENTEJO, SA, fica localizado na cidade de Évora. Este está organizado em dois pisos, o primeiro é composto por uma receção e sala de espera, duas casas de banho para utentes, quatro salas de colheitas e uma zona de triagem. Na cave estão presentes as várias zonas destinadas a diversas secções de diagnóstico clínico, tais como: Microbiologia, Urianálise, zona de lavagens, Hematologia I e II, Bioquímica I e II, Serologia e Imunologia. Na cave, encontram-se também uma zona de copa e dois balneários (masculino e feminino). Para além destas, ainda existe um gabinete destinado à direção técnica e outra zona destinada ao secretariado, onde são elaboradas as respetivas faturas da empresa, bem como a confirmação de credenciais médicas e respetivas análises e impressão dos boletins.

O SYNLABHEALTH ALENTEJO, SA, é composta por diversos postos de colheitas em todo o Alentejo e um laboratório central. Nos postos, as colheitas são efetuadas por diversos técnicos de diagnóstico clínico e enfermeiros. No laboratório central a equipa é composta por 2 especialistas em Análises Clínicas, 11 Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica. A direção técnica do mesmo, está ao cargo do Doutor Fernando Calisto e a Doutora Maria Gabriel Barroca está responsável pelo controlo de qualidade do mesmo.

Capítulo 2.Recolha e processamento de amostras

2.1 Fase pré-analítica

O laboratório central, para além das amostras recolhidas por meio das colheitas efetuadas neste, recebe as amostras provenientes dos outros postos do grupo existentes no Alentejo, mais especificamente nos distritos de Beja, Évora e Portalegre. O laboratório, na totalidade do seu volume de trabalho recebe por dia amostras de cerca de 400 a 600 utentes.

No que concerne à fase pré-analítica, esta está descrita e resumida de forma sucinta na figura 1.

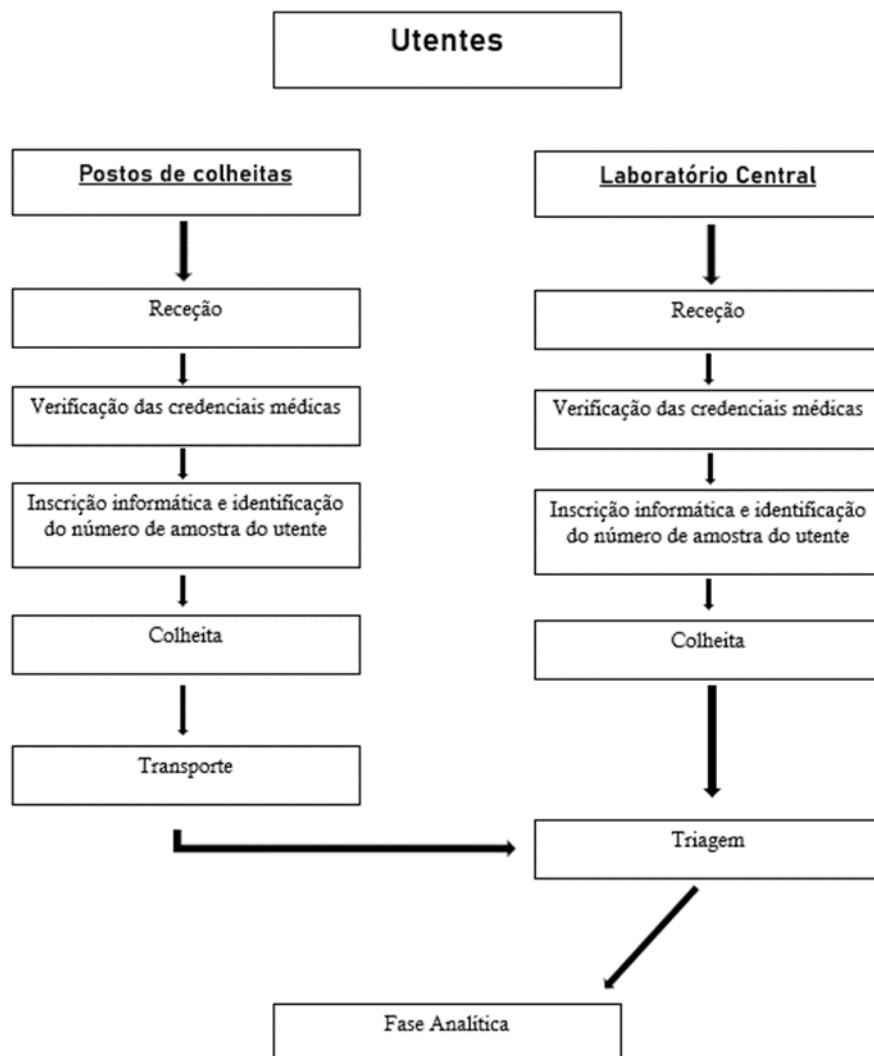


Figura 1- Fluxograma da fase pré-analítica no laboratório SUNLABHEATH ALENTEJO.

2.1.1 Inscrição do utente

A fase pré-analítica inicia-se com a chegada do utente ao laboratório ou ao posto de colheitas. Logo após a chegada, é realizada a inscrição do utente tendo como base a sua credencial médica ou pedido deste, consoante as suas necessidades. Aquando da verificação das análises a elaborar a cada utente, é feita uma explicação sobre os fatores condicionantes para os resultados das mesmas, isto é, por exemplo, o caso de ser necessário jejum ou até mesmo abstinência sexual, caso o paciente realize um espermograma, entre outras. Esta explicação permite que o resultado das análises elaboradas sejam fiáveis e concordantes com o estado clínico do utente. Assim sendo, a inscrição do utente é realizada e esta tornar-se-á agora uma identificação do mesmo para os diversos setores do laboratório durante a fase analítica. A identificação de cada utente consiste num conjunto de três letras correspondentes aos postos de colheitas, seguidas de quatro números que corresponderão ao número do utente para a análise realizada naquele dia ou naquela credencial. Uma vez, atribuída a identificação do utente, irá ser feita a chamada do mesmo para a sala de colheitas por parte de um flebotomista que irá realizar as colheitas das amostras consoante a inscrição.

2.1.2 Colheitas

Tanto no laboratório central, como nos postos de colheitas, são realizadas colheitas de diversos produtos biológicos, tais como: sangue, urina, fezes, esperma (apenas no laboratório central) e exsudatos.

Dentro das colheitas sanguíneas, é importante salientar que existem diversos tipos de tubos coletores com diferentes composições e volumes, e que estes são específicos para determinadas análises. Assim sendo, é importante denotar que a colheita sanguínea é realizada pelo método de colheita aberta, ou seja, são utilizadas uma seringa e uma agulha para a recolha do sangue. Este é depois distribuído para os tubos coletores seguindo uma ordem específica: 1º tubo de soro; 2º tubo de citrato de sódio; 3º tubo de fluoreto de potássio e 4º tubo de EDTA K3 (Ácido etilenodiamino tetra-acético tripotássico). Nos utentes de diálise, a colheita sanguínea é realizada por um método diferente que envolve a recolha de sangue através de um cateter inserido no utente, diretamente para tubos de vácuo com as mesmas composições dos descritos anteriormente.

Dentro das colheitas de amostras biológicas, é importante salientar outros tipos de colheitas, para além das sanguíneas, como por exemplo a urina que é um dos tipos mais requisitado pelos médicos. A colheita de urina pode ser efetuada de várias maneiras, consoante o tipo de análise requerida, sendo as mais comuns: a urina asséptica, urina ocasional e urina de 24 horas. Esta última é o resultado do total de urina excretado pelo utente num período de 24 horas, onde a primeira urina do dia de início (“dia 0”) é descartada e a primeira urina do dia de término (“dia 1”) é incluída nesse volume. A colheita de urina ocasional e urina de 24 horas, são dois tipos de

colheitas em que não é necessário haver assepsia, ao contrário da urina asséptica que deverá ser recolhida no laboratório em condições de assepsia, uma vez que se destina à pesquisa de agentes bacterianos presentes na zona genital dos utentes. A assepsia aplicada neste tipo de colheita é realizada por uma toalhita esterilizada fornecida pelo laboratório, a qual o utente irá passar na zona genital e, logo em seguida, irá urinar descartando o primeiro jato para a sanita, sendo restante irá ser recolhido para um boião estéril.

Outro tipo de colheita biológica pedida pelos médicos, é a colheita de fezes, na maior parte das vezes para a pesquisa de sangue oculto e de parasitas. Estas colheitas são rececionadas pelos flebotomistas quando se efetua a colheita sanguínea, ou na receção, caso os utentes não efetuem colheita sanguínea, onde são encaminhadas de imediato para a triagem. Assim sendo, a análise às fezes é elaborada por meio da recolha de 3 boiões estéreis para fezes de 3 dias diferentes. Após rececionadas, estas têm a estabilidade de no máximo 5 dias, conservadas de 2 a 8°C.

Em relação à pesquisa de agentes microbiológicos, são efetuadas colheitas de exsudatos e receção de fezes tratadas de maneira diferente das anteriores. Os exsudatos colhidos no laboratório ou nos postos de colheitas, tem a finalidade de verificar a presença de agentes microbianos nas várias floras do organismo, sendo estas: vaginal, auricular, trato intestinal (coprocultura), retal, faríngea, uretral, nasal e na composição de pus. A maior parte dos exsudatos são colhidos no laboratório com recurso a duas zaragatoas, à exceção do exsudato vaginal e anal, em que é apenas colhida uma zaragatoa. A colheita de duas zaragatoas permite então a realização de um exame a fresco, onde se utiliza um esfregaço da primeira zaragatoa numa lamina de vidro e outro exame ao microscópio com outro esfregaço em outra lâmina de vidro, mas desta vez corado. A segunda zaragatoa irá servir para realizar a cultura do exsudato em diversos meios de cultura, descritos mais ao longo do relatório. A realização da colheita de exsudatos é muito semelhante nos vários tipos, ou seja, a zaragatoa é colocada na superfície de pesquisa e, em seguida, são feitos movimentos circulares, de maneira a recolher a maior carga microbiana possível. É importante ainda referir que consoante a superfície e o tipo de exsudato, o tamanho e largura da zaragatoa varia, por exemplo os exsudatos uretrais são elaborados com recurso a zaragatoas mais finas que a dos exsudatos vaginais. Todas as zaragatoas após colhidas são introduzidas num meio de transporte até serem analisadas em laboratório.

Como mencionado anteriormente, é feito neste laboratório também um exame microbiológico a fezes que é denominado de coprocultura. A diferença no seu modo de colheita destas relativamente ao ponto anterior, é que as fezes destinadas ao exame coprocultura são recolhidas para um boião que contem um meio de transporte fornecido pelo laboratório aos utentes.

2.1.3 Receção de amostras

Como observado na figura 1, as amostras recolhidas nos postos exteriores são transportadas até ao laboratório e é realizada, antes da triagem, a receção das mesmas, o que permite um maior

controlo da estabilidade das amostras. Assim sendo, estas durante o transporte são acondicionadas dentro de contentores térmicos a uma temperatura inferior a 20°C que é conferida, contentor a contentor, aquando da sua chegada ao laboratório, assegurando deste modo a qualidade e validade do serviço prestado pelo laboratório. Adicionalmente, em termos de qualidade das amostras, existe mais um controlo à chegada das mesmas ao laboratório, que é a certificação e confirmação das amostras recebidas por meio de um relatório elaborado pelo flebotomista de cada posto anexado aos contentores térmicos. Neste relatório é descrita a quantidade, tipo de produto existente de cada utente e o número total de produtos provenientes de cada posto, que posteriormente irá ser confirmado com o rececionista das amostras. A receção das colheitas elaboradas no laboratório é realizada logo após a colheita pelo flebotomista, onde este regista os produtos colhidos em cada utente, os quais entram diretamente para o sistema do laboratório.

2.1.4 Triagem de amostras

No seguimento do fluxograma onde se encontra sintetizada a fase pré-analítica (Figura 1), é de notar que após a receção das amostras é realizada uma triagem das mesmas. Esta triagem é das fases mais importantes, pois nesta são verificadas e tratadas as amostras com os tratamentos pré-analíticos, isto é, por exemplo, a centrifugação dos tubos sanguíneos a determinadas rpm, que irão permitir a utilização destes produtos biológicos na fase analítica. Na triagem é feita uma separação dos tipos de produtos elaborados, bem como o estado dos mesmos e um tratamento pré analítico destes. Aquando da chegada dos produtos biológicos, estes são pistolados através do seu código de barras, para confirmar a receção, o tipo de preparação e a que análises se destina. Esta parte é muito importante, pois o laboratório, para além de realizar as suas próprias análises, envia algumas amostras para os laboratórios do grupo, no caso de análises mais específicas para determinados utentes. Assim, através do código de barras do produto biológico é possível saber não só para onde será enviado a amostra, mas também se existe algum tratamento pré analítico para o produto em questão. Através desta inserção do produto no sistema, nos processos analíticos tornar-se possível a elaboração das análises, uma vez que os equipamentos conseguem, deste modo, reconhecer o código de cada utente e através deste, saber quais as análises a elaborar.

Uma vez pistolado o código de cada produto e registado estes no sistema informático, é realizado um tratamento pré analítico. No caso dos tubos de soro, estes são centrifugados a 20°C durante 10 minutos, com uma velocidade de 4000 rpm, já os tubos de fluoreto de potássio e citrato de sódio sofrem uma centrifugação de 15 minutos a 20°C com uma velocidade de 3000 rpm. É igualmente importante referir que nos tubos de soro, mais propriamente os colhidos no laboratório, têm de ter um tempo de 15 minutos mínimo de espera após a colheita e a hora de centrifugação, com a finalidade de retração do coágulo. Todos estes tratamentos são efetuados após verificação da conformidade das amostras, sempre que chegam ao laboratório. Se estas não estiverem em conformidade, são rejeitadas e o laboratório informa o utente que terá de se

deslocar novamente ao posto de colheitas para efetuar nova colheita. A conformidade das amostras segue vários critérios de seleção, nomeadamente: amostra suficiente, amostra não coagulada, amostra colhida em tubos próprios, amostra colhida na presença de assepsia (urina) ou ainda a temperatura de acondicionamento das amostras ter excedido o limite durante o transporte.

2.2 Fase analítica

Uma vez rececionadas e triadas as amostras, estas seguem para as devidas secções de análise iniciando-se a fase analítica, que compreende um conjunto de procedimentos laboratoriais manuais e automatizados, seguidos por determinadas normas de controlo de qualidade interno e externo. Nesta fase as amostras são lidas pelos equipamentos com a finalidade de estes, reconhecerem a amostra e o tipo de análise a realizar. Assim sendo, no fluxograma da figura 2 encontra-se esquematizada a fase analítica de cada secção do laboratório, bem como os diversos equipamentos utilizados e os tipos de parâmetros laboratoriais analisados.

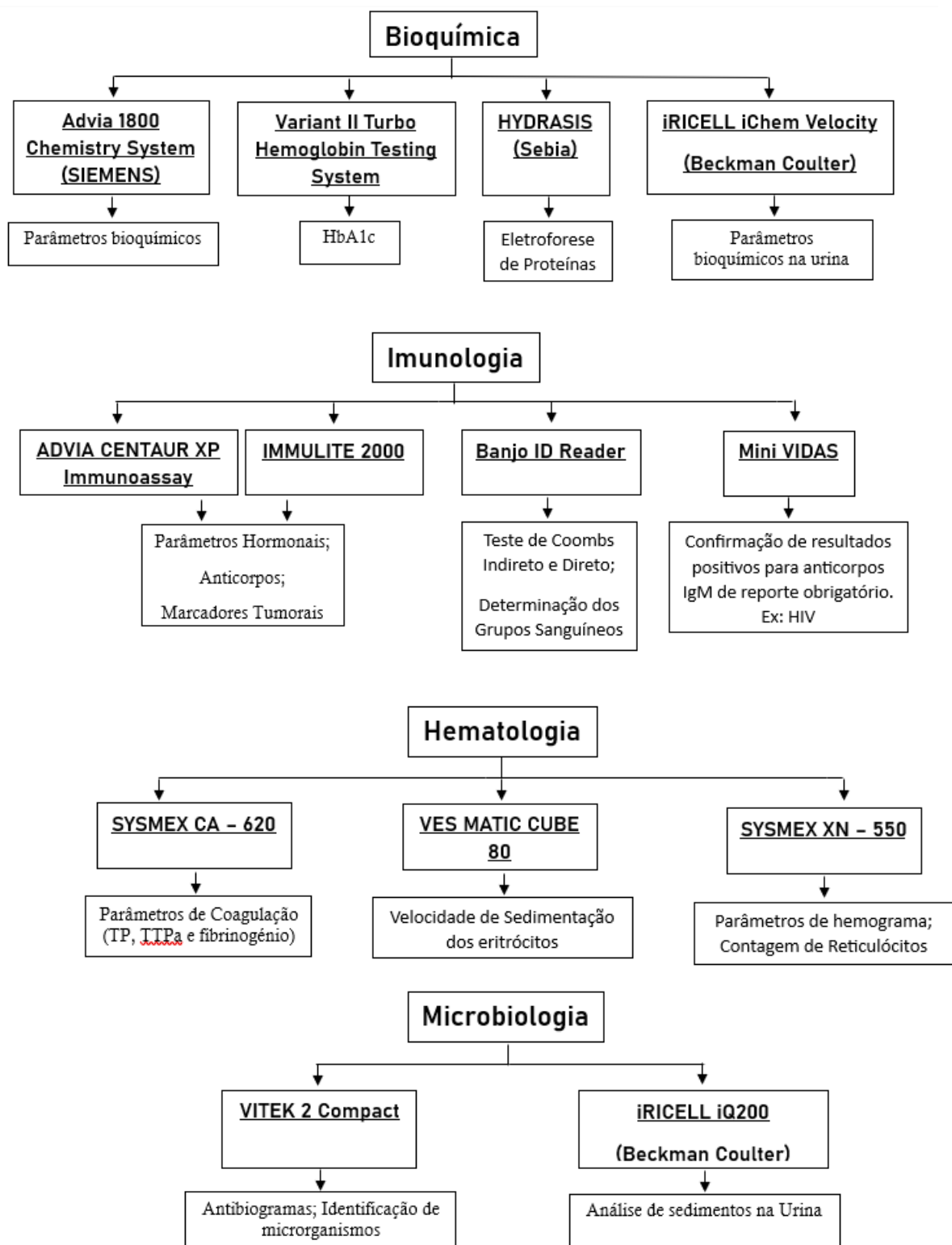


Figura 2- Fluxograma da fase analítica no laboratório SYNLABHEALTH AL ENTEJO, incluindo os diversos equipamentos utilizados.

A fase analítica para além de compreender a análise de amostras dos utentes, constitui também tal como dito anteriormente, uma série de controlos de qualidade, a fim de assegurar a qualidade nos resultados dos equipamentos e técnicas manuais efetuadas no laboratório. Assim,

este controlo permite obter uma maior exatidão nos resultados, de modo a poderem ser interpretados pelos médicos de forma inequívoca e, conseqüentemente, melhorar o diagnóstico e tratamento aos utentes, em caso de patologia.

Com o objetivo de assegurar as boas práticas laboratoriais e o controlo de qualidade das mesmas, o laboratório segue as Normas ISO 9001, ISO 15189 e o Manual de Boas Práticas Laboratoriais (MBPL).

Os controlos de qualidade do laboratório incluem o CQI (Controlo de Qualidade Interno) e a AEQ (Avaliação Externa da Qualidade). Ambos os controlos são muito importantes para a creditação do laboratório, permitindo o reconhecimento do mesmo no mercado. O CQI foi desenvolvido pela OMS (Organização Mundial de Saúde) tendo sido definido como um conjunto de procedimentos realizados regularmente no laboratório, de modo a permitir uma avaliação da qualidade do mesmo, em termos de precisão e exatidão de cada método.^[1] Deste modo, o laboratório assegura o CQI, através da aplicação diária de controlos por parte de cada técnico responsável de cada secção, sendo estes controlos, amostras qualitativamente e quantitativamente semelhantes a amostras de utentes. Assim, estas amostras são analisadas pelos equipamentos e são lhes atribuídos valores para cada parâmetro analisado. Estes valores representam não só valores de controlo normais, bem como valores de controlo patológicos, quer isto dizer, que cada equipamento e para cada parâmetro, são analisados todos os dias dois controlos. Um exemplo, no equipamento Variant II Turbo Hemoglobin Testing System, é a aplicação de um controlo equivalente a um utente com valores normais de hemoglobina glicada A1 (HbA1c) e a aplicação de outro controlo equivalente a um utente com valores elevados de HbA1c. Assim sendo, é avaliada a exatidão do equipamento, não só para uma gama de resultados, mas sim para todas as gamas de resultados, assegurando um maior controlo de qualidade. Todas estas amostras de controlo são processadas de modo semelhante às amostras biológicas dos utentes, a fim de assegurar uma melhor eficácia no controlo de qualidade. Uma vez obtidos os valores dos parâmetros determinados para os controlos, estes são automaticamente transmitidos pelos equipamentos para uma plataforma denominada de *Unity Real Time da BioRad*. Esta plataforma permite um registo e uma memória de todos os controlos realizados no laboratório em todos os equipamentos, e através desta, é possível verificar se os valores obtidos seguem as Regras de Westgard que são o conjunto de normas que regem esta plataforma e conseqüentemente a análise dos mesmos. Assim sendo, a aceitação dos controlos é analisada diariamente e só se procede ao trabalho em laboratório diário, após confirmação de todos os valores de controlo. Para estes serem aceites e validados, o valor tem de seguir uma curva de aceitação onde são fornecidos um intervalo de valores médios para cada parâmetro, tendo o valor do controlo de estar dentro desse intervalo.

Caso o valor de um controlo para um determinado parâmetro analítico não esteja na curva de aceitação, são então efetuadas medidas corretivas no equipamento, que passam na maioria das vezes por uma calibração para a técnica em questão. Esta calibração nos equipamentos, é

efetuada não só quando os valores de controlo saem fora do limite da curva, mas também quando a calibração da técnica no equipamento expira ou se for efetuada uma mudança de lote, tanto nos reagentes, como nos calibradores ou até mesmo nos controlos. Assim, a calibração das técnicas acaba por ser uma operação rotineira e muito importante para o controlo de qualidade por parte do laboratório e da credibilidade das análises efetuadas neste.

Ainda em termos de controlo de qualidade da fase analítica, é importante referir a vertente externa, que surge associada à integração por parte do laboratório num programa de avaliação externo, conhecido por AEQ. Este programa permite avaliar e assegurar a exatidão das técnicas e os resultados obtidos no laboratório, comparando estes com os obtidos em outros laboratórios. Esta avaliação é conseguida, pois este programa consiste na análise de controlos externos fornecidos aos laboratórios com valores desconhecidos para cada laboratório e conhecidos pelas entidades fornecedoras dos mesmos. Após efetuadas as análises nos diferentes laboratórios, os resultados obtidos nestes são comparados com os valores de referência (valores conhecidos e elaborados pela entidade fornecedora dos controlos) e, conseqüentemente, aceites as técnicas destes. Caso os resultados no laboratório não estiverem concordantes com os resultados padrão, o laboratório é avisado e são implementadas medidas corretivas das técnicas em que os controlos falharam. Através deste programa, é possível indicar a eficácia dos resultados obtidos no laboratório, permitindo deste modo, a acreditação e certificação do laboratório por parte das autoridades de saúde. O laboratório SYNLABHEALTH ALENTEJO participa em programas de avaliação externa da qualidade internacionais, tais como: a *Sociedad Espanhola de Hematologia y Hemoterapia* (SEHH), a *Sociedad Española de Química Clínica* (SEQC) e a *Randox International Quality Assessment Scheme* (RIQAS). Participa também no Programa Nacional de Avaliação Externa de Qualidade (PNAEQ).

2.3 Fase pós-analítica

Uma vez analisadas as amostras, os resultados são avaliados e validados pelos técnicos especialistas com base no estado clínico do utente, os resultados anteriores do mesmo e caso este faça alguma medicação específica, isso também é tido em conta. Deste modo, um controlo de qualidade interno correto e rigoroso favorece uma excelente prestação de serviços por parte do laboratório. Após validação dos resultados, os boletins de análise são entregues aos utentes.

Capítulo 3. Bioquímica

A realização de análises bioquímicas assume uma elevada importância no laboratório, pois estas são das mais pedidas nas requisições médicas. O resultado destas análises contribui para que os médicos possam realizar um diagnóstico e prognóstico, tal como monitorizar diversas patologias relacionadas com diferentes vias metabólicas e órgãos, avaliando a sua capacidade funcional.^[2]

Deste modo, são analisados perfis que contêm um conjunto de parâmetros que são característicos de determinados órgãos, sendo os mais avaliados nesta secção o coração, o fígado, o pâncreas e os rins. Para além destes, é avaliado o estado de diversas vias metabólicas, principalmente as relacionadas com o metabolismo dos lípidos e do ferro. Ainda nesta secção, realiza-se a quantificação de sais e das principais proteínas séricas e a monitorização da HbA1c, bastante importante no controlo da Diabetes *mellitus*.

A secção dedicada à bioquímica neste laboratório, tem incorporado um sistema de braço robótico (VersaCell X3) que permite a leitura e distribuição das amostras para o equipamento Advia 1800 Chemistry System e Advia Centaur XP Immuniassay System, responsável pela determinação da maior parte dos parâmetros imunológicos neste laboratório. O sistema VersaCell X3 estabelece a ligação entre os dois equipamentos anteriormente designados, permitindo uma maior rapidez no processamento das amostras, uma vez que enquanto uma amostra é pipetada num equipamento, o outro não se encontra parado, mas sim a pipetar outra amostra, de modo a irem intercalando e realizando as análises de uma forma muito mais rápida e eficiente. Para além da ligação entre ambos os equipamentos, o VersaCell X3 permite ainda a comunicação com o servidor do laboratório, de modo a interagir com os equipamentos acoplados, isto é, este transmite aos outros dois equipamentos quais análises realizar a cada amostra e, após estas serem concluídas, envia os resultados para a base de dados do laboratório, sendo posteriormente analisados e validados pelos especialistas.

Ainda na secção de bioquímica, existem mais 3 equipamentos para determinação de parâmetros fundamentais ao diagnóstico clínico. O Variant Turbo II Hemoglobin Testing System é utilizado para a quantificação da HbA1c e o equipamento Hydrasis da empresa (Sebia) para a determinação das proteínas plasmáticas. Por fim, o equipamento para determinação dos parâmetros bioquímicos na urina é o iRICELL iChem Velocity da empresa (Beckman Coulter).

Em todos os equipamentos são efetuadas as calibrações e os controlos de qualidade internos diariamente, ao início e a meio do dia, para garantir a boa sensibilidade das técnicas de análise, bem como a sua fiabilidade. Para além deste controlo, ainda são elaborados controlos de qualidade externos, com menor frequência. Em seguida, será descrito o modo de funcionamento de cada equipamento, bem como os parâmetros analisados por cada um.

3.1 Advia 1800 Chemistry System

As análises aos parâmetros bioquímicos efetuados pelo sistema Advia 1800 Chemistry System são realizados num diagnóstico *in vitro* utilizando as técnicas de espectrofotometria e potenciometria indireta, para a determinação de 36 parâmetros bioquímicos, em vários tipos de amostras biológicas, tais como: soro, plasma e urina (Tabela 1). A espectrofotometria é utilizada para a maior parte dos parâmetros analisados e a potenciometria indireta para o ionograma que compreende a determinação de sódio, cloro e potássio (Na⁺, Cl⁻ e K⁺), respetivamente.

Tabela 1- Parâmetros quantificados no sistema ADVIA 1800, tipos de perfis e técnicas utilizadas.

Parâmetro Determinado	Técnica Utilizada	Perfil	Equipamento
Gama-glutamyltransferase (GGT)	Espectrofotometria	Hepático	ADVIA 1800 Chemistry System
Lactato desidrogenase (LDH)			
Aspartato aminotransferase (AST)			
Alanina aminotransferase (ALT)			
Bilirrubina direta (BILD)			
Bilirrubina total (BILT)			
Fosfatase alcalina (ALP)			
Ácido úrico (UA)			
Albumina (ALB)			
Ureia (UREA)			
Creatinina (CRE)			
Amilase (AMYL)			
Glicose (GLUC)			
Triglicéridos (TRIGL)	Espectrofotometria	Lipídico	
Colesterol (CHOL)			
Lipoproteína de baixa densidade (LDL)			
Lipoproteína de alta densidade (HDL)			
Ureia (UREA)	Espectrofotometria	Renal	
Ácido úrico (UA)			
Creatinina (CRE)			
Fósforo (P)			
Ferro (IRON ₂)	Espectrofotometria	Metabolismo do Ferro	
Ferritina (FERR)			
Transferrina (TRSF ₂)			
Capacidade total de fixação do ferro (TIBC)			
Cloro (Cl)	Potenciometria indireta	Eletrolítico	
Potássio (K ⁺)			
Sódio (Na)			
Antiestreptolisina-O (ASO)	Espectrofotometria	Bacteriano	
Cálcio (Ca)	Espectrofotometria	Endócrino	
Fator Reumatóide			
Magnésio (Mg)	Espectrofotometria	Cardíaco	
Lactato desidrogenase (LDH)			
Creatina Quinase (CK)			
Proteína-C-Reativa (pCR)	Espectrofotometria	Proteínas Séricas	
Proteínas totais (PT)			
Albumina (ALB)			

3.1.1 Espectrofotometria

A espectrofotometria é um método de análise ótico, que se caracteriza pela medição quantitativa de uma determinada intensidade de luz, a um comprimento de onda específico, para cada analito. Deste modo, esta técnica depende especificamente das propriedades fotométricas de cada analito, pois cada um absorve a luz emitida a um determinado comprimento de onda específico. Esta técnica baseia-se na lei de Lambert-Beer, em que a concentração de um determinado analito presente numa amostra é diretamente proporcional à quantidade de luz absorvida ou inversamente proporcional ao logaritmo da luz transmitida. Esta lei é definida pela seguinte fórmula: $A = \epsilon lc$, onde o parâmetro A é uma grandeza adimensional e corresponde à absorvância medida após o feixe de luz atravessar a solução que contém o analito em estudo. O segundo parâmetro é ϵ que corresponde à absorvidade molar ou coeficiente de extinção molar e tem como unidades ($L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A ϵ é uma propriedade intrínseca de cada analito, que varia consoante o comprimento de onda utilizado na reação fotométrica, e com a temperatura deste, bem como o solvente no qual o analito se encontra dissolvido. O parâmetro l corresponde ao caminho ótico realizado pelo feixe de luz, ou seja, corresponde à distância que a luz percorre ao atravessar a solução. Por fim, o parâmetro c corresponde à concentração do analito.^{[3][4]}

As determinações espectrofotométricas, baseiam-se na interação entre os reagentes e os analitos através de reações enzimáticas, obtendo-se um produto que pode ser quantificado especificamente a um determinado comprimento de onda pelo equipamento. Um exemplo é a análise da fosfatase alcalina, em que o reagente auxiliar contém *p-nitrofenilfosfato* (p-NPP). Este, na presença da enzima num tampão de transfosforilação 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP), forma *p-nitrofenol* (p-NP). Por sua vez, a concentração deste último é proporcional à absorvância, medida a 410 nm, que se traduz posteriormente na atividade da fosfatase alcalina e, desta forma, na sua concentração na amostra biológica.^{[5][6]}

3.1.2 Potenciometria Indireta

O ADVIA 1800 utiliza a potenciometria indireta para a determinação da concentração dos iões que compõem o ionograma presente nas amostras biológicas analisadas. Esta técnica consiste na determinação da diferença de potencial elétrico existente numa célula eletroquímica entre dois elétrodos numa solução eletrolítica. Um corresponde ao elétrodo indicador que tem como função responder à atividade do analito e o outro corresponde ao elétrodo de referência que possui um potencial constante e conhecido. O potencial medido entre os dois elétrodos é um potencial que varia o seu valor consoante a concentração de analito presente na amostra a ser analisada. Uma vez medido o potencial entre ambos os elétrodos, por meio da equação de Nernst é possível obter a concentração do analito presente na amostra em análise.^[3]

Na determinação do ionograma, o equipamento utiliza como princípio a potenciometria indireta, onde são utilizados elétrodos seletivos de íons Na^+ , Cl^- e K^+ (ISE) que irão responder seletivamente aos íons respetivos, de acordo com a equação de Nernst. Durante esta determinação, o tampão ISE é misturado com a amostra, proporcionando uma solução a um pH e uma resistência iónica constante. Posteriormente a esta estabilização, a solução é movimentada pelo ISE e, deste modo, há alteração no seu potencial elétrico. Assim, por comparação do potencial elétrico da solução com o do um eletrodo de referência, determina-se a concentração correta de cada íon na amostra em análise.^{[2][7]}

3.1.3 Perfil Hepático

O perfil hepático é um dos perfis bioquímicos de maior relevância, devido ao facto de o fígado ser muito importante em todo o metabolismo ocorrido no corpo humano. O fígado é o maior órgão interno do corpo humano e apresenta funções fundamentais no organismo, nomeadamente na metabolização de substâncias tóxicas, tais como álcool, fármacos, toxinas e drogas e na metabolização dos nutrientes como proteínas, lípidos e glicose., Adicionalmente, o fígado é responsável pelo metabolismo dos ácidos biliares, das vitaminas e também do ferro, uma vez que este último se liga à transferrina produzida no fígado. Esta ligação permite o seu transporte na corrente sanguínea e impedindo que o ferro se encontre livre no sangue, e evitando toxicidade no organismo.^[8]

Como forma de avaliar a função hepática e diagnosticar doenças hepáticas, diversos parâmetros são quantificados no laboratório, tendo como princípio, que em casos de lesões hepáticas existe uma libertação de diversas enzimas que são quantificadas no soro, devido à necrose dos hepatócitos ou alteração da permeabilidade hepática.^[8]

Os principais parâmetros determinados em laboratório para a avaliação da função hepática encontram-se mencionados na tabela 1, sendo os de maior importância, a γ -glutamil transferase (GGT), a fosfatase alcalina, as aminotransferases (ALT e AST) e as bilirrubinas (direta e indireta). A GGT é a enzima hepática responsável por catalisar a transferência de grupos glutamilo entre aminoácidos. Por outro lado, as aminotransferases, catalisam a transferência de grupos amina de um aminoácido para um α -cetoácido. Outra enzima bastante importante é a fosfatase alcalina, devido ao facto de catalisar a hidrólise de monoésteres de fosfato, em pH alcalino. Estas enzimas encontram-se em níveis elevados no soro, nomeadamente as aminotransferases, devido a necrose celular, a GGT no caso de obstrução hepatobiliar, e a GGT e a fosfatase alcalina, quando existe alguma hepatopatia. Assim sendo, é muito importante quantificar estas enzimas para se obter informação no diagnóstico de hepatopatias.^{[8][9][10]}

Para além das enzimas, a bilirrubina, seja a direta ou a total, é muito importante para avaliar o sistema hepático e biliar, uma vez que provem principalmente da conversão do ferro removido da degradação dos eritrócitos senescentes, ocorrida no baço. A bilirrubina também pode ser

proveniente da medula óssea por destruição de eritrócitos imaturos ou por catabolismo de citocromos, catalases e mioglobina.^[11] A bilirrubina dita indireta, é a bilirrubina resultante da sua ligação com a albumina, que permite o seu transporte até ao fígado e a bilirrubina direta é a caracterizada por estar conjugada com ácido glucurónico, de modo a permitir a sua excreção pelo sistema biliar, onde esta é metabolizada, formando o urobilinogénio que é um composto químico incolor.^[8] Estas duas formas de bilirrubina são importantes para o diagnóstico de patologias hepáticas, devido ao facto de que elevadas concentrações destas no soro poderão resultar de uma má conjugação com o ácido glucurónico, aumentando a quantidade de bilirrubina livre no sangue (hiperbilirrubinemia) e originando icterícia.^{[10][12]}

3.1.4 Perfil Pancreático

Em termos de perfil pancreático, é importante salientar as duas funções do pâncreas no organismo: a função endócrina, com produção de hormonas, como a insulina e o glucagon e a função exócrina que tem como objetivo a produção de enzimas, nomeadamente enzimas digestivas. É principalmente através da determinação da concentração de uma destas enzimas (Amilase), que se consegue obter um diagnóstico do funcionamento deste órgão. ^[13]

Ao contrário da amilase proveniente da saliva, o aumento da concentração desta enzima no soro, pode indicar um distúrbio pancreático, pelo que a sua avaliação tem como principal função, auxiliar a monitorização e o diagnóstico de doenças pancreáticas, nomeadamente a pancreatite aguda. ^[13]

3.1.5 Perfil Lipídico

Os lípidos assumem-se como a principal fonte de energia para o corpo humano, devido à sua estrutura molecular e ao seu armazenamento como forma de reserva energética, com a finalidade de serem utilizados em caso de défice energético no organismo. Para além de serem a principal fonte de energia no metabolismo, estes ainda possuem a função na produção de hormonas e na estrutura das membranas biológicas.^[14]

Como forma de transporte dos lípidos no sangue, e uma vez que estes possuem uma natureza hidrofóbica, após a sua absorção são transportados pelas lipoproteínas plasmáticas, que permitem a sua solubilização no sangue. Estas são formadas por uma camada hidrofílica, constituída por colesterol livre, fosfolípidos e proteínas (apoproteínas). Para além desta camada, as lipoproteínas possuem ainda uma camada interior com um perfil hidrofóbico, devido ao seus constituintes triglicéridos e colesterol esterificado. Consoante o teor de cada constituinte destas lipoproteínas, conferem-lhe densidade e mobilidade eletroforética diferentes, o que permite distinguir diferentes classes de lipoproteínas, nomeadamente os quilomícrons, as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteínas de densidade intermédia (IDL), as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e as lipoproteínas de alta densidade (HDL).^[15]

Como forma de avaliar o perfil lipídico de um utente, neste laboratório, são analisados vários parâmetros tais como os triglicéridos, colesterol total, a LDL e a HDL.

3.1.6 Perfil Renal

Os rins são dois órgãos com funções bastantes importantes na purificação do sangue, através da excreção de metabolitos e toxinas pela urina e na regulação do potencial hidro-eletrolítico do organismo, uma vez que controlam a hidratação e os sais minerais (eletrólitos). Para além destas duas funções, os rins também são os órgãos responsáveis por converter a vitamina D na sua forma biologicamente ativa e por produzir a eritropoetina que é a hormona que regula a produção de eritrócitos, contribuindo para uma manutenção da oxigenação do organismo.^[16]

Como forma de avaliar o estado de funcionamento dos rins, recorre-se à determinação da concentração de vários parâmetros séricos tais como: ureia, ácido úrico, creatinina e fósforo. A ureia assume-se neste perfil como sendo um metabolito formado pelo organismo, como resultado da degradação proteica e é excretado deste através do sistema urinário, daí ser muito importante quantificar este parâmetro, para avaliação da função de excreção do rim.^[10]

O ácido úrico é um metabolito produzido no fígado, como resultado do catabolismo das purinas. Quando aumenta a sua concentração no sangue, pode indicar um distúrbio renal ou distúrbio na metabolização das purinas existentes nos ácidos nucleicos. Deste modo, este parâmetro é também de elevado interesse para o diagnóstico de doenças associadas ao catabolismo dos ácidos nucleicos, tais como leucemia por exemplo.^[17]

Para além dos dois parâmetros anteriormente mencionados, a creatinina que é um produto do metabolismo da fosforilação da creatina-fosfato no músculo, também se assume muito importante neste perfil. Esta é eliminada da corrente sanguínea por meio da filtração glomerular, pelo que se existir um aumento da sua concentração no soro, indica redução da função renal.^{[9][10][17]}

3.1.7 Metabolismo do ferro

O estudo dos parâmetros relacionados com o metabolismo do ferro, são bastante importantes, uma vez que este funciona como cofator de diversas enzimas. Quer isto dizer, que este assume um papel fundamental no que toca ao metabolismo de oxidação celular, ou metabolismo energético, na síntese de DNA e, também na hemoglobina, como cofator de transporte de oxigénio pela corrente sanguínea.^[12]

Os parâmetros avaliados neste perfil são a transferrina, a ferritina, o ferro sérico livre e a capacidade total de fixação do ferro (TIBC). A transferrina é muito importante para o diagnóstico de doenças associadas à desregulação do metabolismo do ferro, porque esta liga-se ao ferro na forma Fe^{3+} , permitindo a circulação deste na corrente sanguínea até à medula óssea,

onde em conjunto com os precursores eritroides irão captar o ferro e sintetizar a hemoglobina. O ferro sérico livre é importante para o diagnóstico de desregulações no metabolismo do ferro, em conjunto com a transferrina, pois, caso este esteja em quantidade superior ao valor teórico e a ferritina apresentar valores inferiores ao valor teórico, irá indicar que a capacidade de ligação do ferro à transferrina foi ultrapassada, fazendo com que este fique livre no plasma, tendo efeitos nocivos para os tecidos. Assim sendo, a TIBC é também muito importante, pois avalia a capacidade de ligação entre o ferro livre e a transferrina. Por fim, a ferritina é outro parâmetro para quantificar o estado de reservas de ferro no organismo, uma vez que a quantidade de ferro depositada nos tecidos se encontra em equilíbrio com a concentração sérica da mesma. Exemplo de doenças associadas ao metabolismo do ferro são a anemia hemolítica, a hemocromatose e hepatopatias, entre outras.^{[10][12]}

3.1.8 Perfil Eletrolítico

Em termos de perfil eletrolítico, é importante salientar que o conjunto de parâmetros determinados neste, permitem avaliar o equilíbrio hidro-eletrolítico extracelular e o potencial elétrico das membranas celulares, que são muito importantes para a atividade e fisiologia celular. Este perfil permite determinar a concentração dos íons responsáveis pela manutenção das membranas celulares, sendo estes o (K^+), (Cl^-) e o (Na^+).^[18]

A determinação da concentração do K^+ é importante, não só por este fazer parte da manutenção das membranas celulares, mas também por este ser o cátion mais abundante no interior das células, e que em conjunto com o Na^+ participam na manutenção da pressão osmótica. Por outro lado, o Cl^- também desempenha um papel muito importante neste perfil, pois é o ânion extracelular mais abundante e tem como características, uma fácil difusão pela membrana celular, o que lhe permite acompanhar os movimentos da água ao atravessar a membrana celular.^[18]

3.1.9 Perfil Bacteriano

No perfil bacteriano, com o objetivo de identificar a infeção por *Streptococcus pyogenes*, é medida no soro a concentração de anticorpos Anti-estreptolisina-O (ASO), que são anticorpos produzidos contra a estreptolisina-O que é uma toxina produzida por esta bactéria. É de extrema importância realizar esta análise, pois esta bactéria é altamente infecciosa e é responsável por diversas doenças, tais como: amigdalite, faringite, febre reumática ou escarlatina, entre outras. Assim sendo, o rápido diagnóstico da infeção permite o tratamento do utente num estado precoce da infeção, minimizando ou anulando os sintomas causados pelas doenças anteriormente mencionadas.^[19]

3.1.10 Perfil Endócrino

O sistema endócrino é fundamental na regulação dos diferentes órgãos do organismo. Este sistema é composto por diversas glândulas que secretam hormonas que atuam como sinalizadores químicos nos diferentes locais alvo da regulação. Uma forma de garantir essa ação hormonal passa pelo transporte desde o local de síntese até ao órgão alvo através da sua circulação sanguínea. No órgão alvo, a interação hormonal é garantida através da ligação das hormonas aos seus recetores específicos permitindo a regulação e o bom funcionamento do organismo.^[20] Os dois parâmetros quantificados neste laboratório, que permitem aferir o estado deste perfil no utente são o cálcio e o fator reumatoide.

O cálcio tem como uma das suas funções, sinalizar a interação das células com as proteínas extracelulares, controlando assim a função destas últimas. Um exemplo desse controlo é o processo de coagulação sanguínea. Como este funciona como um ativador da coagulação sanguínea, se existir alguma deficiência na sua concentração, seja hipercalcemia ou hipocalcemia respetivamente, irá verificar-se alteração no processo de coagulação sanguínea.^[21]

Por outro lado, o fator reumatoide, também assume um papel preponderante, uma vez que corresponde a autoanticorpos pertencentes à classe das IgM que atuam contra a região Fc das IgG. Estes autoanticorpos, exercem a sua função de defesa (atacam) nos próprios tecidos, assumindo-os como “desconhecidos”. Deste modo, os valores da concentração do fator reumatoide servem de auxílio ao diagnóstico de diversas doenças autoimunes, tais como: artrite reumatoide, endocardite e hepatite.^[22]

3.1.11 Perfil Cardíaco

Como forma de avaliar o músculo cardíaco e as suas funções, vários parâmetros são determinados, sendo os principais o Magnésio (Mg), a Lactato desidrogenase (LDH) e a Creatina Quinase (CK).

O magnésio é um catião presente no organismo que tem como uma das suas principais funções ser um cofator de diversas enzimas responsáveis pela conversão da energia no músculo, permitindo uma melhor contração muscular, neste caso no musculo cardíaco.^[23]

A LDH, tem como principal função a catalisar a reação de conversão do lactato em piruvato, utilizando o NAD+ como cofator. A presença desta enzima na maioria dos tecidos do organismo, tais como o coração, o fígado, os rins e o pulmão, entre outros, faz com que em caso de lesão nestes, esta seja libertada e a sua concentração sérica aumente. Deste modo, esse aumento sérico indicará a existência de alguma patologia nos tecidos em questão. Embora não seja muito específica, o doseamento desta em conformidade com outros exames servirá para confirmar o diagnóstico de diversas patologias, como por exemplo, enfarte do miocárdio.^[10]

A enzima creatina cinase é uma enzima importante para o perfil cardíaco, pois existe em elevadas concentrações no miocárdio. O papel desta enzima, passa por catalisar a reação de formação de adenosina trifosfato (ATP), através da transferência de um grupo fosfato da creatina-fosfato para o ADP e formação de creatina. Em suma, o ATP é utilizado como fonte de energia no metabolismo das células e quando se verifica um aumento da concentração de CK no soro, poderá indicar a existência de lesão no miocárdio, devido à libertação desta enzima por parte deste. Deste modo, a quantificação da creatina cinase permite inferir o estado do miocárdio, daí ser bastante importante para este perfil. [10]

3.1.12 Perfil de Proteínas séricas

As proteínas, são constituídas por agregados de aminoácidos ligados entre si covalentemente, o que faz com que estas assumam diferentes estruturas com diferentes tamanhos, consoante os aminoácidos constituintes de cada uma, o pH do meio que as envolve e a sua carga elétrica por meio da diversidade de aminoácidos que as constituem. Através destas diferenças entre si, cada uma das proteínas formadas possuem uma função específica no organismo. As proteínas séricas apresentam diferentes funções no organismo, nomeadamente função estrutural, reguladora, imunológica, transporte, contração muscular, reserva e enzimática. [24]

Assim sendo, proteínas presentes no soro, que são quantificadas incluem as proteínas totais, a proteína C reativa e a albumina. Recorre-se ao doseamento destes três parâmetros, pois a Albumina é a proteína mais abundante no plasma e a proteína C reativa é a proteína cujo aumento da sua concentração sérica indica uma resposta inflamatória e, por isso, se designa de proteína de fase aguda mais precoce, fornecendo um grande auxílio no diagnóstico de inflamações e infeções. Para além destas duas proteínas, ainda são doseadas as proteínas totais. A maior parte das proteínas plasmáticas são sintetizadas hepaticamente e por meio do aumento ou diminuição da síntese destas, a concentração de proteínas totais no sangue aumenta ou diminui respetivamente. Deste modo, através do doseamento das proteínas totais, consegue-se obter valores de interesse para o diagnóstico de hepatopatias e patologias renais. [10]

3.2 Variant Turbo II Hemoglobin Testing System

Como mencionado anteriormente, o sistema Variant Turbo II Hemoglobin Testing System, é utilizado no laboratório para a determinação dos valores da HbA1c. Este sistema é bastante eficiente e permite a obtenção dos valores desta hemoglobina num curto espaço de tempo, ou seja, cerca de 97 segundos por amostra. Este equipamento utiliza a cromatografia líquida de elevada eficiência (HPLC) por troca iónica para efetuar uma separação da HbA1c. Uma vez obtidos os cromatogramas das amostras analisadas, este equipamento permite a transferência dos resultados obtidos para o sistema informático do laboratório, de modo que estes valores estejam disponíveis para validação pelos técnicos especialistas.

Diariamente na rotina deste equipamento, são passados 2 vezes controlos, uma ao início do dia e outra a meio do dia e em ambos são aplicados controlos com dois níveis, um alto e outro baixo, de modo a realizar um controlo rigoroso em todas as amplitudes de resultados dos cromatogramas e de acordo com o controlo de qualidade exigido na norma da DGS nº 033/2011, atualizada a 06/12/2012.^[25] A HbA1c resulta de uma reação denominada de glicação, que ocorre entre a glicose que circula na corrente sanguínea e os grupos amina livres constituintes da hemoglobina dos eritrócitos. Esta reação é caracterizada como sendo lenta, não enzimática e irreversível. Esta última característica da reação de glicação é muito importante, pois tendo em conta que é irreversível, a concentração da HbA1c determinada é efetivamente a que existente na amostra e corresponde em média a concentração desta hemoglobina nos últimas 8 a 12 semanas, devido ao tempo médio de vida dos eritrócitos ser de 120 dias. Assim sendo, este parâmetro é utilizado para o controlo da diabetes *mellitus*, uma vez que indica a glicémia média dos últimos 3 meses, daí normalmente ser o período pedido entre cada análise para os utentes.^[26]

Segundo a norma nº 002/2011 da DGS, o diagnóstico da diabetes é realizado tendo em conta os valores de glicémia ou os valores de HbA1c. Neste caso, a glicémia em jejum para ser considerado diabético tem de ser superior ou igual a 126mg/dL ou então possuir uma HbA1c superior ou igual a 7,0mmol/L. Caso a análise seja realizada ocasionalmente e existam sintomas clássicos da patologia, os utentes tem de apresentar uma concentração de glicémia ocasional ou uma HbA1c superior ou igual a 200mg/dL e maior ou igual a 11,1mmol/L respetivamente, para serem diagnosticados como diabéticos. Outro método de diagnóstico desta patologia é, recorrendo à prova de tolerância à glicose oral (PTGO) com 75g de glicose administrada, e medir a concentração de glicémia no plasma que deverá ser igual ou superior à concentração de 200mg/dL ou então a HbA1c maior ou igual a 11,1 mmol/L ao fim de 2 horas após a ingestão da glicose. Se não se tiver acesso ao valor da glicémia do utente, o valor da HbA1c terá de ser superior ou igual a 6,5%. Uma vez apenas considerado a HbA1c pode se dizer segundo a norma que se o valor desta for superior a 5,6% o utente em questão não é diabético, se este possuir uma HbA1c compreendida entre os 5,7 e 6,4%, possui um risco elevado de desenvolver a patologia e se este apresentar uma HbA1c superior ou igual a 6,5%, tal como mencionado anteriormente este é diagnosticado como diabético.^[26]

É importante mencionar que o diagnóstico desta patologia é realizado tendo como referência as diversas alíneas da norma da DGS nº 002/2011, onde consta a forma de procedência para uma avaliação mais fiável no diagnóstico desta patologia, tanto em utentes assintomáticos como em utentes não assintomáticos.

3.2.1 HPLC

A cromatografia líquida de alta eficiência de troca iónica é a técnica utilizada pelo equipamento Variant Turbo II Hemoglobin Testing System. Esta técnica, tem como princípio de fundamento,

a interação electrostática entre uma fase móvel “soluto”, que neste caso é a hemoglobina glicada A_{1c} e as suas derivadas, e entre uma fase estacionária carregada de iões numa superfície sólida que é a coluna cromatográfica.

A amostra em análise é o sangue proveniente de um tubo de EDTA, assumindo-se como a fase móvel. Este, ao percorrer a coluna, irá se ligar por meio de ligações iónicas entre as moléculas carregadas negativamente na coluna e as moléculas carregadas positivamente de HbA_{1c}. Deste modo, as moléculas que não tenham afinidade para a coluna, são eluídas em primeiro lugar e as moléculas de afinidade com a coluna irão ficar mais retidas na eluição. Ao fim de um tempo específico e uma vez concluída a eluição dos componentes que não interagem com a coluna, é aplicado um eluente que permitirá eluir as moléculas de HbA_{1c}, competindo com as ligações estabelecidas entre a coluna e estas. Uma vez eluídas, estas são detetadas pelo detetor do cromatógrafo.^[27]

3.3 Hydrasis (Sebia)

Para a quantificação bioquímica de proteínas presentes no soro sanguíneo, utiliza-se o equipamento Hydrasis (Sebia) que tem como método de análise a eletroforese em gel de agarose. Este equipamento designa-se semi-automático, pois é necessária uma ação do operador, na ótica da preparação da amostra que envolve a pipetagem do soro sanguíneo, aplicação no aplicador designado e, posteriormente, a colocação deste contendo as amostras no equipamento. Todas estas operações efetuadas pelo operador, são realizadas de forma sequencial. Uma vez colocado o aplicador das amostras no equipamento, este ao fechar a tampa, irá contactar com os eléctrodos e com a superfície do gel, onde se iniciará a fase de migração eletroforética. Após a migração, os eléctrodos são desligados e dá-se início à fase de secagem do gel. Após o processo de migração estar concluído, retiram-se os aplicadores e é removido o gel e aplicado em outro compartimento, para se proceder à fase de coloração, descoloração e secagem do mesmo. Uma vez preparado o gel e já com as bandas visíveis, este é removido e seco da parte de trás com um papel, e em seguida é lido pelo densitómetro a 570nm, permitindo obter os proteínogramas que irão ser analisados pelos especialistas do laboratório para a sua validação.

As proteínas são separadas consoante a sua carga eléctrica durante a eletroforese e na coloração são coradas com negro de amido, de modo a formar bandas visíveis e passíveis de serem lidas e traduzidas para um gráfico (proteínograma) após leitura no densitómetro. As proteínas quantificadas são a Albumina, a Alfa 1, Alfa 2, Beta e Gamma, como apresentado na tabela 2 e figura 3.

Tabela 2- Parâmetros determinados pelo equipamento Hydrasis (Sebia) e técnicas utilizadas.

Parâmetro Determinado	Técnica Utilizada	Equipamento
Albumina	Eletroforese e Densitometria	Hydrasis (Sebia)
Alfa 1		
Alfa 2		
Beta		
Gamma		

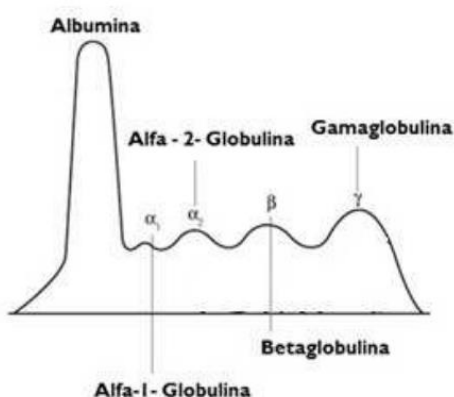


Figura 3- Perfil eletroforético das proteínas plasmáticas em um pH Alcalino Adaptado de [23].

A determinação destas frações de proteínas permite revelar os tipos de proteínas presentes no soro, bem como a concentrações e a consequente identificação de padrões eletroforéticos patológicos típicos.

3.3.1 Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, representando aproximadamente 60% da concentração total de proteínas plasmáticas. É sintetizada integralmente no fígado e as suas principais funções incluem o transporte de várias substâncias e a manutenção da pressão osmótica. Esta proteína, apresenta-se como sendo uma proteína de baixo peso molecular, pelo que , tende a ser perdida na urina, caso os glomérulos renais sejam danificados.[24]

A hipoalbuminemia ou seja, a diminuição sérica desta proteína, é uma condição altamente inespecífica associada a várias doenças. A partir da eletroforese de proteínas, esta pode apresentar um pico menor que o normal, uma vez que a sua concentração sérica se encontra diminuída. Esta condição surge associada a fatores comuns em diversas condições, no caso da redução da síntese desta proteína, associa-se a cirrose hepática e hepatites virais. O aumento do

catabolismo, também é associado a diversas condições, tais como: infecções bacterianas graves, neoplasias malignas, insuficiência cardíaca congestiva, inflamação crônica e doenças infecciosas. A hipoalbuminemia poderá ser devido a uma deficiente ingestão de proteínas (desnutrição proteica) ou devido à perda desta proteína através dos glomérulos renais e do intestino. Quando a Albumina apresenta concentrações extremamente mais baixas no proteínograma, é uma indicação de que o utente possuiu síndrome nefrótica.^[24]

A hiperalbuminemia, ou seja, o aumento desta proteína sérica, indica que o utente se encontra em um estado de desidratação, devido a: diarreia, vômitos ou a transpiração excessiva.^[23]

3.3.2 α -1-Globulinas

O grupo das α -1-Globulinas é constituído por diversas proteínas como: alfa-1-antitripsina, protrombina, transcortina, globulina ligadora de tiroxina e alfa-fetoproteína. De uma forma geral, a proporção destas proteínas poderá aumentar inespecificamente a sua concentração sérica, caso o organismo esteja a passar por um processo de infeção, inflamação ou alteração da imunidade.^[24]

A proteína mais importante deste grupo é a alfa-1-antitripsina, devido ao facto de esta ser a mais abundante deste grupo, representando cerca de 90% do pico eletroforético para este grupo de proteínas. Esta proteína é codificada por dois alelos dominantes comuns, denominados M (mais comum) e Z (menos comuns). A homozigotia “ZZ” leva a que os indivíduos que a possuam, produzam níveis insuficientes desta proteína e que por sua vez desenvolvam duas patologias, a cirrose e o enfisema pulmonar.^[24]

3.3.3 α -2-Globulinas

À semelhança da banda alfa1, a banda alfa-2 também é composta por várias proteínas, sendo estas a α -2-macroglobulina, haptoglobina, ceruloplasmina, colinesterase e eritropoetina. Devido a um aumento da concentração deste conjunto de proteínas na presença de uma resposta imunológica, de um processo inflamatório ou de uma infeção, estas consideram-se, como proteínas de fase aguda. Dentro deste conjunto, surgem duas mais abundantes nesta banda, sendo estas a haptoglobina e α -2-macroglobulina.^[24]

Em termos de migração e comparando estas duas proteínas mais abundantes, a haptoglobina migra mais lentamente do que a α -2-macroglobulina, e tem como papel fundamental a ligação à hemoglobina libertada pelos glóbulos vermelhos durante a hemólise. Esta ligação tem como objetivo preservar o ferro existente no organismo, uma vez que, o complexo haptoglobina-hemoglobina formado, permite a sua eliminação do organismo, por ação das células do sistema reticuloendotelial. Ainda em relação à haptoglobina e muito importante para a interpretação da eletroforese, quando esta se encontra em níveis séricos reduzidos, nota-se no perfil eletroforético uma banda alfa-2-globulinas mais tênue.^{[23][24]}

Em relação à α -2-macroglobulina, é de denotar que esta é uma das maiores proteínas globulínicas plasmáticas e que deste modo a sua retenção no plasma se dá com maior facilidade, mesmo em casos de deficiência em proteínas. Em contrapartida, o aumento da concentração desta proteína é muito característico de quadros clínicos graves, como o exemplo da síndrome nefrótica. Ele é característico desta síndrome, pois as proteínas com menor peso molecular são excretadas mais facilmente, ficando assim esta proteína com concentrações séricas muito semelhantes à da Albumina que é a proteína mais abundante no plasma.^{[23][24]}

3.3.4 β -Globulinas

A banda das β -globulinas, à semelhança das banda α -globulinas, possui um conjunto de proteínas, sendo estas a transferrina, a β -lipoproteína e o componente C3 do complemento. Consoante a concentração destas proteínas, irá haver um maior ou menor pico no proteínograma, conforme a concentração destas seja maior ou menor respetivamente. Por meio destas variações, é conseguido detetar diversas patologias, uma delas é por exemplo a anemia associada à deficiência de ferro no plasma (anemia ferropénica), onde é detetada por meio de um aparecimento de um pico nesta banda associada à transferrina.^[24]

3.3.5 γ -Globulinas

Em termos eletroforéticos, este tipo de globulinas apresenta um menor arrastamento na eletroforese e é constituído pelas imunoglobulinas (Igs) IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. A IgG é a primeira que consegue migrar ao longo de toda a banda eletroforética representada para este conjunto de proteínas. O perfil desta banda corresponde à concentração desta imunoglobulina (Ig) no plasma. Ainda assim, é importante referir que a IgA é visualizada na zona onde esta banda de proteínas faz fronteira com a banda das β -Globulinas, o que permite identificar um aumento ou diminuição desta Ig mais facilmente.^{[23][24]}

As Igs representam os anticorpos produzidos pelos plasmócitos em resposta a um estímulo antigénico ou uma expansão clonal maligna das células representadas, o estudo destas revela-se muito significativa na identificação e diferenciação dos picos clonais no diagnóstico das Gamopatias monoclonais e policlonais.^[23]

O que torna todas estas proteínas plasmáticas (Albumina; α -1-Globulinas; α -2-Globulinas; β -Globulinas; γ -Globulinas) tão especiais para a avaliação do organismo do utente, é que estas possuem proveniência de várias regiões do organismo humano, bem como medula óssea, gânglios linfáticos, células plasmáticas, metabolismo do baço e do fígado. A partir deste princípio, o estudo destas revela-se bastante importante para determinar alterações no metabolismo de um determinado local de proveniência destas. Deste modo, estas proteínas assumem um papel preponderante na monitorização e diagnóstico de doenças de caris hepático, medular ósseo, renal, nutricional e metabólico.^{[23][24]}

3.3.6 Eletroforese

A eletroforese é uma técnica que envolve a separação de várias partículas constituintes de uma amostra, por meio da sua migração num meio de agarose sob a influência de um campo elétrico e tem como propriedades de migração, a carga das partículas. Consoante a carga de cada partícula, esta tem a capacidade de se mover em direção ao eletrodo positivo (ânodo) ou ao eletrodo negativo (cátodo) em um determinado pH do meio de eletroforese. Uma das propriedades a ter em conta desta técnica na separação das partículas, é que o tamanho delas é inversamente proporcional à mobilidade eletroforética, quer isto dizer que, quanto maiores as partículas, menor mobilidade eletroforética e menor distância percorrem na eletroforese, permitindo que estas fiquem mais próximas do local de aplicação. O mesmo acontece, para a viscosidade do meio eletroforético, uma vez que este é inversamente proporcional à mobilidade eletroforética. A carga das partículas também é importante, por ser diretamente proporcional à mobilidade eletroforética, deste modo quanto maior a carga, maior capacidade tem de se mover e mais afastada ficará do local de aplicação.^[23]

As proteínas são compostas por uma cadeia de aminoácidos e a conjugação destes dá a identidade da proteína, assim, por meio desta conjugação, estas terão um peso e carga elétrica diferentes entre si. É precisamente a partir destas diferenças, que a eletroforese se baseia para as separar.

Uma vez separadas as proteínas, é utilizada a densitometria, convertendo as bandas eletroforéticas em um gráfico, que é o gráfico da corrida eletroforética, que é analisado pelos médicos.

3.4 iRICELL iChem Velocity (Beckman Coulter)

A análise físico-química da urina é realizada pelo iChemVelocity e é um dos exames mais pedidos pelos médicos, pois consegue-se obter uma informação clínica importante no que toca ao diagnóstico de patologias renais.

O iChemVelocity é um equipamento com um sistema automatizado de química de urinas que determina os compostos físicos e químicos presentes na urina por meio da utilização de tiras de teste. Estas, por sua vez, irão efetuar uma interação entre os seus reagentes e os componentes da urina resultando numa alteração das cores das mesmas quer é medida automaticamente por refletofotometria. Este equipamento ao possuir a capacidade de determinar a cor e a claridade das tiras, torna possível realizar uma urianálise completa.^[28]

Os valores dos diversos parâmetros analisados na urina irão servir posteriormente para a validação e confirmação do resultado da análise de sedimentos da mesma. Os parâmetros determinados físico-quimicamente por este equipamento encontram-se representados na tabela 3.

Tabela 3- Parâmetros determinados pelo equipamento iRICELL iChem Velocity e técnicas utilizadas.

Parâmetro Determinado	Técnica Utilizada	Equipamento
pH	Tiras Reativas	iRICELL iChem Velocity (Beckman Coulter)
Sangue		
Glicose		
Leucócitos		
Proteínas		
Bilirrubina		
Urobilinogénio		
Corpos cetónicos		
Nitritos		
Ácido Ascórbico		
Cor		
Turvação		

3.4.1 Tiras reativas

O método das tiras reativas no equipamento iRICELL iChem Velocity da Beckman Coulter, baseia-se em interações entre os reagentes presentes nas tiras e os componentes da urina. Mediante a reação entre estes, a cor das tiras ficam alteradas e em seguida são lidas pelo equipamento e convertidas em resultados que posteriormente são transmitidos à base de dados do laboratório e analisados pelos especialistas. Cada parâmetro a ser determinado possui um reagente específico para reagir com a urina. Um exemplo destas reações é a reação que se dá em um meio ácido por parte da bilirrubina presente na urina e um sal de diazônio (tira), onde a cor da tira em questão fica de cor rosada que ficará mais intensa quanto maior for a quantidade de bilirrubina presente.^[28]

Capítulo 4. Imunologia e Serologia

A secção de imunologia é bastante importante no laboratório, pois é onde são realizadas análises que permitem detetar a presença de infeções ativas ou em fase aguda, devido ao facto de se detetar e dosear a presença de anticorpos envolvidos no combate a essas infeções, anticorpos IgM, desenvolvidos pelo sistema imunitário. Para além desta deteção de infeções ativas, é possível avaliar também a deteção de imunidade dos utentes para combater diversas infeções, através da deteção e doseamento de anticorpos IgG.^[29]

Nesta secção, são realizadas análises a inúmeros parâmetros, que estão agrupadas em perfis que são descritos ao longo do relatório. Assim sendo, são determinados marcadores tumorais, vírus e parasitas. Para além destes, são quantificadas também as diversas hormonas presentes no organismo, principalmente as da tiroide e as hormonas sexuais. São também analisadas as vitaminas essenciais à síntese de DNA, tais como a Vitamina B12 e o doseamento da proteína de fase aguda, Proteína C Reativa Ultrassensível.

Tal como abordado anteriormente na secção de bioquímica, o Advia Centaur XP Immunoassay System é o equipamento utilizado para a quantificação da maior parte dos parâmetros imunológicos determinados neste laboratório. A par deste, na secção de imunologia, existem mais dois equipamentos de eleição para a determinação de parâmetros imunológicos, sendo estes o IMMULITE 2000 e o miniVidas que é utilizado para confirmação de resultados positivos, para vírus de declaração obrigatória, tais como HIV e HCV por exemplo. Este último equipamento, possui um método de análise diferente dos outros dois (IMMULITE 2000 e Advia Centaur XP), uma vez que utiliza a técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) e os outros dois utilizam a técnica CLIA (Chemiluminescent Immunoassays).

Em termos de controlo de qualidade, o Advia Centaur XP Immunoassay System e o IMMULITE 2000 à semelhança do Advia 1800, através da aplicação de controlos e calibradores diários e controlos de qualidade externos também com menor frequência. O miniVidas requer um controlo mais pontual, uma vez, que cada técnica possui um prazo de validade (para um determinado lote) e dentro deste prazo, cada vez que se efetua um ensaio de uma determinada técnica, para além das amostras analisadas são aplicados controlos da técnica em conjunto, a fim de validar a fiabilidade da técnica efetuada.

4.1 Ensaios imunológicos

4.1.1 Ensaio de captura de anticorpos

O ensaio de captura de anticorpos é um ensaio imunológico que é utilizado para quantificar um anticorpo específico. Este ensaio consiste na utilização de um anticorpo de captura ligado a uma base sólida, que irá entrar em contacto com um anticorpo alvo, formando um complexo anticorpo-anticorpo. Este anticorpo alvo ligado, irá então ligar-se a um antígeno marcado com

ésteres de acridina (EA), que funcionam como marcadores quimioluminescentes, permitindo deste modo a quantificação do anticorpo alvo. Este ensaio é utilizado pelo equipamento Advia Centaur XP. É importante denotar que a concentração dos anticorpos a quantificar é proporcional à luz emitida pelos marcadores quimioluminescentes.^[30]

4.1.2 Ensaio competitivo

No ensaio competitivo, à semelhança do ensaio anterior, existe um anticorpo fixo, porém nas suas extremidades possui locais de ligação mais limitados, onde há competição para a ligação entre os antígenios-alvo a quantificar e os antígenios marcados com os marcadores quimioluminescentes. Após efetuada a ligação entre os anticorpos e os antígenios marcados, irão emitir luz, que será fulcral na determinação dos antígenios alvo. Assim sendo, quanto maior a quantidade de antígenios marcados ligados aos anticorpos, menor será a quantidade de antígenios-alvo ligados. Deste modo, a quantidade de luz emitida será inversamente proporcional à concentração de antígenios-alvo ligados aos anticorpos. Assim, a luz emitida será maior, quando, há menor concentração de antígenios alvo. ^{[30][31]}

4.1.3 Ensaio não competitivo (tipo sandwich)

No ensaio não competitivo, os anticorpos são fixos à semelhança dos ensaios anteriores numa base sólida, ligando-se aos antígenios-alvo presentes na amostra. Após a ligação é adicionado um anticorpo marcado com marcadores quoluminescentes, com afinidade para o antígeno-alvo. Uma vez que, não existe competição entre os anticorpos fixos e os anticorpos marcados, irá se formar uma nova ligação destes últimos aos antígenios alvo, resultando numa dupla ligação por parte dos antígenios-alvo. Uma vez ligados e fixos os antígenios-alvo aos anticorpos marcados com os marcadores quoluminescentes, quantifica-se a sua concentração, de uma forma proporcional à quantidade de luz emitida por estes últimos.^{[30][31]}

O processo anteriormente descrito é utilizado na quantificação de antígenios-alvo. Na quantificação de anticorpos-alvo, o método é semelhante ao anterior. Neste método, existem na base fixa, ao contrário do processo anterior, antígenios direcionados ao anticorpo-alvo, que irão estabelecer a ligação antígeno-(anticorpo-alvo). O anticorpo-alvo ligado ao antígeno fixo, efetuará mais uma ligação não competitiva com outro anticorpo marcado, que permitirá a sua quantificação.^[30]

4.2 Advia Centaur XP

O equipamento Advia Centaur XP é o sistema utilizado na determinação da maior parte dos parâmetros imunológicos neste laboratório, tal como é visível na tabela 4. Este equipamento tem uma capacidade de automatização que lhe permite não só funcionar de forma semi-automática, como lhe permite possuir uma excelente capacidade multi-paramétrica de análise.

Tabela 4- Parâmetros determinados no sistema Advia Centaur XP e tipos de perfis associados.

Parâmetro Analisado	Perfil	Equipamento
Ácido Fólico (FOL)	Vitaminas essenciais na síntese de DNA	Advia Centaur XP
Vitamina B12		
CA 19.9	Marcadores tumorais	
CA 125		
AFP		
CEA		
T3	Hormonal	
FT3		
T4		
FT4		
TSH		
PTH		
Progesterona		
Prolactina		
FSH		
LH		
17- βEstradiol		
HIV		

O tipo de técnica de análise utilizada por este equipamento é a CLIA, que lhe permite detetar e quantificar os analitos por meio do uso de marcadores quimioluminescentes (EA). Para além destes marcadores, o equipamento possui nos seus reagentes partículas paramagnéticas (PPM) de óxido de ferro, contendo na sua superfície anticorpos e/ou antigénios específicos para os anticorpos e/ou antigénios alvo, a quantificar nos respetivos ensaios. Nos ensaios, os soros dos utentes e os reagentes são pipetados para cada uma das *cuvets*, permitindo a interação das PPM com os antigénios e anticorpos alvos, presentes nas amostras a quantificar. Posteriormente, as *cuvets* são submetidas a um campo magnético, permitindo a fixação das partículas paramagnéticas de óxido de ferro. Uma vez fixadas, é então possível elaborar uma lavagem da amostra, para eliminar os componentes que não são de interesse. Uma vez isolados os analitos de interesse, os EA irão se ligar a estes, permitindo a oxidação dos EA recorrendo à utilização de peróxido de hidrogénio numa solução alcalina. Por meio desta oxidação, é então emitida luz detetável e quantificável a 426 nm.^[32]

4.3 IMMULITE 2000

O IMMULITE 2000 é também um dos equipamentos determinante na determinação de parâmetros imunológicos. Embora este requeira algum tempo de análise para cada teste, este apresenta uma elevada qualidade nos resultados de diagnóstico.

À semelhança do Advia Centaur XP, este equipamento também utiliza os ensaios CLIA como método de análise, embora utilize esferas com a superfície revestida com antigénios ou

anticorpos seletivos para o parâmetro a determinar, em vez de utilizar PPM. O equipamento após pipetagem, mistura numa *cuvet* de reação, o soro do utente e as esferas, de modo a formar-se uma ligação (imunocomplexo) entre os antigénios ou anticorpos e os anticorpos ou antigénios, da esfera e soro respetivamente. Uma vez formado este imunocomplexo, é adicionada uma solução de fosfatase alcalina que servirá de marcador quimioluminescente. Em seguida, procede-se a uma lavagem através da rotação rápida das esferas, para libertar o excesso do anticorpo ou antigénio de teste (esferas) presente. Após esta lavagem, os imunocomplexos agregados à fosfatase alcalina irão ser quantificados, através da adição de fosfato de dioxetano adamantil que funcionará como substrato enzimático, sendo convertido num composto instável com a capacidade de emitir luz, por ação da fosfatase alcalina. A quantidade de luz emitida por este composto, será diretamente proporcional à concentração de analito ligado no imunocomplexo convertido neste composto instável.^[33]

Os princípios imunológicos ou metodologias este equipamento, utilizam os ensaios competitivos e não competitivos. Os parâmetros determinados por este equipamento, encontram-se representados na tabela 5.

Tabela 5- Parâmetros determinados no sistema IMMULITE 2000 e tipos de perfis associados.

Parâmetro Analisado	Perfil	Equipamento
Anticorpo anti - Toxoplasma gondii IgG	Parasitário	IMMULITE 2000
Anticorpo anti - Toxoplasma gondii IgM		
Antigénio Específico da Próstata livre (PSA livre)	Marcadores Tumorais	
Antigénio Específico da Próstata total (PSA total)		
Hormona Gonadotrofina Coriónica (βhCG)	Hormonal	
Testosterona		
Anticorpo anti - Peroxidase		
Anticorpo anti - Tiroglobulina		
Anticorpo anti - Rubéola IgG	Viral	
Anticorpo anti - Rubéola IgM		
Anticorpo anti - Citomegalovirus IgG		
Anticorpo anti - Citomegalovirus IgM		
IgE total	Alergénico	
Proteína C Reativa ultra-sensível	Proteico	

4.4 miniVIDAS

O equipamento miniVIDAS (Biomérieux) apresenta uma dimensão reduzida é utilizado no laboratório, para confirmação de resultados positivos de patologias de declaração obrigatória. Assim sendo, as análises positivas a confirmar são a presença de anticorpos e antígenos anti-HIV, anti-vírus da Hepatite C, e antígenos de superfície de *Toxoplasma gondii* IgM, Citomegalovirus IgM, Rubéola IgM e Hepatite B (HBs Ag).

Este equipamento utiliza como metodologia de análise a ELFA, permitindo quantificar antígenos e anticorpos de interesse. através de um imunoenensaio não competitivo do tipo *sandwich*. O ensaio ELFA, pressupõe a utilização de cones carregados com antígenos e/ou anticorpos específicos para cada técnica, fixados nestes. Estes cones de teste, possuem uma dupla função, pois, servem de pipetadores e de selecionadores dos analitos de interesse, por permitirem a ligação dos analitos presentes nas amostras, aos anticorpos e/ou antígenos fixos nos cones. Após a pipetagem e fixação dos analitos, é realizada uma lavagem com o objetivo de eliminar todos os componentes que não sejam de interesse. Noutro poço da *barret*, existem antígenos e anticorpos específicos marcados com fosfatase alcalina, que se ligam aos anticorpos/antígenos de interesse, para a sua quantificação. Uma vez ligados os anticorpos e/ou antígenos marcados com fosfatase alcalina, é utilizada outra solução de lavagem que permitirá eliminar os conjugados de fosfatase alcalina não ligados aos analitos de interesse. Posteriormente é adicionado o substrato *4-methyl-umbelliferyl phosphate* que será desfosforilado por ação da fosfatase alcalina, resultando num produto emissor de radiação fluorescente detetada e quantificada a 450nm. A fluorescência emitida será proporcional à concentração dos analitos de interesse, permitindo deste modo a sua quantificação.^[34]

4.5 Perfis

4.5.1 Vitaminas essenciais na síntese de DNA

Em termos de perfil, a vitamina B12 e o ácido fólico (Vit. B9) são as duas vitaminas quantificadas no laboratório (tabela 4), pois apresentam papéis vitais na síntese de DNA e na manutenção dos processos biológicos associados.

A vitamina B12 ou cianocobalamina, assume um papel preponderante no processo de formação das células sanguíneas, mais propriamente na etapa de maturação dos eritrócitos. Já o ácido fólico surge associado às reações de transferência de carbono celular, atuando como coenzima das diversas enzimas associadas a essas reações. Ambas as vitaminas são essenciais na síntese de DNA, pelo que caso exista aumento ou deficiência de uma ou ambas no organismo, irá resultar em diversas patologias.^[31]

A vitamina B12 pode ser adquirida exclusivamente, por meio de uma alimentação rica no consumo de marisco, peixe e carne. A absorção desta vitamina, envolve a presença de um fator

intrínseco no intestino sem o qual a absorção ficará afetada, o que culminará no desenvolvimento de patologias associadas a uma eritropoiese ineficaz, e na formação de macrócitos, ou seja, de eritrócitos com um tamanho superior ao normal. As causas desta má absorção surgem a partir de uma deficiência na mucosa gástrica, devido de diversas doenças, tais como HIV e doença inflamatória do intestino ou ainda neuropatias, provenientes como do alcoolismo. As patologias associadas à deficiência desta vitamina são patologias hematológicas como por exemplo: macrocitose, leucopenia, anemia e trombocitopenia.^{[31][35]}

O ácido fólico também tem como principal fonte, a alimentação, nomeadamente os vegetais e fígado. O défice em ácido fólico pode resultar de uma má absorção por parte do organismo devido à presença da doença celíaca, alcoolismo, cancro (desregulação na síntese de DNA), doenças hepáticas e gravidez. Neste caso existe um maior consumo desta vitamina, devido a uma maior proliferação celular com aumento da atividade de síntese de DNA. A diminuição desta vitamina favorece o desenvolvimento de patologias hematológicas à semelhança do que acontece com a vitamina B12.^{[31][35]}

4.5.2 Marcadores Tumorais

Os principais marcadores tumorais determinados neste laboratório são: CA 19.9, CA 125, Alfa fetoproteína (AFP), Antígeno Carcinoembrionário (CEA), Antígeno Prostático Específico (PSA), PSA livre e PSA total.

Estes marcadores tumorais, assumem uma grande importância na monitorização do cancro, pois são proteínas sintetizadas pelas células e que podem estar aumentadas na presença de tumores. Se os valores destes parâmetros estiverem superiores aos de referência para cada utente, existe uma necessidade de acompanhamento por parte dos médicos e diagnóstico por parte destes, do estado patológico dos utentes.^{[36][37]}

O marcador tumoral CA 19.9 é característico para o diagnóstico de tumores pancreáticos e gastrointestinais e consequentemente para o seu acompanhamento. Este é característico destes tipos de tumores, por ser um antígeno sintetizado pelas células envolventes nestas regiões corporais, tais como: células do pâncreas, do epitélio salivar, do cólon, dos ductos biliares e gástricas. Um aumento da concentração deste antígeno significará não só a presença de um tumor numa destas regiões, mas sim, também num aumento do tamanho e do desenvolvimento do estágio do tumor. É possível aferir isto, pois, a concentração deste antígeno, é proporcional ao tamanho e desenvolvimento do tumor.^[31]

O marcador CA 125, também assume uma correlação direta dos valores da sua concentração e do tamanho e estágio de desenvolvimento do tumor. Este expressa-se aumentado em diversos carcinomas, principalmente os carcinomas mamários, colorretais e gastrointestinais, carcinomas do endométrio, pulmonares e pancreáticos. Embora este assumira valores

aumentados nestes carcinomas, este é mais característico para a avaliação terapêutica e diagnóstico especificamente de tumores nos ovários.^{[31][36]}

O CA 125 é um marcador tumoral avaliado na terapêutica e diagnóstico de tumores nos ovários. Por sua vez, também o homem, possui um o principal marcador tumoral de diagnóstico e terapêutica de tumores específico, mais propriamente tumores na próstata que é o PSA, sendo este, o antígeno específico da próstata. Este é uma proteína proveniente da glândula prostática, e também é sintetizado por tecidos neoplásicos associados a estes tipos de tumores.^{[31][36]}

Este marcador tumoral pode ser quantificado em duas fases, sendo estas o PSA livre e o PSA total. O PSA circula de duas formas na corrente sanguínea, sendo a forma complexada, a correspondente ao transporte deste antígeno ligado a inibidores de protease e a forma livre, a correspondente à quantidade deste antígeno circulante sem ligação a nenhum outro inibidor. A forma mais comumente quantificada e que apresenta uma maior significância na terapêutica e diagnóstico do cancro da próstata é a quantificação de PSA total, que se refere à quantidade de PSA livre e complexado na corrente sanguínea.^{[31][36]}

O PSA também assume uma relação direta entre a sua concentração e o desenvolvimento do estágio dos tumores, significando então que quanto maior a sua concentração, maior a dimensão ou desenvolvimento do tumor. Ainda assim, é importante denotar que um dos fatores a ter em conta na monitorização e diagnóstico do cancro da próstata é que a quantidade de PSA livre está geralmente diminuída e a quantidade de PSA total está aumentada.^{[31][36]}

Para além de todos estes marcadores tumorais, existem ainda outros característicos do desenvolvimento fetal para efetuar um diagnóstico pré-natal de diversas patologias, tais como Síndrome de Down e Trissomia do 18. Neste caso, é importante referir que o aumento da concentração da glicoproteína AFP na corrente sanguínea das mulheres grávidas é o principal fator de indícios destas patologias características. Para além deste AFP, existe outro também fetal, muito importante o CEA que corresponde a outra glicoproteína produzida durante a vida fetal e que após o nascimento e na vida adulta, este possui concentrações muito reduzidas ou quase indetetáveis. Assim sendo, na vida adulta, um utente saudável, possui essas concentrações reduzidas ou indetetáveis e em casos de neoplasias, esses valores surgem aumentados na corrente sanguínea, devido a uma ativação desses oncogenes fetais devido a uma desregulação genética associada as neoplasias. Um aumento da concentração deste marcador tumoral é característico do desenvolvimento de carcinomas em tecidos pulmonares, mamários, ovário, útero e carcinomas gastrointestinais.^{[31][36]}

4.5.3 Perfil Hormonal

Dos parâmetros hormonais avaliados é importante referir que existem determinadas características semelhantes entre eles, quer isto dizer que os parâmetros de PTH (Hormona

paratiroideia), TSH, T3, T4, FT3, FT4 são hormonas que em conjunto com o doseamento dos anticorpos Anti-Tiroideus (Anti-peroxidase e Anti-tiroglobulina) permitem avaliar a função da tiroide. Para além destas, existem outras, tais como: LH, FSH, Testosterona, Cortisol, Prolactina, Progesterona, 17- β Estradiol e β HCG, que avaliam a função hormonal relacionada com a reprodução humana e regulação das funções normais do organismo.

A avaliação da função da tiroide é feita tendo como base as hormonas anteriormente mencionadas. Os anticorpos Anti-tiroglobulina e Anti-peroxidase são muito importantes no diagnóstico de patologias autoimunes associadas a esta glândula como a Doença de Graves e a Tiroidite de Hashimoto. Embora estes anticorpos sejam muito importantes para o diagnóstico destas duas patologias, é importante denotar que por si só, estes anticorpos não permitem fazer a distinção das duas patologias, apenas permitem diagnosticar a Tiroidite de Hashimoto, devido ao facto de esta ter como característica principal, a diminuição da função tiroideia (hipotiroidismo) resultando numa diminuição da concentração das hormonas correlacionadas com a função da tiroide. No diagnóstico clínico da Doença de Graves, é necessário o doseamento de anticorpos anti recetor da TSH, uma vez que, estes característica do hipertiroidismo e desta patologia.^[31] A quantificação da TSH permite em conjunto com os anticorpos Anti-Tiroideus, o diagnóstico da Doença de Graves, devido ao facto de esta glicoproteína sintetizada pela adeno-hipófise, ser responsável pela promoção do crescimento da tiroide e, conseqüentemente, pela promoção da secreção de hormonas tiroideias. Quando o doseamento de TSH se encontrar em valores elevados, poderá significar uma elevada secreção de hormonas tiroideias, o que refletirá um estado de hipertiroidismo.^[31]

Existem 2 tipos de hipertiroidismo, o primário e secundário. A quantificação de outras hormonas tiroideias em conjunto com a TSH permite aferir qual o tipo de hipertiroidismo desenvolvido pelos utentes. Deste modo, quando as hormonas tiroideias T3 e T4 estiverem diminuídas ou aumentadas e a hormona TSH possuir valores de concentração aumentados ou diminuídos respetivamente, representará uma patologia da glândula tiroideia, devido ao facto de os valores das primeiras duas hormonas serem representativos de uma resposta hipofisária normal. O aumento ou a diminuição da secreção de hormonas tiroideias em contrapartida com a diminuição ou aumento dos valores de TSH, são os valores correlacionais que caracterizam o hipertiroidismo primário.^[31]

O hipertiroidismo secundário caracteriza-se por uma corroboração das concentrações de TSH e T3 e T4. Neste caso, se os valores da TSH estiverem aumentados ou diminuídos e os valores de T3 e T4 estiverem também aumentados ou diminuídos respetivamente, será representativo de uma alteração na hipófise, por serem valores não concordantes com uma resposta hipofisária normal. Assim sendo, numa resposta hipofisária normal, os valores de TSH teriam de estar aumentados e os de T3 e T4 diminuídos.^[31]

Ainda alusivo à tiroide, existe uma outra hormona muito importante quantificada no laboratório, a PTH, que é secretada pelas glândulas paratiroideias. Esta é fundamental no metabolismo do fosfato, metabolismo mineral do cálcio e metabolismo ósseo, atuando como regulador destes. A PTH exerce essa função, devido ao facto de ter ação nos ossos e rins. Nos rins, em caso de défice de cálcio, o organismo estimula a síntese desta hormona, como forma de promover a absorção deste mineral e a diminuição de fosfato por meio de ação inversa, excreção. Em caso contrário (cálcio aumentado), estes níveis realizarão um feedback negativo nas glândulas paratiroideias, fazendo com que a secreção desta hormona seja diminuída, a fim de se estabelecer um novo equilíbrio nos níveis de cálcio. A quantificação desta hormona é bastante importante para monitorização das funções das glândulas paratiroideias, nomeadamente no metabolismo de cálcio. As principais condições patológicas avaliadas são: a hipercalcemia e a hipocalcemia, que depois irão surgir como principais consequências, a insuficiência renal. Por esta hormona possuir uma importância relevante no metabolismo mineral, o doseamento desta permite também aferir o estado dos utentes no que se refere a patologias ósseas e minerais.^[31]

Em relação às hormonas sexuais e de avaliação de grande parte do metabolismo do corpo humano, a β hCG, assume-se como uma das principais glicoproteínas sintetizadas ainda no pré-nascimento. Esta é sintetizada pelas células da placenta e tem um papel indispensável no desenvolvimento do feto, uma vez que, estimula a produção de Progesterona por parte dos ovários no início da gravidez. É importante denotar que a quantificação desta hormona permite a confirmação da gravidez, uma vez que os valores no sangue desta hormona tomam valores máximos próximos das 8 e 10 semanas de gravidez. Outro objetivo é a deteção e diagnóstico de deficiências no feto na fase inicial da gravidez e também o desenvolvimento de tumores secretores desta hormona.^[31]

A β hCG é responsável pelo estímulo do ovário na produção de Progesterona na fase inicial da gravidez. A Progesterona é uma hormona esteroide feminina com uma enorme importância no desenvolvimento inicial do feto, pois, está envolvida na preparação das condições ótimas do útero para a implantação do óvulo fecundado, até à manutenção das características do mesmo durante toda a gravidez. As concentrações da progesterona variam consoante a fase do ciclo menstrual, verificando-se um aumento gradual após a ovulação, de forma a induzir os acontecimentos uterinos de preparação para receber o ovulo fecundado em caso de fecundação, atingindo o seu pico de concentração cerca de 8 dias após a ovulação. Quando não existe fecundação, a concentração desta hormona no sangue irá diminuindo gradualmente, até à próxima menstruação. Assim, por exemplo em casos de tratamentos de reprodução, a quantificação desta hormona é fulcral para a determinação do período exato de ovulação.^[31]

A libertação da Progesterona, dá-se por estímulo da β hCG e de outras duas hormonas hipofisárias que são a FSH e LH. Em contrapartida, em caso de excesso de Progesterona, haverá uma reação de *feedback* negativo, inibindo a excreção de ambas.^[31]

A FSH e LH assumem um papel preponderante na vida reprodutora do homem e da mulher, regulando e mantendo a funcionalidade dos sistemas reprodutores de ambos. Estas duas hormonas são provenientes da adenohipófise e são secretadas por o estímulo do hipotálamo, mais propriamente segundo o controlo da Hormona de Libertação da Gonadotrofina *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH). Os mecanismos que regulam a libertação da FSH e LH são mecanismos de feedback negativo, ou seja, o aumento das hormonas produzidas pelas glândulas alvo irá inibir a sua libertação.^[31]

A FSH exerce a sua ação nas gónadas sexuais dos sistemas reprodutores masculino e feminino, sendo estas os testículos e os ovários, respetivamente. No homem, a função principal da FSH é a estimulação da espermatogénese, ou seja, do processo de formação de espermatozoides que é a. Assim sendo, a quantificação desta hormona é bastante importante, quando existe uma diminuição da quantidade de espermatozoides. O aumento da concentração desta hormona indicará uma deficiência na função hormonal dos testículos, mais conhecida por hipofunção testicular primária. Pelo contrário, no caso da concentração de FSH estar diminuída, o problema será a sua secreção na gónada alvo, estado associada ao hipogonadismo hipogonadotrófico (secundário).^[31]

Na mulher, a FSH atua em conjunto com a LH estimulando a maturação dos folículos ovários e a secreção de estrogénios que atuarão no espessamento do útero durante o ciclo menstrual. Normalmente a concentração de FSH nas mulheres aumenta na fase inicial da fase folicular e depois decresce após a libertação dos folículos. Em certas condições, pode ser notório o aumento persistente de FSH, que poderá indicar, consoante a idade da mulher, o estado da vida reprodutiva, nomeadamente a menopausa ou então, à semelhança do homem indicar uma deficiência na gónada sexual, indicando uma hipofunção ovárica primária. Ainda assim, o aumento persistente da concentração desta hormona na mulher poderá indicar também hipogonadismo hipogonadotrófico (primário). Por outro lado, os valores diminuídos da FSH na mulher, poderão revelar uma hiperfunção ovárica, refletindo-se na diminuição desta hormona circulante no sangue, uma vez que, devido a essa hiperfunção do ovário, a FSH é mais utilizada por esta gonada sexual.^[31]

A LH, que atua em conjunto com a FSH, é uma hormona que atua também em diferentes locais no homem e na mulher. Os homens possuem células nos testículos denominadas de Leyding que são responsáveis pela síntese de hormonas androgénias, como a Testosterona que é uma das hormonas principais no sistema reprodutor masculino. Deste modo, a LH nos homens tem como principal objetivo, estimular as células de Leyding no seu desenvolvimento e na manutenção das suas funcionalidades, permitindo uma normal produção de Testosterona. Em termos de diagnóstico, é bastante importante avaliar as concentrações de LH e de Testosterona em conjunto, pois a sua diminuição, é característica de hipogonadismo hipogonadotrófico (secundário). Esta associação dá-se devido ao facto de existir uma diminuição da atividade da

hipófise, que resultará numa menor libertação de LH e, por conseguinte, menor estímulo das células de Leyding e menor produção de testosterona.^[31]

A hormona LH nas mulheres, devido ao facto de esta exercer um estímulo nas glândulas endócrinas e nas gónadas femininas. Em conjunto com a FSH, esta LH irá atuar nos processos de maturação dos folículos, promovendo a ovulação destes mesmos após estarem maduros. Após a ovulação dos folículos maduros, a LH permite o desencadeamento de processos do desenvolvimento do corpo lúteo que é formado após a ovulação dentro dos ovários. Com a formação deste corpo, dá-se a produção de progesterona que posteriormente será necessária para a preparação do útero. Deste modo, torna-se importante dosear a LH, não só com a finalidade de detetar alguma doença, tal como a Síndrome do Ovário Poliquístico, que é associada ao aumento da concentração desta, mas também, de maneira a detetar o período ovulatório, assumindo-se muito importante para tratamentos de fertilidade.^[31]

A testosterona produzida nas células de Leyding, tal como mencionado anteriormente é um androgénio bastante importante nos homens e em toda a sua vida reprodutiva. Esta permite assegurar o bom funcionamento da espermatogénese, bem como o desenvolvimento dos órgãos genitais durante a puberdade e a sua manutenção na vida adulta, promovendo deste modo a diferenciação sexual. Ao longo dos anos, a produção desta hormona possui uma quebra gradual, tendo como principal motivo a diminuição da atividade testicular. Ainda assim, uma diminuição dos níveis desta, quando avaliados em conjunto com os níveis de LH, poderá indicar condições patológicas ao nível dos testículos ou ao nível hipofisário. Caso a patologia seja ao nível dos testículos, é recorrente observar-se um aumento de LH, por meio da falta de ação destes, que não irão utilizá-la eficazmente, o que resultará num aumento da concentração desta no sangue. Numa alteração ao nível da hipófise ou hipotálamo, é recorrente existir uma diminuição da concentração de LH no sangue, que posteriormente não chegará na quantidade necessária ao testículo, fazendo com a produção de testosterona fique em défice e a concentração desta diminua também.^[31]

Nas mulheres a produção de testosterona dá-se nos ovários, em conjunto com as glândulas suprarrenais, tendo como principal objetivo ajudar na manutenção das funções sexuais e na regulação e manutenção do corpo e desempenho cognitivo. A quantificação desta hormona é bastante utilizada, como forma de avaliar a presença de tumores nos ovários. Em caso de aumento excessivo desta hormona na mulher, poderá significar uma desregulação ao nível ovárico com alteração da diferenciação celular.^[31]

Outras hormonas com impacto nas mulheres, são a Prolactina e o 17β – estradiol. A primeira é sintetizada pela adenohipófise e possui uma função muito importante durante o processo de amamentação, por induzir a estimulação da lactação. A prolactina para além desta função principal, na manutenção do processo de síntese de estrogénios nos ovários e na regulação do sistema imunitário. A prolactina é produzida pela adenohipófise, por estímulo do hipotálamo,

que liberta a Hormona libertadora. A quantificação desta hormona é importante na avaliação da Síndrome de Ovários Poliquísticos, bem como galactorreia nas mulheres. Por outro lado, o excesso desta hormona poderá originar infertilidade.^[31]

O 17β – estradiol é uma hormona, que tal como a prolactina, é também bastante importante nas mulheres, uma vez que em condições normais, a síntese desta hormona se dá exclusivamente nos ovários. Esta assume um grande papel durante o ciclo menstrual, atuando como reguladora do mesmo, e em caso de fecundação, é produzida também pela placenta, como auxiliadora na manutenção do feto, assegurando os fenómenos de espessamento do útero. A sua quantificação nas mulheres permite avaliar a função ovárica, nomeadamente se existe uma elevada produção desta hormona, o que poderá ser indicador de uma atividade aumentada do ovário, designada de hiperfunção ovárica primária. Por outro lado, a diminuição da 17β – estradiol no sangue poderá ser indicativa de dois distúrbios, um ao nível do ovário, quando este sintetiza menos quantidade desta e outro ao nível do complexo hipotálamo-hipófise, onde o estímulo não é realizado de maneira eficiente. Deste modo, os distúrbios descritos são designados de hipofunção ovárica primária e hipofunção ovárica secundária respetivamente.^[31]

O Cortisol é quantificado no laboratório e é regulada por um mecanismo de feedback negativo. Esta hormona tem um papel preponderante na reação a diversos estímulos, uma vez que, este glucocorticoide é libertado em maior ou menor quantidade em diferentes situações, como gravidez, infeções, atividade física, hipoglicémia e stress. Todos estes estímulos, são exercidos no hipotálamo, promovendo a libertação da Hormona Libertadora de Corticotrofina que, por sua vez, estimulará a hipófise a secretar a Hormona Adrenocorticotrópica, que atuará nas glândulas suprarrenais, que sintetizam o cortisol. É importante denotar que o Cortisol circula na corrente sanguínea de diversas formas, porém a mais determinada em laboratório é o Cortisol livre que representa cerca de 2 a 3% da concentração total de Cortisol, sendo os outros 97 ou 98% correspondente ao cortisol ligado à Albumina.^[31]

A quantificação do Cortisol, é bastante importante no diagnóstico de patologias associadas à função adrenal e a patologias no complexo hipofisário. De modo a diagnosticar e a identificar estas patologias, além do doseamento, pode realizar-se uma prova de estimulação prévia consoante o objetivo a determinar. Assim sendo, por exemplo, no caso de identificação de patologias associadas à insuficiência adrenal, são administradas ao utente diferentes concentrações da Hormona Adrenocorticotrópica que irá atuar nas glândulas suprarrenais, aumentando a produção de Cortisol em utentes não patológicos. No caso de não se verificar aumento, poderá ser indicativo de patologia associada à função adrenal. No caso de se pretender identificar patologias ao nível do complexo hipofisário, realiza-se o processo contrário, onde são administradas diferentes concentrações de Cortisol, exercendo um *feedback* negativo na hipófise e inibindo-a de libertar a Hormona Adrenocorticotrópica e consequentemente a produção de Cortisol será reduzida tal como a concentração desta hormona no sangue. Se esta condição não se verificar, é então sugestivo de uma atividade

hipofisária aumentada no complexo de produção de Hormona Adrenocorticotrópica, designada de hipercortisolismo.^[31]

4.5.4 Perfil Viral

Existem diversas infeções provocadas por vírus, sendo estes constituídos por DNA ou RNA. Estas infeções são combatidas pelo sistema imunitário que produz anticorpos específicos para cada tipo de infeção viral. Através da deteção e quantificação de anticorpos como a IgG ou IgM no sangue dos utentes, é possível avaliar a resposta imunitária, como a existência de imunidade do utente para um agente patogénico específico, ou a deteção de infeções em fase aguda ou ativas, através da deteção destes dois tipos de anticorpos respetivamente.^[29]

Dentro das infeções virais ou imunidade viral, é importante referir que os tipos de vírus detetados neste laboratório são: o vírus da Hepatite C (HCV), Hepatite B (HBV), Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), o vírus da Rubéola e o Citomegalovirus (CMV). A deteção destes vírus é comumente pedida pelos médicos, como forma de análises de rotina e monitorização durante a gravidez, devido ao facto de infeções por um destes vírus poder resultar em mal formações do feto ou até à sua morte.^{[38][39]} É importante sublinhar que todos os resultados positivo para a pesquisa de anticorpos referentes a qualquer um destes vírus, são confirmados num outro equipamento, o mini-Vidas, como forma de validação do resultado positivo. Para além desse teste adicional, caso este seja positivo na pesquisa de anticorpos pelo equipamento mini-Vidas, pede-se uma repetição de colheita e repete-se o processo novamente. Se o resultado for igual ao primeiro, é então submetido e entrará na base de dados do SNS os dados do utente dado que existem infeções virais, tais como a infeção pelo HIV que são de declaração obrigatória ao SNS.

É importante referir que os vírus HCV e HBV infetamos hepatócitos, levando à sua inflamação ou na pior das hipóteses à necrose. Ambos os vírus podem levar ao desenvolvimento de carcinomas hepatocelulares, hepatite crónica e, principalmente, cirrose hepática.^{[38][40]}

Apesar de ambos os vírus HCV e HBV infetarem as células hepáticas, o primeiro é constituído por uma cadeia simples de RNA (ssRNA) e o segundo por uma cadeia dupla de DNA, com 3200 nucleótidos. Estes diferem também na sua origem, visto que o primeiro, é pertencente à família *Flaviridae* e ao género *Hepacivirus* e o segundo tem como origem, a família *Hepadnaviridae* e o género *Hepadnavirus* (vírus hepatotrópico de DNA).^[41]

No laboratório, uma primeira análise feita ao HCV é realizada pelo equipamento ADVIA CENTAUR XP, onde é efetuada uma pesquisa de anticorpos anti-HCV. Caso esta seja positiva, será reanalisada a amostra no equipamento mini-Vidas e em caso positivo é pedido uma repetição de colheita. No caso do HBV, são realizadas no equipamento ADVIA CENTAUR XP, dois tipos de deteção, sendo estes, a deteção de anticorpos anti-HBV e antigénios referentes à

superfície do HBV. Estas duas, têm objetivos diferentes, uma vez que, a identificação de anticorpos anti-HBV permite avaliar imunidade do utente contra este vírus, nomeadamente se foi desenvolvida por meio de uma resposta imunitária anterior a uma infeção ou adquirida por meio de vacinação. Por outro lado, a pesquisa dos antigénios existentes na superfície deste vírus, tem como objetivo, pesquisar a presença do vírus e verificar se o utente está infetado com o vírus ou esteve infetado nos últimos 6 meses antes da data de colheita das amostras.^[42] Para o referido resultado positivo na identificação destes antigénios, será também posteriormente realizada uma nova análise da amostra no equipamento mini-Vidas e, em caso positivo, é pedida uma repetição de colheita para confirmação os resultados.

Para além dos vírus mencionados anteriormente, o HIV é também detetado no laboratório e de declaração obrigatória. Este vírus é um retrovírus pertencente à família *Retroviridae*, e é responsável pela Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) Este vírus células do sistema imunitário do hospedeiro, nomeadamente linfócitos T CD4⁺, levando o organismo a destruir não só os linfócitos infetados, como os linfócitos não infetados, resultando num decréscimo da concentração destes e, conseqüentemente, a uma reversão da resposta imunitária.^[43]

É também importante referir que, este vírus poderá apresentar-se em dois tipos, o HIV⁻¹ e o HIV⁻², com homologia genética de cerca de 50% entre ambos. Além de serem diferentes em metade do seu genoma, o HIV⁻² está mais circunscrito na região da África Ocidental, já o HIV⁻¹ está presente no resto do mundo.^[42] Em termos de deteção no laboratório, esta é realizada pelo equipamento ADVIA CENTAUR XP, à semelhança dos outros vírus mencionados anteriormente.

Os principais pedidos por parte dos médicos durante o período da gravidez, são a deteção do vírus da Rubéola e o Citomegalovirus.

O vírus da Rubéola é formado por uma cadeia simples de RNA (ssRNA) e pertence à família *Togaviridae* e ao género *Rubivirus*. A deteção deste vírus durante o período da gravidez é muito importante devido ao facto de a sua infeção poder resultar no comprometimento do feto devido a alterações cromossómicas, falta de oxigenação fetal e malformações congénitas, entre outros.^[42] No laboratório, o estudo da imunidade a este vírus realiza-se no equipamento IMMULITE 2000, através da deteção de anticorpos IgG e IgM, para determinar se é ou não uma infeção ativa, e, em caso positivo, será repetida a análise no equipamento mini-Vidas.

À semelhança do vírus da Rubéola, a deteção do Citomegalovirus (CMV) é igualmente importante durante a gravidez, devido ao risco de diversas malformações no feto e podendo levar inclusive à morte fetal. É uma infeção viral congénita e em caso de indivíduos imunodeprimidos, poderá provocar morte.^{[38][39]} No laboratório, a análise dos anticorpos IgG e IgM, como forma de avaliar a infeção por este vírus é realizada pelo equipamento IMMULITE

2000. No caso de se obter um resultado positivo para os anticorpos IgG, é enviada a amostra para outro laboratório do grupo, onde será realizada uma prova de avidéz. Essa prova tem como objetivo determinar se o valor positivo detetado corresponde a uma infeção antiga ou a uma reinfeção mais recente. Em caso positivo para os anticorpos IgM, indica que existe um infeção ativa e desta forma, será realizada uma reanálise da amostra, agora no equipamento mini-Vidas seguindo o procedimento já descrito anteriormente.

4.5.5 Perfil Parasitário

O perfil parasitário realizado no laboratório tem como finalidade, a deteção de infeções parasitárias, nomeadamente a provocada pelo parasita protozoário intracelular *Toxoplasma gondii*, conhecida como toxoplasmose.

A deteção desta infeção é muito durante a gravidez devido ao facto de ser transmitida ao feto e provocar complicações fetais e a morte do feto. A infeção por este agente parasitário, poderá resultar na morte de indivíduos imunodeprimidos, à semelhança do que foi descrito na infeção por Citomegalovirus.^[42] Também a deteção de anticorpos IgG e IgM o diagnóstico da toxoplasmose, é realizada com a mesma metodologia e protocolo do Citomegalovirus.

4.5.6 Perfil Alérgénico

Em termos de perfil alérgénico, é bastante importante salientar que o nosso sistema imunológico produz a imunoglobulina E (IgE), bastante importante na resposta ao contacto de diversos antigénios de vários alérgénios ao nosso organismo. A determinação da IgE é utilizada para o diagnóstico de diversas patologias, como infeções, doenças parasitárias, e principalmente alergias. A quantificação da IgE total, permite identificar reações de hipersensibilidade do tipo I, por a sua concentração aumentar quando existe um contato com os alérgénios. Por meio desse estímulo, esta ligar-se-á a recetores localizados na superfície dos basófilos e mastócitos, iniciando o processo designado de sensibilização. Deste modo, após um segundo contacto com o alérgénio, este irá ligar à IgE presente na zona superficial dos basófilos e mastócitos, levando à libertação principalmente de histamina, entre outras biomoléculas ativas, responsáveis pela indução dos sintomas clínicos das diversas patologias, nomeadamente a asma e a rinite alérgica, e as diversas alergias alimentares, entre outras.^{[31][44]}

4.5.7 Perfil Proteico

Na secção da bioquímica, a Proteína C Reativa (PCR) é uma proteína cujo aumento sérico indica uma resposta inflamatória, sendo por isso classificada como uma proteína de fase aguda, um parâmetro de bastante importância no diagnóstico de inflamações e infeções. Na secção de imunologia utilizando técnicas mais específicas e mais sensíveis, é possível determinar a Proteína C Reativa Ultrassensível (hsPCR) sigla proveniente da expressão em Inglês *High Sensitivity* Proteína C Reativa.

A determinação da hsPCR é de extrema importância para a avaliação de doenças cardíacas, inflamações e infecções no organismo, permitindo, por exemplo, antecipar ou prevenir a ocorrência de um infarto do miocárdio. Outra aplicação é o acompanhamento e monitorização de diversas patologias associadas ao aumento desta proteína no organismo, tal como por exemplo a artrite reumatoide.^[31]

4.6 Serologia

Na secção de serologia são determinados ou confirmados de parâmetros imunológicos tais como a determinação de grupos sanguíneos e a realização do teste de coombs, que se apresentam como duas análises bastante importantes a efetuar durante a gravidez. Para além destes também se efetua outro teste de extrema importância durante a gravidez que é a deteção da sífilis através da realização do teste VDRL/RPR.

Nesta secção são elaborados ensaios de deteção de infeções por bactérias como *Rickettsia*, *Salmonella*, *Brucella* e *Treponema pallidum*. Para além destas bactérias, são detetadas infeções virais pelo vírus Epstein Barr que provoca a doença conhecida por Mononucleose. Ainda nesta secção, é possível por meio do teste de Waaler Rose, confirmar a presença dos autoanticorpos envolvidos no fator reumatoide descrito no setor de Bioquímica.

4.6.1 Determinação de grupos sanguíneos

A determinação de grupos sanguíneos, é realizada com base nas características dos eritrócitos de cada utente, ou seja, mais propriamente, tendo em conta os antigénios presentes na superfície destes. Existem dois sistemas de classificação dos grupos sanguíneos: o sistema Rhesus e o ABO. O primeiro baseia-se na ausência ou presença do antigénio D na superfície dos eritrócitos e o segundo tem como base a presença ou ausência de antigénios A e B na superfície dos eritrócitos.^[45] Assim sendo, na figura 4 estão apresentados os grupos sanguíneos determinados.

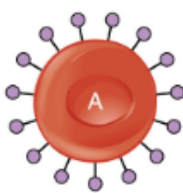
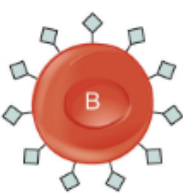
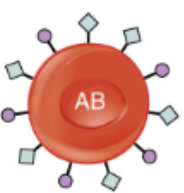
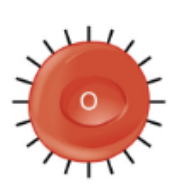






Tipos Sanguíneos				
	A	B	AB	O
Tipos de glóbulos vermelhos				
Anticorpos no plasma	 Anti-B	 Anti-A	Nenhum	 Anti-A e Anti-B
Antigénios nos glóbulos vermelhos	 Antigénio "A"	 Antigénio "B"	 Antigénio "A" e "B"	Nenhum
Tipos sanguíneos compatíveis	A, O	B, O	A, B, AB, O AB+ é o recetor universal	O O é o doador universal

Figura 4- Grupos Sanguíneos. Adaptado de [46].

No laboratório, o teste para a determinação dos grupos sanguíneos é um teste efetuado em Cards onde ocorrem reações de aglutinação dos antigénios dos eritrócitos e anticorpos presentes nos Cards. Os Cards utilizados no laboratório (Card-ID DiaClon ABO/D + Reverse Grouping) permitem elaborar uma prova direta e uma prova reversa. A prova direta identifica os antigénios presentes nos eritrócitos, enquanto, a prova reversa permite determinar a ausência ou presença de anticorpos anti-A e/ou anti-B presentes no soro.^[47] Na figura 5 está representado um exemplo de um Card para um grupo A positivo.

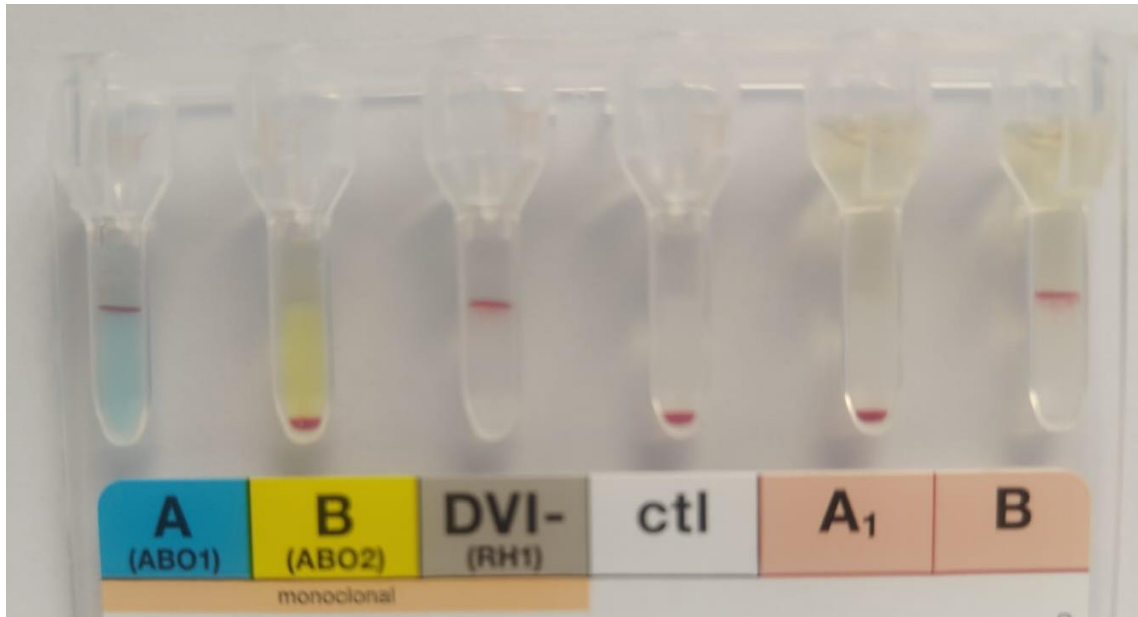


Figura 5- Card com Grupo Sanguíneo A positivo.

Como é visível na figura 5, o Card possui seis microcolunas constituídas por uma matriz filtrante permitindo a passagem dos eritrócitos livres e deste modo, a sua sedimentação, para posterior análise. Quando existe um resultado positivo para cada parâmetro analisado em cada uma das microcolunas, os complexos aglutinados permanecem à superfície da matriz delas. As microcolunas designadas de A e B, são as correspondentes à prova direta, que irá indicar qual o tipo sanguíneo.^{[47][48]} Os eritrócitos durante a preparação do teste, são misturados com um eluente específico, para uma melhor interação entre os antígenos presentes na sua superfície e os anticorpos fixados nas microcolunas, sendo estes os anti-A na microcoluna do grupo sanguíneo A e anti-B na microcoluna do grupo sanguíneo B. Quando existe esta interação, os complexos formados da ligação irão ficar na superfície da microcoluna. Como forma de classificar o tipo sanguíneo em relação ao fator Rh, é utilizada a coluna denominada de DVI- deste teste. Caso exista reação, tal como visível na figura 5, o complexo aglutinado permanece à superfície dessa microcoluna, representando a atividade do antígeno D presente nos eritrócitos do utente. Como forma de controlo e validação do teste, este possui as respetivas microcolunas ctl, A1 e B.

Para além dos cards e da preparação das amostras, para a leitura dos cards é realizada uma centrifugação destes a 910 rotações por minuto durante 10 minutos. A leitura destes, é realizada de uma forma automática pelo *Banjo ID-Reader* da BioRad e corroborada pelo técnico responsável da secção.

4.6.2 Determinação do teste de Coombs

A determinação de anticorpos anti-D livres no sangue, assume uma enorme importância no que toca ao diagnóstico pré-natal dos fetos, podendo indicar uma possível patologia nomeadamente

icterícia, ou até mesmo hepatoesplenomegália que poderão levar à morte do feto ou do recém-nascido após o nascimento. Estas duas patologias, resultam de uma incompatibilidade entre o grupo Rh sanguíneo do feto e da mãe. Se o feto for Rh positivo e a mãe possuir os anticorpos específicos para o grupo Rh, que são os anti-D, irá por sua vez, transmitir esses anticorpos ao feto e este irá possuir não só o fator Rh mas também os anticorpos que reagem contra este fator, levando a doenças hemolíticas graves ou letais.^[45]

À semelhança do teste de determinação dos grupos sanguíneos, o teste de determinação de anticorpos anti-D livres no sangue (Teste de Coombs Indireto) também é efetuado em cards específicos, os Card-ID LISS/Coombs.^[45] As microcolunas destes cards possuem uma matriz filtrante contendo na sua composição antiglobulina humana. O princípio deste teste, baseia-se na interação entre os antígenos (Rh positivos) das microcolunas e a presença ou não dos anticorpos anti-D no soro do doente. Caso o utente possua estes anticorpos, existirá interação e a consequente reação de aglutinação que permitirá dar um resultado positivo para o teste, uma vez que, os complexos aglutinados ficam à superfície da microcoluna.^[48]

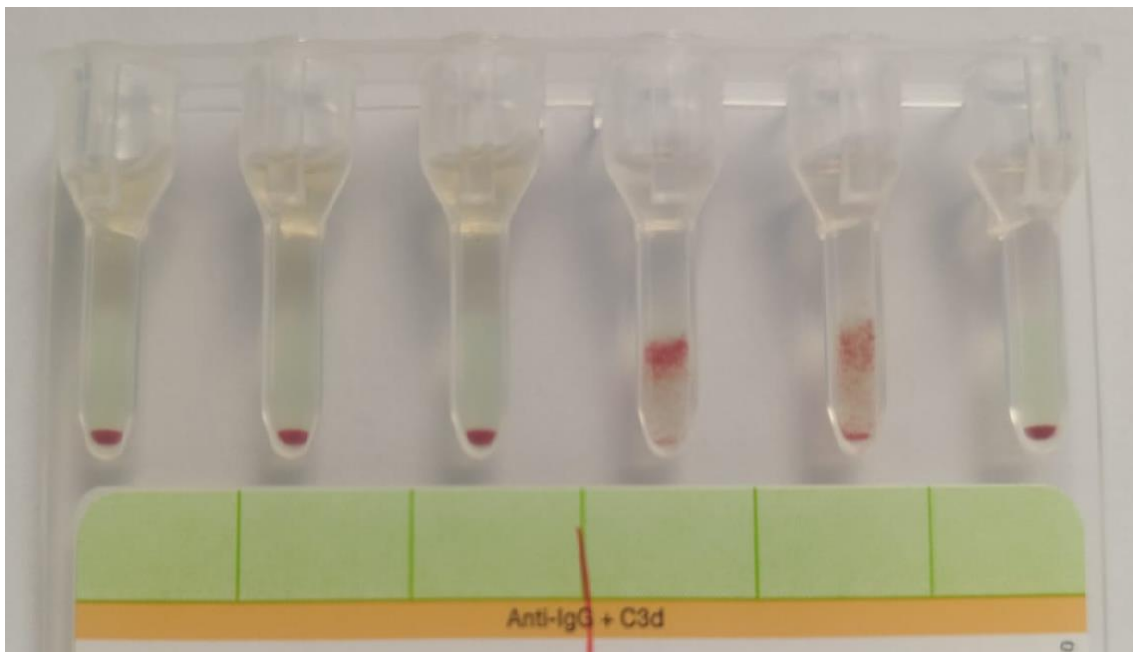


Figura 6- Card-ID LISS/Coombs.

A figura 6 representa à esquerda um resultado negativo, onde nas três microcolunas não existiu aglutinação e à direita um resultado positivo, onde existiu aglutinação nas primeiras duas colunas do segundo teste.

4.6.3 Clearview IM II

A mononucleose infecciosa (IM) é uma infeção causada pelo vírus Epstein-Barr que pertence à família de vírus herpes. Esta infeção tem como sintomas a dor de garganta, febre e inflamação dos gânglios linfáticos. O método de diagnóstico desta infeção no laboratório é realizado com

recurso à identificação qualitativa dos anticorpos heterófilos de IM pertencentes à classe das IgM,^[49] utilizando o teste Clearview IM II, em amostras de sangue total, soro ou plasma, sendo as mais utilizadas as amostras de soro. Este teste é um imunoensaio cromatográfico rápido, onde o antígeno específico para estes anticorpos heterófilos é extraído dos eritrócitos de bovinos e imobilizado na linha de teste. Assim, a amostra migra cromatograficamente ao longo do teste e caso possua anticorpos heterófilos de IM, estes vão ligar-se aos antígenos imobilizados, resultando no aparecimento de uma banda colorida na linha de teste, no caso de um resultado positivo.

4.6.4 Teste de Rosa de Bengala e Teste de Huddleson

O teste rápido Rosa de Bengala, é aplicado no laboratório para o despiste de infeções causadas pelas bactérias do género *Brucella*. causadoras da brucelose, que representa uma zoonose de distribuição mundial. Para além deste teste, ainda é realizado um teste de Huddleson que permite detetar especificamente anticorpos anti-*Brucella.abortus* , ao contrário do Rosa de Bengala que permite detetar diversas bactérias *Brucella* tais como: *Brucella abortus*, *B. bovis*, *B. melitensis* e *B. suis*.^[50]

O teste de Rosa de Bengala tem como método de funcionamento a deteção de anticorpos aglutinantes anti-*Brucella*, através da utilização de células de *Brucella* inativadas e coradas com o corante Rosa de Bengala. Posteriormente, estas são re-suspensas num tampão ácido, de modo a impedir a aglutinação de bactérias não específicas promovendo uma maior especificidade a este método. Assim sendo, esta aglutinação permite a reação de anticorpos aglutinantes de três classes, sendo estes: IgG, IgM e IgA, com o soro. Caso o soro do doente aglutine indica que o utente possui anticorpos aglutinantes anti-*Brucella* , atribuindo-se um resultado positivo a este. Por outro lado, se o soro do utente não aglutinar na execução deste teste, dá-se um resultado negativo.^[50]

4.6.5 VDRL / RPR

Uma das principais doenças sexualmente transmissíveis é a sífilis, transmitida pela bactéria *Treponema pallidum*. A infeção vai levar à produção de anticorpos desenvolvidos contra este organismo, que podem ser classificados como não treponémicos (não específicos) e treponémicos (específicos).^[51]

Como forma de diagnóstico indireto, semi-quantitativo e qualitativo desta patologia, são realizadas pesquisas destes anticorpos produzidos pelo organismo. No laboratório, os testes utilizados para este diagnóstico são o teste VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) e o RPR (*Rapid Plasma Reagin*), que são testes de floculação. O princípio de funcionamento destes dois testes são que ambos, possuem um antígeno fosfolipídico que interagirá com os anticorpos presentes no soro sanguíneo, permitindo a floculação dos antígenos, dando-se uma reação e um

resultado positivo. Se não ocorrer nenhuma floculação dos antígenos presentes no teste, indicará que o resultado é negativo. Este teste, por sua vez é semi-quantitativo, pois consoante a diluição do soro a que o resultado dá positivo, consegue-se obter um grau ou um título para o resultado positivo, que irá por sua vez, permitir ao médico, avaliar o resultado do diagnóstico. Uma das grandes diferenças existentes entre o teste de RPR e de VDRL é que no segundo, é necessário um aquecimento da amostra de soro do utente, de modo a excluir reações posteriores inespecíficas e o resultado deste, só é visível ao microscópio numa ampliação de 100X. Já o RPR não possui essa necessidade de manipulação na amostra de soro do utente, pois este teste, possui um composto (cloreto de colina) que permite a visibilidade macroscópica da floculação existente nos resultados positivos.^[51]

4.6.6 Teste de Waaler Rose

Tal como mencionado na secção da Bioquímica, o fator reumatóide surge associado a autoanticorpos pertencentes à classe das IgM que atuam contra a região Fc das IgG. Deste modo, como forma de confirmar a presença destes autoanticorpos, utiliza-se no laboratório o teste de Waaler Rose que consiste numa reação de hemoaglutinação entre os glóbulos vermelhos estabilizados contendo as IgG presentes no reagente e os autoanticorpos presentes no soro do utente.^[51] Deste modo, caso haja aglutinação no teste, o resultado é positivo e no caso contrário, ou seja, caso não exista aglutinação entre o soro teste e o soro do utente, o resultado é negativo.

4.6.7 Weil-Felix (OX19 / OXK)

As bactérias *Rickettsia*, são bactérias encontradas predominantemente em pulgas e piolhos. Estas, funcionam como parasitas à semelhança dos vírus, porém, ao contrário destes, possuem as duas formas de material genético (DNA e RNA). Para além destas duas formas, ainda possuem organelos capazes de assegurar a sua multiplicação celular, no seu hospedeiro aproveitando-se do meio intracelular deste, como fonte de nutrição. Estas bactérias, causam diversas doenças tais como a febre escarionodular e o tifo. Como forma de diagnóstico de infeção desta bactéria, é realizado o método inespecífico de deteção rápida de Weil-Felix (OX19 / OXK).^[52] O princípio de funcionamento deste teste, resulta da interação das bactérias do tipo *Rickettsia* presentes nos soros dos utentes, com os antígenos de *Proteus* presentes nos soros do teste, caso exista essa reação/aglutinação, o resultado é dado como positivo. É importante denotar que as *Rickettsias* responsáveis pelo desenvolvimento de tifo epidémico reagem com os *Proteus.vulgaris* OX19 e as responsáveis pelo tipo tifo selvagem, reagem com os *Proteus.mirabilis* OXK.^[52]

4.6.8 Reação de Widal

A febre tifoide é uma patologia associada a uma infeção bacteriana provocada pela bactéria (*Salmonella typhi*) e a febre paratifoide é provocada por bactérias do tipo (*Salmonella paratyphi* A, B ou C). Como diagnostico destas duas infeções, é realizado pela reação de Widal,

que consiste num teste serológico, onde é pesquisada a presença de anticorpos característicos destas patologias, tais como anticorpos associados às *Salmonella typhi* e *Salmonella paratyphi* A, B ou C. Este teste, tem como princípio a utilização de bactérias destas estirpes inativadas na suspensão de teste e, caso existam anticorpos no soro do utente, como resultado de uma resposta imunitária a uma infeção por estas bactérias, estes, reagirão com as bactérias inativas e formam uma aglutinação, dando um resultado positivo.^[51]

Capítulo 5.Hematologia

A secção da hematologia, é a secção destinada à avaliação do estudo do sangue e dos seus constituintes. Esta área científica, tem como principal objetivo, estudar os processos de produção dos diversos elementos do sangue, bem como os órgãos envolvidos. A hematopoiese que é o processo de formação, desenvolvimento, diferenciação e renovação das várias células sanguíneas. É também estudada a hemóstase, que é o processo fisiológico responsável por regular a coagulação por manter o sangue no estado líquido.^[53] Nesta área são estudados também os diversos produtos resultantes desses processos, que constituem o sangue.

O sangue é constituído por um elemento acelular que é o plasma que tem como principal função, transportar os outros constituintes celulares que são as plaquetas, os eritrócitos e os leucócitos. É também importante salientar a percentagem que os diversos constituintes do sangue possuem nessa mistura, assim sendo, o plasma representa cerca de 55% da constituição do sangue, e dos restantes, 45%, a maior a percentagem (99%) é de eritrócitos, os restantes 1% são plaquetas e leucócitos. O plasma assume-se como o componente maioritário do sangue, possuindo na sua composição, diversos constituintes importantes em processos celulares, tais como água (90% da sua constituição), iões, glicose, metabolitos, fatores de coagulação e diversas lipoproteínas e proteínas.^{[53][54][55]}

Na secção de Hematologia, são realizados hemogramas e contagem de reticulócitos, por meio da utilização do equipamento SYSMEX XN-550 em amostras de sangue total, recolhidas em tubos de EDTA K3. Para além destes dois tipos de análises, é realizada ainda com as mesmas amostras, a análise de medição da velocidade de sedimentação eritrócitária, no equipamento Ves Matic Cube 80. As análises a parâmetros de coagulação (TP, TTPa e Fibrinogénio) são realizadas, pelo equipamento SYSMEX CA-620, utilizando amostras recolhidas em tubos de citrato de sódio (anticoagulante).

5.1 Equipamentos e métodos

5.1.1 SYSMEX XN-550

O equipamento SYSMEX XN-550 é utilizado no laboratório para a determinação quantitativa e qualitativa dos parâmetros de hemograma e da contagem de reticulócitos.

O equipamento em questão, utiliza diversas técnicas de análise, sendo aplicadas consoante o tipo de parâmetro a determinar. Assim sendo, é utilizado o método espectrofotométrico de Lauril Sulfato de Sódio-Hemoglobina (SLS-Hb), para a medir a concentração de hemoglobina. O surfactante aniónico (SLS) é um reagente que para além de hemolisar os leucócitos e os eritrócitos altera a estrutura da hemoglobina, ligando-se ao grupo heme e formando o complexo corado (SLS-Hb) que posteriormente é quantificado espectrofotometricamente. Deste modo, quanto maior a concentração deste complexo formado, maior a concentração de grupos heme

complexados e, conseqüentemente, maior será a concentração de hemoglobina presente na amostra. [56]

Com a finalidade de determinar a concentração e a dimensão de plaquetas e eritrócitos, o equipamento utiliza como método de análise, a impedância elétrica e focagem hidrodinâmica. Este método envolve a passagem das células determinadas por dois elétrodos com cargas opostas, responsáveis por manter um campo elétrico constante. Através dessa passagem das células, o campo elétrico é alterado, havendo um aumento de tensão que é medida e convertida no tamanho das células, uma vez que quanto maior for a célula, maior será a tensão no campo elétrico e conseqüentemente maior será o sinal elétrico gerado. A contagem das células é assegurada, uma vez que a passagem de cada célula é assinalada pela presença de um sinal elétrico. Esses sinais elétricos, por sua vez são convertidos em gráficos, denominados de histogramas, que permitem observar a distribuição das células e os seus volumes. [31][53]

É importante referir que o equipamento possui mais um método para determinar os restantes parâmetros, tais como a análise e quantificação das características químicas e físicas dos componentes celulares do sangue, como as plaquetas por exemplo. O método utilizado para esta análise é a citometria de fluxo com fluorescência. [56] Esta técnica, envolve a adição de um reagente específico ao sangue permitindo a abertura de poros na membrana celular dos leucócitos, através dos quais entra um corante fluorescente que se ligará aos ácidos nucleicos presentes nestes, marcando-os. Após essa adição, as células irão estar expostas a uma radiação monocromática que ficará dispersa em vários pontos, havendo três detetores que captam a luz dispersa em três pontos, de modo a determinar as diversas subpopulações de leucócitos existentes nas amostras. Os pontos de dispersão captados são o ponto de dispersão lateral da luz que permite denotar a complexidade e a estrutura interna das células (núcleos e grânulos), o ponto de dispersão frontal de luz, que se assume proporcional à dimensão celular, e o ponto de fluorescência lateral, que é o ponto que determina a quantidade de ácidos nucleicos (ADN e RNA) presentes nas células. [57]

O controlo de qualidade aos parâmetros deste equipamento, é realizado através da aplicação de três amostras controlo, duas vezes ao dia. Das três amostras, é importante mencionar que uma delas possui valores baixos para cada parâmetro analisado, a outra apresenta valores intermédios e a terceira apresenta valores teóricos elevados. Assim, de manhã, são aplicados o controlo baixo e o intermédio, e de tarde são aplicados o controlo intermédio e alto. No dia seguinte, é aplicado de manhã o controlo intermédio e alto e de tarde, é aplicado o médio e o baixo, e assim sucessivamente. O controlo é então realizado, por meio da análise de cada valor para cada parâmetro determinado das amostras controlo, comparando com os valores teóricos, com os valores obtidos pelo equipamento para cada amostra controlo.

5.1.2 Ves Matic Cube 80

O Ves Matic Cube é o equipamento utilizado para determinar de forma automatizada, a velocidade de sedimentação eritrocitária. Este, converte os valores obtidos para valores correspondentes aos do método de Westergren que é o método padrão para a determinação da velocidade de sedimentação eritrocitária.^[57] A análise das amostras inicia-se por meio da agitação homogénea destas, e posteriormente após repouso os sensores ótico-eletrónicos medirão a sedimentação eritrocitária em determinados intervalos de tempo precisos. Segundo os valores lidos, estes são convertidos automaticamente para os valores correspondentes ao método de Westergren e o resultado da velocidade de sedimentação eritrocitária é representado para cada amostra.

O controlo de qualidade neste equipamento, envolve a aplicação de dois níveis de controlo, um para valores de velocidade de sedimentação alta e outro baixa. Estas amostras controlo tem valores conhecidos de velocidade de sedimentação dentro de intervalos, deste modo, são aplicadas no equipamento duas vezes ao dia, uma ao início e outra a meio do dia de trabalho e são analisados os seus resultados, comparando com os valores teóricos conhecidos.

5.1.3 SYSMEX CA-620

O equipamento SYSMEX CA-620 utiliza como método de análise a turbidimetria. Esta técnica tem como principal objetivo, determinar a concentração de amostras em estudo por meio da medição da intensidade de luz. Nesta técnica, existe um feixe de luz que atravessa as amostras e devido a um aumento das partículas em suspensão reduzem a quantidade de luz que chega ao foto-detetor. Assim, quanto maior a concentração de partículas, menor será a quantidade de luz detetada para um determinado comprimento de onda específico de cada teste. A quantidade de luz recebida pelo foto-detetor é convertida em sinais elétricos que serão fundamentais para a conversão dos valores detetados em valores de tempo de coagulação das amostras.^[53] Através deste equipamento, é possível determinar , não só o tempo de coagulação das amostras (TP), mas também a concentração de fibrinogénio e a taxa de protrombina (TTPa).

O controlo de qualidade deste equipamento e dos parâmetros determinados por este é realizado diariamente, duas vezes ao dia, uma ao início do dia e outra a meio do dia. O processo consiste na aplicação de duas amostras controlo, uma para níveis elevados e outra para níveis baixos dos vários parâmetros determinados neste equipamento. Deste modo, as amostras controlo aplicadas possuem valores de determinação conhecidos teóricos, os quais são comparados com os valores das amostras controlo quantificados no equipamento.

5.2 Hemograma

O hemograma é uma análise bastante importante na secção da hematologia, uma vez que, permite aferir o estado das células sanguíneas, tanto qualitativamente como quantitativamente. Esta análise é uma das mais pedidas nas requisições médicas, por permitir auxiliar o diagnóstico

de várias patologias associadas aos diversos tipos de células sanguíneas, tais como os eritrócitos, leucócitos e plaquetas. A análise do hemograma pode ser dividida em três perfis, sendo estes, o perfil eritrograma, leucograma e plaquetograma, onde cada um é caracterizado pela determinação de parâmetros importantes nos diversos tipos de células sanguíneas.^[35]

5.2.1 Eritrograma

O eritrograma envolve um conjunto de testes específicos para avaliar os eritrócitos. Os parâmetros constituintes deste perfil eritrocitário encontram-se representados na tabela 6.

Tabela 6- Parâmetros determinados no eritrograma.

Denominação	Sigla	Unidades
<u>Eritrócitos</u>	RBC	nº de células/ μ L
<u>Hemoglobina</u>	HGB	g/dL
<u>Hematócrito</u>	HCT	%
<u>Volume Corpuscular Médio</u>	VCM	fL
<u>Hemoglobina Corpuscular Média</u>	HCM	pg
<u>Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média</u>	CHCM	g/dL
<u>Volume dos eritrócitos</u>	RDW-SD	fL
	RDW-CV	%

Os eritrócitos, para além de serem o principal componente celular do sangue, possuem uma função bastante importante na oxigenação dos tecidos, permitindo a realização de trocas gasosas entre os tecidos e os pulmões. Estas células apresentam uma forma de disco bicôncavo, com uma dimensão compreendida entre 7 e 8 μ m, e não possuem núcleo, nem mitocôndrias, mas contêm uma proteína a Hemoglobina, responsável pelas trocas gasosas efetuadas pelos eritrócitos. Esta proteína possui quatro cadeias polipeptídicas, cada uma com um grupo heme, constituído pela molécula orgânica protoporfirina IX em conjugação com o ião Fe^{2+} , que permite a ligação de oxigénio aos eritrócitos. Cada eritrócito possui cerca de 99% do seu volume com esta proteína, em condições normais.^[57]

Para além desta constituição, é importante realçar que a concentração de hemoglobina pode variar nos eritrócitos, como consequência de alteração da síntese desta metaloproteína. Deste

modo, consoante a concentração de hemoglobina, são atribuídas diferentes classificações para os eritrócitos. Assim, se os eritrócitos possuírem uma concentração normal de hemoglobina, estes são classificados de normocrómicos, caso a sua concentração aumente, são classificados como eritrócitos hiperocrómicos, e no caso inverso, onde a concentração diminua, são denominados de hipocrómicos.^[35]

Assim sendo, tal como a tabela 6 demonstra, são avaliados diversos parâmetros no eritrograma referentes aos eritrócitos e à Hemoglobina, nomeadamente a quantidade (número) de eritrócitos presentes por litro de sangue, representado pela sigla RBC, o volume corpuscular médio (VCM) ocupado por cada eritrócito expresso em fentolítros e o hematócrito (HCM) que permite determinar o volume que os eritrócitos ocupam no sangue, e que é expresso em %. Existe ainda um outro parâmetro, referente aos eritrócitos que é representado pela sigla RDW que se refere a uma medida que permite quantificar a variabilidade do volume dos eritrócitos e pode ser expresso de duas formas, em fentolítros (RDW-SD), e em percentagem (RDW-CV).

Também no eritrograma são realizadas determinações analíticas, com foco na avaliação da Hemoglobina. Assim sendo, para além da concentração desta proteína por litro de sangue, expressa pela sigla HGB, é também determinado o seu peso médio em cada eritrócito, expresso em picogramas e representado pela sigla HCM. Para além destes parâmetros, é também importante determinar a concentração média presente desta proteína em cada eritrócito, denominada de concentração de Hemoglobina corpuscular média e é representada pela sigla (CHCM) e expressa em g/dL.

5.2.2 Leucograma

Existem vários tipos de leucócitos, cada um com funções específicas no organismo humano, sendo estes os neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos. Através da análise do leucograma, é possível avaliar a quantidade existente no sangue de todos estes leucócitos, individualmente e no total. A tabela 7 representa aproximadamente a percentagem que cada tipo de leucócito assume na composição total de leucócitos presentes no sangue.

Tabela 7- Tipos de Leucócitos.

Tipo de Leucócito	% em função do total de Leucócitos
<u>Neutrófilos</u>	50 a 70
<u>Linfócitos</u>	18 a 42
<u>Monócitos</u>	2 a 11
<u>Eosinófilos</u>	1 a 3
<u>Basófilos</u>	0 a 2

Tal como é possível denotar, os neutrófilos são os leucócitos que estão presentes em maior quantidade no sangue. Estes possuem núcleo constituído por cromatina bastante condensada, muitos grânulos no seu citoplasma, bem como este, bastante acidófilo. Os neutrófilos têm um papel preponderante no sistema imunitário, atuando como agentes fagocitários de diversos microrganismos. A sua quantificação permite identificar respostas imunitárias a infeções virais, com à, no caso de a concentração de neutrófilos se encontrar diminuída no sangue (neutropenia). Outro tipo de leucócitos que, são os linfócitos, que se podem dividir em três grupos, os linfócitos B, T e em células *Natural killer*. Os linfócitos B possuem a capacidade de sintetizar anticorpos, que atuam na imunidade humoral. Os linfócitos T e as células *Natural killer*, assumem um papel preponderante na imunidade celular. Assim, é importante quantificar os linfócitos no sangue, pois um aumento (linfocitose) ou diminuição (linfopenia), podem indicar patologias como leucemias e a imunodeficiências, respetivamente. Estas células são constituídas por um núcleo arredondado com cromatina condensada na sua constituição. Estes ao contrário dos neutrófilos, possuem um citoplasma basófilo, porém pouco abundante.^[57]

Tal como é visível na tabela 7, os monócitos, eosinófilos e basófilos, são os leucócitos com menor prevalência no sangue. Com uma percentagem mais elevada que os eosinófilos e os basófilos, os monócitos são caracterizados por possuírem um núcleo irregular em forma de lóbulo. e por apresentarem um citoplasma constituído por grânulos azurófilos. Os monócitos quando migram para os tecidos são diferenciados em macrófagos, os quais protegem os tecidos, realizando a fagocitose. Os eosinófilos e os basófilos, são considerados os leucócitos menos abundantes no sangue. Os primeiros possuem uma função bastante importante no que toca à resposta alérgica, interferindo na regulação do sistema imunitário. Para além desta função, os eosinófilos, são caracterizados por possuírem no seu citoplasma, grânulos esféricos e um núcleo bilobado. Por fim, os basófilos possuem também grânulos irregulares no seu citoplasma, que encobrem o núcleo irregular que eles possuem. A sua função no organismo humano é desencadeada ao nível do sistema imunitário, à semelhança dos eosinófilos, atuando como um leucócito importante nas respostas alérgicas.^[57]

5.2.3 Plaquetograma

O plaquetograma, é um conjunto de determinações analíticas, que avalia não só a morfologia, mas também a quantidade de plaquetas existentes no sangue dos utentes. Na figura 8 estão representados os parâmetros determinados no plaquetograma.

Tabela 8- Parâmetros determinados no plaquetograma.

Denominação	Sigla	Unidades
Contagem de Plaquetas	PLT	nº de células/ μ L
Plaquetócrito	PCT	%
Volume Plaquetar Médio	VPM	fL
Índice de Distribuição Plaquetário	PDW	fL

O plaquetograma é importante uma vez que as plaquetas são fundamentais na resposta a infecções e lesões, e na detecção de possíveis patologias mieloproliferativas, associadas a doenças malignas. Estas células sem núcleo e com uma dimensão compreendida entre 2 e 3 μ m de diâmetro, são formadas a partir dos megacariócitos. O número total de plaquetas, representado pela sigla PLT, permite verificar se o utente possui um número elevado de plaquetas (trombocitose) ou um número reduzido de plaquetas (trombocitopenia), este último é confirmado através de um esfregaço sanguíneo pelo técnico especialista do laboratório. A trombocitose é uma condição que se verifica muito comumente em doenças mieloproliferativas e infecções. Já a trombocitopenia, é associada a uma condição patológica imunológica, podendo ser causada pela destruição das plaquetas, ou causadas devido a diminuição da sua síntese.^{[35][53]}

Para além da contagem de plaquetas, tal como a tabela 8 sugere, existem outros parâmetros determinados para a análise das plaquetas. O volume que as plaquetas ocupam no sangue total, (PCT), corresponde ao plaquetócrito, expresso em percentagem e o volume que cada plaqueta possui em média, denominado de volume Plaquetar médio (VPM), sendo expresso em fentolitros. Para além destes parâmetros, ainda é determinado o índice de distribuição plaquetário (PDW), que permite aferir a variação do volume das plaquetas, e que é expresso em fentolitros.

5.3 Contagem de Reticulócitos

O equipamento para efetuar a contagem de reticulócitos é o SYSMEX XN-550 que utiliza a citometria de fluxo com fluorescência, como técnica analítica para este parâmetro. O RNA dos reticulócitos é marcado com o corante fluorescente, permitindo a sua identificação. Os reticulócitos são provenientes da medula óssea e são as células que originam os eritrócitos.^[57]

Por serem provenientes da medula óssea, através da quantificação destas células, é possível aferir a atividade eritropoética da medula óssea, responsável pela produção de eritrócitos.^[57] Assim sendo, quando existe uma patologia associada à destruição dos eritrócitos, geralmente esta é confirmada por um aumento da concentração de reticulócitos. Se existir uma diminuição de reticulócitos, por sua vez, poderá indicar uma diminuição da atividade da eritropoietina e, conseqüentemente, uma redução da atividade eritropoética da medula óssea.^[57]

5.4 Velocidade de sedimentação eritrocitária

A determinação da velocidade de sedimentação eritrocitária é elaborada com recurso ao equipamento Ves Cube Matic 80. Tal como as suas unidades de medida indicam (mm/h), esta análise tem como principal objetivo avaliar a distância que os eritrócitos percorrem por hora, através da intervenção da força gravítica.^[53]

Geralmente, em condições não patológicas, e tendo em consideração o sexo do utente, a velocidade de sedimentação eritrocitária corresponde a intervalos de 0 a 20 mm/h nas mulheres e no intervalo de 0 a 15 mm/h nos homens.^[53]

A determinação desta análise, permite em conjunto com a hsPCR, a deteção inespecífica de diversos processos infecciosos em fase aguda ou crónicos, uma vez que, estes afetam a sedimentação dos eritrócitos. Estes repelem-se uns aos outros (ficando mais isolados), por possuírem as mesmas cargas. No caso de uma infeção, as proteínas de fase aguda interferem nessa repulsão, por possuírem carga positiva e os eritrócitos ficam agregados e sedimentam a uma velocidade menor, do que os isolados, daí verificar-se um aumento desta velocidade de sedimentação em caso de infeções. As patologias que geralmente afetam a velocidade eritrocitária são por exemplo a artrite reumatoide e neoplasias.^[57]

5.5 Provas de coagulação

As provas de coagulação, são realizadas com auxílio do equipamento SYSMEX CA-620 e são de extrema importância para avaliar as diversas vias da cascata de coagulação, ativada pelo organismo, em caso de lesão tecidual.^[53] As provas elaboradas no laboratório para avaliar o estado das diversas vias da cascata de coagulação são o Tempo de Protrombina (TP), o Tempo de Tromboplastina Parcial ativado (TTPa) e o doseamento da proteína de fase aguda Fibrinogénio.

Para a determinação do TTPa é adicionado ao plasma, uma quantidade específica de um reagente que contém fosfolípidos e Ca^{2+} que induzirão a ativação da cascata de coagulação, sendo medido o tempo que a amostra leva após a adição deste reagente até à formação do coagulo de fibrina.^[58] Através desta determinação, é possível avaliar não só os diversos fatores da cascata de coagulação, mas também, o risco de hemorragias antes de uma cirurgia,

monitorizar a terapia com heparina não fracionada e também, confirmar a presença de anticoagulantes lúpicos (trombofilia).^{[59][60]}

Como forma de auxiliar a monitorização de utentes que estejam a realizar uma terapia com anticoagulantes orais (ex: varfarina), e como forma de avaliar a presença de doenças hepáticas, é realizada a determinação do TP. O TP representa o tempo até a formação do coágulo de fibrina quando se dá a junção de tromboplastina e cálcio ao plasma, e indica o estado das diversas vias da cascata de coagulação (vias extrínsecas), conforme o aumento ou diminuição deste tempo.^[61]

Para além destes dois parâmetros, ainda é quantificada a proteína de fase aguda, fibrinogénio, que é o último componente da cascata de coagulação. A agregação desta proteína leva à formação da fibrina, permitindo estancar as hemorragias. Se existir uma diminuição da concentração desta proteína, traduzir-se-á numa menor capacidade de formação de fibrina, podendo ocorrer hemorragias, uma vez que o processo de coagulação não será realizado com eficácia. O caso contrário, onde ocorre um aumento da concentração desta proteína, resultará num risco elevado de doenças cardiovasculares (ex: enfarte do miocárdio), devido ao facto de se formarem coágulos de fibrina na corrente sanguínea.^{[62][63]} O equipamento realiza esta determinação, através da adição de uma enzima, que é a trombina, que converte o fibrinogénio em fibrina, obtendo-se plasma diluído. Através da determinação do tempo de coagulação do plasma diluído e sabendo que a concentração de fibrinogénio é inversa a esse tempo, este equipamento consegue quantificar esta proteína.^{[64][65]}

5.6 Avaliação morfológica e contagem diferencial de células sanguíneas

Quando o médico pede na requisição, uma contagem diferencial de células sanguíneas e uma avaliação morfológica das mesmas, ou quando o resultado do hemograma apresenta algumas divergências nos valores do mesmo (ex: plaquetas muito baixas), é realizado um esfregaço de sangue periférico. O esfregaço tem de ser preparado com determinadas características, que permitam uma boa qualidade de visualização das células ao microscópio. Deste modo, o esfregaço é realizado, através da aplicação de uma gota de sangue proveniente de uma amostra previamente homogeneizada, numa extremidade de uma lâmina de vidro. Em seguida, com um movimento muito rápido, preciso e de forma contínua, a gota é arrastada ao longo da lâmina com o auxílio de uma lamela, permitindo o arrastamento das diversas células sanguíneas existentes. Depois é importante corar o mesmo, para permitir a visualização das células sanguíneas ao microscópio. O tipo de coloração utilizada no laboratório é a coloração de May-Grunwald Giemsa, recomendado pelo Comité Europeu para os programas de Avaliação Externa da Qualidade na Medicina Laboratorial.^[66] Este método de coloração envolve a utilização de uma mistura de corantes neutra, sendo estes o May-Grunwald constituído por eosina (ácido) e azul de metileno (básico) e o Giemsa que contém a solução de azul de metileno oxidado. Assim, observa-se ao microscópio o núcleo das células em cor azul, devido ao azul de metileno, e o

realce mais intenso da coloração dos componentes nucleares, sendo observados com uma cor arroxeada-avermelhada, devido ao azul de metileno oxidado. A eosina, permite visualizar microscopicamente com uma cor vermelho-rosada, a maior parte dos componentes básicos das células. [66] [67]

Capítulo 6. Microbiologia

A secção de microbiologia compreende a avaliação de microrganismos em diversos tipos de produtos biológicos, desde urinas, hemoculturas, fezes exsudatos vaginais, exsudatos uretrais, exsudatos anais, exsudatos faríngeos, entre outros.

Esta secção é bastante prática, por a maior parte do trabalho técnico elaborado, ser maioritariamente manual. O trabalho envolve uma elevada concentração e eficácia no seu procedimento, uma vez que, estão a ser detetados e manuseados microrganismos e onde as contaminações têm de ser nulas, a fim de providenciar uma excelente capacidade de fiabilidade nos seus resultados. Nesta secção, há diversos processos, de entre os quais, é importante destacar a preparação prévia das amostras e a escolha e manuseamento dos meios de cultura para a sementeira das mesmas (decantação de urinas, seleção dos meios de cultura para cada tipo de amostra e respetiva identificação). Para além destes processos, é igualmente importante destacar, a elaboração da sementeira das amostras biológicas, a visualização e seleção dos microrganismos positivos nas sementeiras, bem como a preparação das cartas para a elaboração de antibiogramas e a elaboração e coloração das lâminas, como forma de confirmação da seleção de microrganismos a realizar antibiograma. Igualmente importante é observação de sedimentos urinários, bem como a aplicação de testes manuais para a deteção de diversas substâncias, tais como drogas em amostras de urina, e sangue oculto em amostras de fezes, ou até mesmo a preparação manual dos exames parasitários.

Para além de ser uma secção caracterizada pela aplicação de diversas técnicas manuais, a utilização de equipamentos não é excluída da mesma. Um dos equipamentos de análise envolvidos nesta secção é o VITEK 2 Compact da Biomérieux, responsável por realizar testes de identificação de microrganismos de interesse, bem como testes de sensibilidade a antimicrobianos para cada microrganismo de interesse. Este assume-se como um equipamento bastante importante no diagnóstico e no tratamento de infeções microbianas, por identificar o microrganismo e fornecer uma informação sobre os antibióticos a utilizar. Um outro equipamento também é utilizado, com a finalidade de realizar a análise de sedimentos de urinas, o Iricell iQ200 da Beckman Coulter, que surge acoplado ao equipamento dos parâmetros bioquímicos das urinas. A análise dos sedimentos das urinas, requer validação dos resultados por um técnico superior, para confirmar os sedimentos analisados automaticamente e como forma de controlo de qualidade dos resultados obtidos. Esta análise é também bastante importante no momento de validação de uma urina assética e no resultado do exame microbiológico da mesma.

Em termos de controlo de qualidade, este é realizado a todos os locais de trabalho do ambiente de microbiologia, incluindo todas as bancadas e camara de fluxo laminar. Este controlo é realizado através do uso de placas de COS, que permanecem abertas em cima das superfícies de controlo durante cerca de 20 minutos e depois são incubadas na estufa a cerca de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante cerca de 24 horas. Após incubação, é então registada a não ausência de crescimento,

que significa controlo de qualidade ambiental positivo. Para além deste controlo de qualidade ambiental, é realizado o controlo de qualidade dos equipamentos utilizados nesta secção. No equipamento iQ200 são utilizados diariamente soluções de controlo de qualidade fornecidas pelo fabricante. Em relação ao equipamento Vitek, o controlo de qualidade é mais específico, uma vez que envolve a cultura de estirpes microbianas conhecidas provenientes de crioesferas. Estas crioesferas, estão inseridas dentro de pequenos tubos e possuem essas estirpes microbianas aderidos a elas e crio-preservadas. Assim sendo, as esferas são inoculadas nos meios de cultura favoráveis a estirpe selecionada e, após 24 horas de incubação, são elaborados os antibiogramas e as identificações das mesmas no equipamento. Estas crio-esferas são preservadas no laboratório, entre os -2°C e -25°C.

6.1 Iricell iQ200

O equipamento de análise de sedimentos iQ200 surge acoplado ao equipamento de análise bioquímica de urinas, embora funcionem de forma independente. O iQ200 é um equipamento de microscopia que permite o reconhecimento automático de diversas partículas (sedimentos) nas amostras de urinas. Esse reconhecimento é possível devido a um software de morfologia de fluxo digital incorporado no equipamento, que permite reconhecer automaticamente as partículas, isolá-las e identificá-las, consoante as suas características. Após o esses passos, o técnico responsável, avalia cada um dos sedimentos identificados.^[68]

O tipo de partículas geralmente identificadas por este equipamento são: corpos cetónicos, cristais de oxalato de cálcio, cristais de ácido úrico, células epiteliais, eritrócitos, leucócitos, bactérias, leveduras, cilindros, espermatozoides, parasitas, entre outros tipos de constituintes contaminantes, tais como bolhas de ar, partículas de gordura, pelos, entre outros.

6.2 Vitek

O equipamento Vitek é o equipamento utilizado no laboratório, para realizar a identificação e a sensibilidade dos microrganismos de interesse isolados das culturas microbiológicas (urinas e exsudatos).

Este equipamento possui uma base de dados bastante completa sobre diversos microrganismos, permitindo-lhe identificar uma vasta gama destes. Esta base de dados, possui diversas informações acerca dos microrganismos, tais como: reações típicas dos microrganismos e das suas famílias, bem como os compostos bioquímicos formados dessas reações. É avaliando essas características, que o equipamento consegue comparar o microrganismo em questão e a base de dados, permitindo identificá-lo. Uma vez identificado o organismo, é então realizado o antibiograma) aplicando cartas que contém na sua composição diversos antibióticos, consoante o tipo de organismo e diversas concentrações do mesmo. ^[69]

As principais cartas utilizadas neste equipamento são as cartas de identificação e as de sensibilidade. As cartas de identificação são as (YST) que são específicas para a identificação de Leveduras e as cartas (GN) e (GP), específicas para a identificação de bacilos Gram-negativas e cocos e lactobacilos Gram-positivas, respetivamente. Em termos de cartas de sensibilidade, as utilizadas no laboratório são de diversos tipos, sendo as AST-N373 e AST-N355, as cartas de sensibilidade para bacilos Gram-negativas, as AST-P586 e AST-P648, as cartas de sensibilidade para cocos e lactobacilos Gram-positivas. São ainda utilizadas para além destas quatro cartas, a carta AST-ST03 que é a carta de sensibilidade para *Streptococcus*.

6.3 Análise de Urinas

A análise de urinas no laboratório compreende várias etapas. Para além da análise química descrita e realizada no âmbito de bioquímica, existem as análises de sedimentos realizadas pelo equipamento iQ200 que são mais importantes para esta secção. Estas análises aos sedimentos urinários, permitem observar nas urinas asséticas, os diversos sedimentos, tais como: eritrócitos, leucócitos, cristais, bactérias, células epiteliais e fungos, que se revelam importantes na confirmação e validação dos resultados das uroculturas. Assim sendo, as análises às urinas asséticas pressupõe várias etapas no laboratório. A figura 7 representa as várias etapas desta análise.

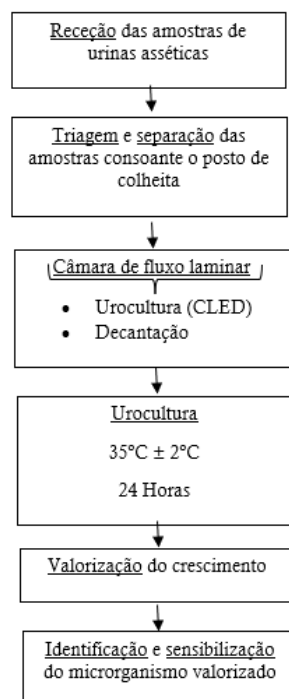


Figura 7- Fluxograma de análise de urinas.

Tal como é possível observar na figura 7, primeiramente, as amostras de urina assética são rececionadas, E posteriormente, são triadas e separadas consoante a origem dos postos de colheita. Após essa separação, as urinas são transferidas para a câmara de fluxo laminar, onde

são abertas em ambiente estéril, semeadas em placas com meio CLED (cistina lactose deficiente em eletrólitos) identificadas e decantadas para um tubo específico identificado, com a finalidade de ser utilizado para a realização do exame ao sedimento. Posto isto, as placas com meio CLED semeadas com as urinas assépticas vão para a estufa incubar a cerca de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante cerca de 24 horas. No dia seguinte, o técnico especialista analisa o crescimento das placas e valoriza o crescimento microbiano presente, comparando as placas com a análise dos sedimentos e, em caso de valorização das uroculturas, é realizada a identificação e o teste de sensibilidade do microrganismo.

O meio de crescimento e isolamento microbiano utilizado para a análise de produtos urinários é o meio de Gelose CLED, pois devido à sua composição permite diferenciar bactérias fermentadoras de lactose (colónias amarelas-pálidas) e não fermentadoras de lactose (colónias azuis, verdes ou incolores). Para além desta diferenciação, este meio também evita o crescimento de *Proteus*. Os microrganismos mais comumente isolados neste meio são as *Pseudomonas*, estafilococos, enterecocos, enterobactérias, *Stenotrophomonas* e para além destes, ainda é possível encontrar outras bactérias Gram-positivas e leveduras.^{[70][71]}

6.4 Análise de Exsudatos

A análise de exsudatos elaborada no laboratório, compreende três etapas, sendo a primeira o exame a fresco, a segunda o exame direto após coloração e o exame cultural.

As amostras de exsudatos contêm por norma duas zaragoas uma para se efetuar a cultura, e outra para se realizar o exame a fresco. Para além disso, também se prepara uma lâmina com um esfregaço feito na hora da colheita. As amostras de expetoração por sua vez, chegam ao laboratório dentro de um boião estéril e as lâminas utilizadas no exame direto são preparadas na câmara de fluxo laminar no momento da cultura.

No exame a fresco, realiza-se um esfregaço numa lâmina diretamente de uma das zaragoas colhidas. Esse esfregaço é observado ao microscópio pelo técnico especialista, permitindo detetar microrganismos e corpos celulares, como bactérias, tricomonas, leucócitos, eritrócitos e lactobacilos, entre outros.

O exame direto em qualquer amostra, é realizado por meio da coloração das lâminas preparadas no ato da colheita, ou no caso das expetorações, nas lâminas realizadas na câmara de fluxo laminar, com a coloração de Gram e Ziehl-Neelsen. A coloração de Gram permite observar o perfil das bactérias existentes nas amostras, sendo estas Gram positivas ou Gram negativas, consoante a sua coloração seja violeta ou laranja-cor de rosa respetivamente. Esta permite definir o tipo de carta a utilizar na identificação do microrganismo presente no exame cultural, sendo carta GP ou GN para Gram positivo e Gram negativo, respetivamente. A coloração de Ziehl-Neelsen é um método que completa o primeiro, uma vez que, este permite corar bactérias

que não coram com a coloração de Gram, por possuírem na sua parede celular, ácidos que impedem a entrada do corante de Gram na bactéria. Assim sendo, a coloração de Ziehl-Neelsen permite detetar essas bactérias denominadas de ácido-álcool resistentes, tais como por exemplo *Mycobacterium*. Estas bactérias detetadas apresentam coloração cor-de-rosa.^{[72][73]}

O exame cultural é realizado tendo como base os meios de cultura e o tipo de exsudato e amostra biológica a inocular. Na figura 8 estão representados os meios de cultura utilizados e os tipos de microrganismos e características das colónias dos mesmos.

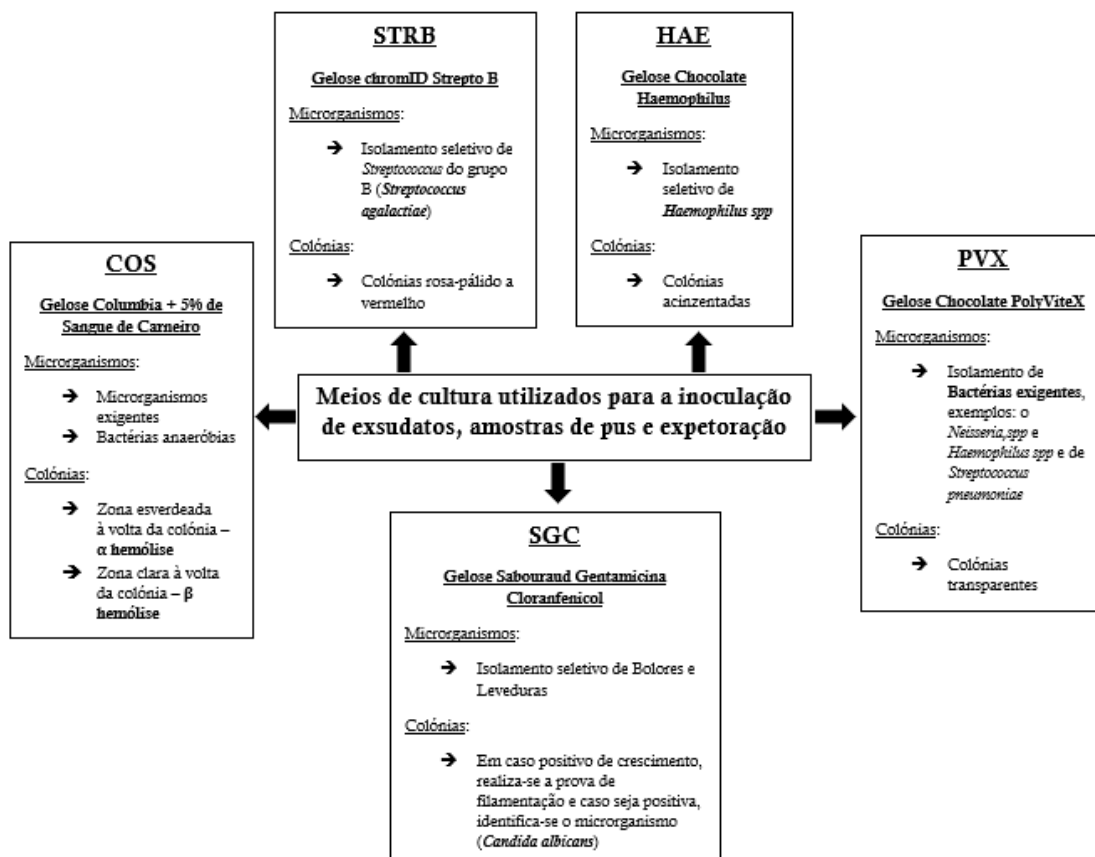


Figura 8- Meios de cultura utilizados para a inoculação de exsudatos, amostras de pus e expetoração.^[57]

A inoculação dos exsudatos e das amostras de pus e expetoração, é realizada tendo como base o tipo de microrganismos a pesquisar e as características da flora microbiana existente em cada tipo de amostra biológica. Segundo a figura 8, os meios favorecem o crescimento seletivo de diferentes tipos de microrganismos, dependendo da composição dos mesmos. A inoculação é realizada na camara de fluxo laminar no dia da colheita, estes são incubados na estufa de forma invertida, a cerca de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante cerca de 24 horas, à exceção dos meios SGC que são incubados noutra estufa à temperatura de $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas. Após a incubação, é observado o seu crescimento e voltam para a estufa mais 24 horas, completando um período de 48 horas de incubação e duas observações de crescimento. É importante salientar que em caso de crescimento, é realizada uma prova de filamentação, permitindo identificar o microrganismo

presente. Assim, se for positiva a filamentação, o microrganismo é a *Candida albicans*. Esta prova é realizada, através da inoculação de uma colónia existente na placa de SGC num tubo contendo soro de um paciente, uma vez que, este contém nutrientes importantes para a filamentação deste microrganismo. Após duas horas, é depositada uma gota do inoculado numa lamina e é observado ao microscópio a presença ou a ausência de filamentos.

Para além destes meios, é igualmente importante salientar que o meio HAE também possui condições específicas, sendo estas a incubação na estufa, numa atmosfera de CO₂, como forma de proporcionar o crescimento de *Haemophilus spp.* Esta incubação é realizada numa câmara dentro da estufa com geradores de atmosfera CO₂. A placa com o meio PVX, também é mantida numa câmara dentro da estufa num ambiente controlado de aerobiose.

Na cultura destas amostras biológicas é também importante a utilização de meios líquidos de enriquecimento que favorecem o desenvolvimento de microrganismos. A figura 9 demonstra os meios líquidos utilizados nas amostras descritas anteriormente e a que tipo de microrganismos se destinam. É igualmente importante denotar que, após 24 horas do enriquecimento, estes microrganismos são inoculados em novas placas de COS que lhe permitem crescer os tipos de microrganismos enriquecidos. Após 24 horas é observado nas placas o crescimento microbiano resultante do enriquecimento. Assim, as culturas enriquecidas, só serão vistas ao fim de 48 horas após a colheita da amostra biológica.

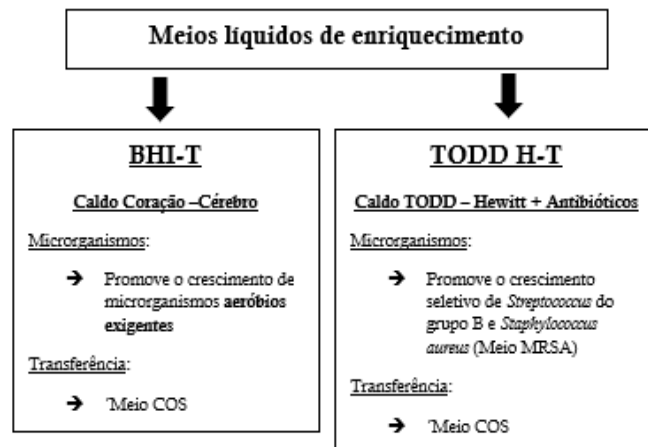


Figura 9- Meios líquidos de enriquecimento.^[57]

O tipo de amostra e exsudato são inoculados em diferentes meios de cultura. Na tabela 9, está representado o tipo de amostra e o tipo de placa e meio de enriquecimento a utilizar.

Tabela 9- Tipos de amostras biológicas, placas a inocular e meios de enriquecimento utilizados.

	COS	STRB	HAE	PVX	SGC	BHI-T	TODD H-T
<u>Exsudato vaginal</u>	X	X			X		X
<u>Exsudato vaginal/anal</u>	X	X		X			X
<u>Exsudato uretral</u>	X	X	X	X	X		X
<u>Exsudato faríngeo</u>	X			X	X	X	
<u>Exsudato nasal</u>	X		X		X	X	
<u>Exsudato auricular</u>	X		X		X	X	
<u>Pus</u>	X		X	X	X	X	
<u>Expetoração</u>	X		X		X		

6.5 Análise de amostras de fezes

As amostras de fezes são recolhidas de duas formas no laboratório. Uma é a recolha de fezes dentro de um boião esterilizado, sendo utilizadas no exame parasitológico, e na análise da pesquisa de sangue oculto. A outra forma de recolha de amostras de fezes é em boiões específicos para a realização das coproculturas.

A análise de sangue oculto nas fezes é realizada em três amostras de fezes recolhidas três dias consecutivos anteriormente ao do último dia de colheita, que é o mesmo dia de entrega. No laboratório, as três amostras são rececionadas, triadas e picadas com uma espécie de pá pequenina, são transferidas para um boião contendo um meio de transporte específico e, finalmente seguem em ambiente refrigerado para outro laboratório do grupo (local onde é elaborada a análise em questão).

A análise parasitológica às fezes realizada às 3 amostras de fezes, é iniciada por uma avaliação macroscópica. Depois são recolhidas de cada amostra, frações de diversas regiões das mesmas, recolhendo a amostra o mais uniforme possível, para em 3 tubos específicos deste teste, contendo um tampão. Estes tubos são centrifugados a uma rotação de 1500 rotações por minuto, durante 2 minutos. Em seguida, as amostras são observadas ao microscópio pelo técnico especialista, de modo a identificara presença dos parasitas.

As coproculturas permitem identificar a presença de alguns microrganismos da flora gastrointestinal causadores de infeções gastrointestinais. Como a flora microbiana em questão é

bastante ampla, são utilizados vários meios seletivos para a identificação de diversos microrganismos patogênicos. Assim sendo, à semelhança do exame cultural de exsudatos, nas coproculturas, as amostras também são inoculadas em diversos meios específicos.

Na figura 10 estão identificados os diversos meios de cultura utilizados na inoculação das coproculturas, bem como a sua especificidade.

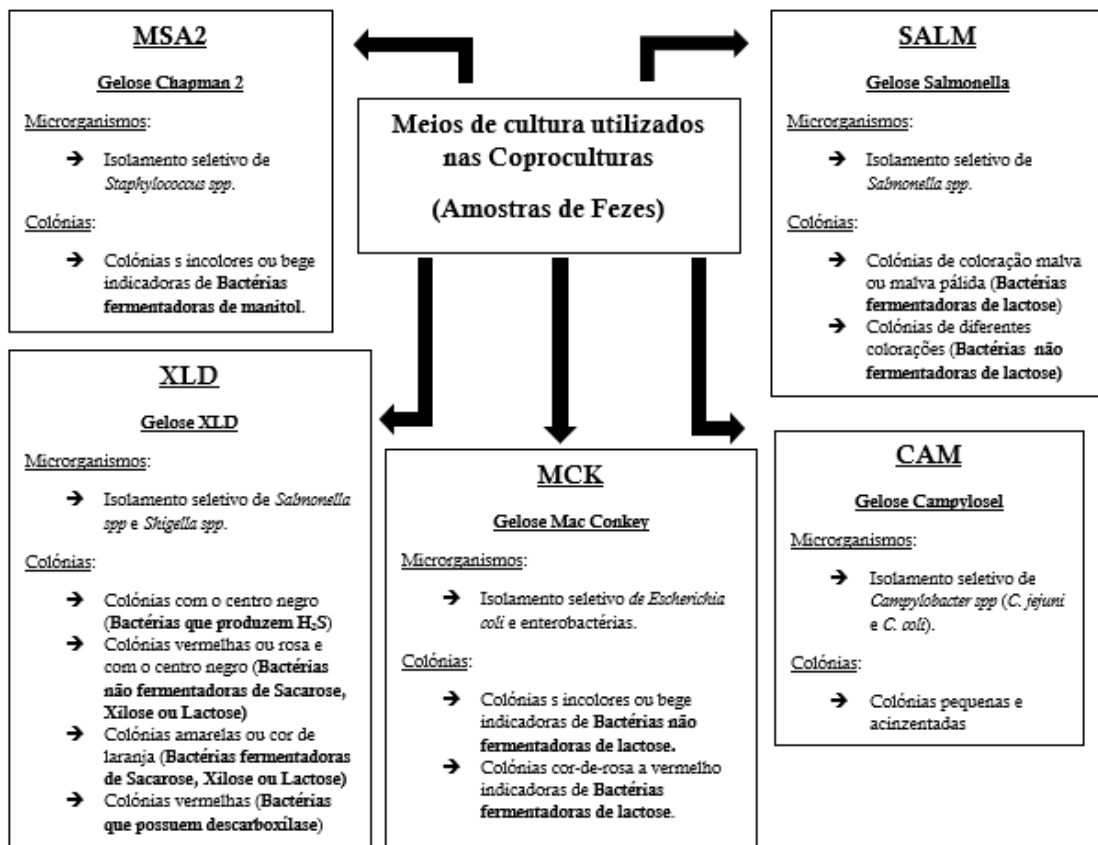


Figura 10- Meios de cultura utilizados nas Coproculturas.[57]

A inoculação das amostras de coproculturas é realizada dentro da camara de fluxo laminar e a incubação envolve também alguns cuidados, devido ao facto de serem meios muito seletivos e específicos para diversos microrganismos e de ser necessário garantir as condições de crescimento ideais. Assim sendo, as amostras no meio CAM são incubadas a uma temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante cerca de 24 horas, em uma atmosfera microaerofílica e são observadas também após 48 horas de incubação. Os restantes meios possuem condições de incubação semelhantes ao meio CLED.

Os principais microrganismos identificados nas coproculturas são a *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *C. jejuni* e *C. coli*.

Para além do uso destes meios, existe, à semelhança das culturas de exsudatos, a necessidade de utilização de meios de enriquecimento para diversos microrganismos. Deste modo, é utilizado o meio de Caldo Selenito F, que favorece o crescimento da bactéria *Salmonella spp*, que é uma das principais responsáveis pelas infeções no trato gastrointestinal provocando diversas complicações e como a bacteremia e a consequente infeção de outros órgãos, bem como a evolução da infeção para a febre tifoide. [74] Após 24 horas de enriquecimento, à semelhança dos exsudatos, é realizada uma passagem dos inóculos presentes no meio de enriquecimento para outras placas de cultura, neste caso, as XLD e SALM, por permitirem o isolamento seletivo da bactéria *Salmonella spp* enriquecida pelo meio de Caldo Selenito F. Após mais 24 horas de incubação às condições específicas para cada placa, são observados o crescimento microbiano e a avaliação do mesmo.

6.6 Antibiogramas

Uma vez observado e avaliado o crescimento microbiano e anotados os pormenores de cada placa, é agora necessário proceder à identificação e determinação da sensibilidade aos antimicrobianos dos microrganismos presentes nas placas de cultura.

O equipamento Vitek é o responsável por essa análise através das características dos microrganismos, que são escolhidas as cartas a utilizar para cada um, tanto as de identificação como as de sensibilidade. Como forma de auxílio a essa escolha, existem diversos testes realizados às colónias de interesse, identificando a carta a utilizar consoante as características das colónias. Os testes utilizados no laboratório são: teste da Oxidase, teste da Catalase e teste da Coagulase. Para além destes, a visualização das lâminas coradas com a coloração de Gram, também permite aferir o tipo de carta de identificação a utilizar, ou seja, GN ou GP.

No teste da Oxidase é detetada a enzima citocromo oxidase nas bactérias Gram negativas, e por meio desta deteção, é possível escolher a carta de sensibilidade, que em caso positivo para este teste é a carta AST-N373 e em caso negativo a carta AST-N355. [75][76]

No teste da Catalase é detetada a presença desta enzima nas bactérias Gram positivas pela capacidade que os microrganismos testados têm de libertar oxigénio (presença de bolhas), quando contactam com uma solução de água oxigenada. [77] Em caso de reação, é considerado o resultado do teste positivo, caso contrário, o resultado do teste é negativo. Com o teste da Catalase negativo, é logo indicador de utilização das cartas de antibiograma AST-P586 e AST-STO3. Um resultado positivo obriga à realização do teste da Coagulase (aglutinação) que identifica o microrganismo em questão que é o *Staphylococcus aureus*. Desta maneira já não é preciso utilizar a carta de identificação, usando-se só a carta de sensibilização AST-P648. Quando o teste da Coagulase der negativo, é preciso utilizar, para além da carta de sensibilização AST-P648, a carta de identificação GP.

Assim sendo, em suma, na figura 11 está representado um esquema que resume a decisão das cartas a utilizar no equipamento Vitek.

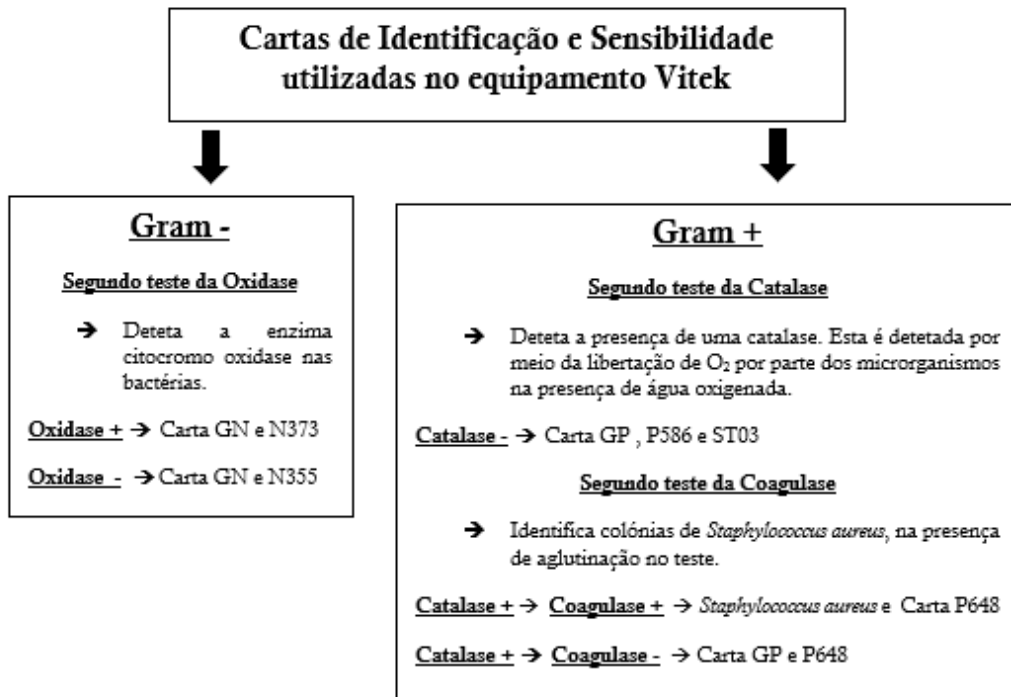


Figura 11- Escolha das cartas utilizadas no equipamento Vitek.^[57]

Uma vez escolhidas as cartas, é necessário dissolver os inóculos em uma solução salina 0,9% com uma turvação específica para cada tipo de microrganismo, através da utilização de um densitómetro. As bactérias gram positivas e negativas, tem uma turvação compreendida entre 0,50 e 0,63 MacFarland e as leveduras possuem uma turvação compreendida entre 1,80 e 2,20 MacFarland. . Uma vez confirmada a turvação de cada inóculo, este é pipetado consoante o seu tipo, para outro tubo, onde será aspirada a solução, de maneira a se efetuar o antibiograma, contendo também solução salina. As Gram positivas são pipetados 280 µL da primeira solução de suspensão e as Gram negativas são pipetadas 145 µL de solução, já as Leveduras não são pipetadas, pois estas só se faz a carta YST e não, duas cartas como as anteriores. Deste modo, é importante salientar que nas cartas de identificação, o tubo de solução contendo o inóculo é o tubo do qual foi medido a turvação e foi retirado uma quantidade específica de inóculo para outro tubo contendo solução salina. Deste modo, este último tubo é o tubo utilizado nas cartas de sensibilização, tal como mencionado anteriormente.

6.7 Galerias

Dentro dos testes de diagnóstico denominados de galerias mais frequentemente efetuados no laboratório, destaca-se a galeria Mycoplasma IST 3 que funciona como um auxílio no diagnóstico e previsão de resposta ao tratamento de infeções causadas pela Bactéria

Mycoplasma hominis e a Bactéria *Ureaplasma* spp. A outra galeria bastante utilizada é a galeria ATB HAEMO EU, que tem como objetivo determinar a sensibilidade aos antibióticos presentes nela em meio semissólido das Bactérias *Haemophilus* spp e *Moraxella catarrhalis*. Todos estes testes são realizados em ambiente estéril (câmara de fluxo laminar).

No teste efetuado na galeria Mycoplasma IST 3, é importante salientar que as amostras utilizadas na aplicação desta são: esfregaços vaginais e cervicais, esfregaços uretrais, amostras de sémen e de urina masculina. Porém, o mais comumente utilizado e pedido em laboratório é a aplicação de amostras de esfregaços vaginais e cervicais. As amostras de todos estes esfregaços são inoculadas num caldo específico da galeria, que é aplicado nas cúpulas de teste. Após a pipetagem do caldo de inoculação, a galeria e o caldo são incubados na estufa a uma temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante cerca de 24 horas e de 48 horas respetivamente, em condições aeróbicas. Através dos resultados obtidos desta galeria, é possível detetar, identificar e observar a sensibilidade das bactérias de interesse para com os antibióticos presentes no teste e as suas concentrações.

Após uma identificação das Bactérias *Haemophilus* spp e *Moraxella catarrhalis*, é importante realizar a galeria ATB HAEMO EU. As amostras utilizadas nesta galeria são suspensões de colónias isoladas destas Bactérias, com uma opacidade de 0,5 McFarland para *Haemophilus* ou opacidade de 2 McFarland para *Moraxella catarrhalis*. Estas suspensões são inoculadas na galeria, e por sua vez, esta é incubada na estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante cerca de 18 a 24 horas, em condições aeróbicas. O resultado permite aferir para que antibióticos e que concentrações destes, é que estas bactérias são sensíveis, resistentes, ou apresentam um estado intermédio de sensibilidade.

6.8 Outros testes de identificação

Dentro de outros testes de identificação, é importante salientar a necessidade de identificar e visualizar a sensibilidade de diversos microrganismos a diversos antibióticos utilizados em contexto de terapia clínica. Assim sendo, em seguida estão descritos os testes aplicados no laboratório com diversos antibióticos e para microrganismos específicos.

6.8.1 Teste de identificação de *Salmonella* A-60 O-aglutinável

A infeção por *Salmonella* é bastante estudada e em casos de infeção, após isolamento desta bactéria, é possível por meio deste teste identificar estirpes desta bactéria, tais como estirpes O-aglutináveis pertencentes aos grupos A a 60. Este teste é constituído por um anti-soro aglutinante para as bactérias que possuem os antigénios correspondentes a este tipo de estirpes. Assim sendo, este teste realiza-se por meio da aplicação de uma gota deste soro e de uma gota de soro fisiológico lado a lado numa lâmina de vidro. Posto isto, são adicionadas com ansas diferentes, uma colónia da bactéria a testar a cada gota de soro, homogeneizando em seguida.

Por fim é observada a aglutinação nos soros. Se existir aglutinação com o anti-soro teste e não com o soro fisiológico, a estirpe da bactéria é O-aglutinável e, caso exista aglutinação da bactéria com o soro fisiológico, a estirpe da bactéria é auto-aglutinante e, deste modo, não se pode interpretar o resultado da aglutinação com o anti-soro.^[78]

6.8.2 Teste com Optoquina

O teste com Optoquina é um teste que permite diferenciar as espécies de *Streptococcus pneumoniae* de outros *Streptococcus*, principalmente os α -hemolíticos. A diferenciação entre estes grupos de *Streptococcus* é assegurada, devido ao facto de os *S. pneumoniae* serem sensíveis à Optoquina e os outros anteriormente mencionados não.^[79]

A realização deste teste envolve a inoculação numa placa de COS, de várias colónias isoladas, juntamente com a adição de um disco de Optoquina após a inoculação. A placa inoculada é incubada durante cerca de 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, em condições de atmosfera de CO_2 . Após o período de incubação, é visualizado e registado o resultado do teste. A presença do microrganismo *Streptococcus pneumoniae* é confirmada no caso de se verificar uma inibição em volta do disco de Optoquina.

6.8.3 Teste com Bacitracina

O teste com a Bacitracina tem como objetivo avaliar a sensibilidade dos *Streptococcus* do grupo A, a este antibiótico. Assim, a presença de colónias de *Streptococcus* identificadas, é possível diferenciar entre *Streptococcus* do grupo A ou *Streptococcus* β hemolíticos de outros grupos. Esta diferenciação ocorre devido ao facto de os *Streptococcus*. A possuírem uma elevada sensibilidade ao antibiótico Bacitracina e os *Streptococcus* de outros grupos não serem sensíveis a este antibiótico.^[80]

O procedimento deste teste envolve a inoculação de várias colónias isoladas, em meio COS e a aplicação de um dos discos que contém este antibiótico. A placas inoculada irá incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Passado o período de incubação, a placa é retirada da estufa e é registado o resultado do teste. Assim, se em volta do disco existir uma inibição de crescimento do microrganismo, indica a presença do *Streptococcus* do grupo A.

6.8.4 Teste de diferenciação de *Haemophilus spp*

O teste de diferenciação de *Haemophilus spp*, tem como finalidade, identificar a espécie de *Haemophilus*. Este teste de diferenciação, pressupõe a aplicação de discos com fatores de crescimento característicos para cada tipo de *Haemophilus*, numa placa de meio Mueller Hinton E (MHE), contendo uma suspensão de opacidade de 0,5 MacFarland, das colónias de *Haemophilus spp*. Os discos utilizados são três discos e tem de ser aplicados bastante afastados uns dos outros dentro da placa. Um disco possui o fator X de crescimento, outro o fator V de

crescimento e um terceiro com ambos os fatores, sendo assim designado de XV. O fator V de crescimento, corresponde a di-nucleótido de nicotinamida e adenina (NAD) e o fator X corresponde ao grupo heme.^[81] Por meio da aplicação dos discos é possível observar o crescimento do microrganismo na presença dos vários fatores de crescimento. A placa do teste é incubada a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante cerca de 18 a 24 horas. Após a incubação, é possível identificar consoante o crescimento e torno dos discos, diversas espécies de *Haemophilus*. A tabela 10, resume a identificação de cada espécie em função do seu crescimento.^[82]

Tabela 10- Espécies de *Haemophilus* e a sua resposta aos fatores de crescimento.^[57]

Espécies de <i>Haemophilus</i> identificadas	Presença ou ausência de crescimento em redor do disco com o fator de crescimento assinalado		
	Fator V	Fator X	Fator XV
<i>Haemophilus para-haemolyticus</i>	+	-	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	+	-	+
<i>Haemophilus ducreyi</i>	-	+	+
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	-	-	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	-	+
<i>Haemophilus aegyptius</i>	-	-	+

6.8.5 Teste de deteção da atividade das Carbapenemases

As Carbapenemases são enzimas provenientes de mutações desenvolvidas pelas enterobactérias, resultantes dos mecanismos de resistência destas aos antibióticos. A sua função é destruir os antibióticos aplicados a estas bactérias. Devido a este mecanismo de resistência, é bastante importante testar a presença destas enzimas, para detetar estas bactéria resistentes na saúde publica. ^[82] Assim sendo, no laboratório, a atividade destas enzimas é testada nas Bactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* conhecidas e alteradas geneticamente devido às mutações anteriormente referenciadas.

O teste de deteção da atividade desta enzima, consiste na aplicação de uma suspensão com opacidade de 0,5 MacFarland do microrganismo a testar, numa placa de Mueller Hinton E (MHE). Posteriormente, são aplicados os discos, contendo o antibiótico faropeneme. Após aplicação dos discos, a placa é incubada durante cerca de 18 horas a uma temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Os resultados são interpretados, tendo em conta o crescimento em volta dos discos ou ausência dele. Assim, se existir uma inibição de crescimento em redor do disco significa o microrganismo testado não possui estas enzimas. Caso exista crescimento em redor dos discos, consoante a zona é possível identificar a atividade destas enzimas. Deste modo, o crescimento na zona prevista de inibição indica atividade da Carbapenemase e.g. M β L (metallo- β -lactamase). Por outro lado, se existir uma zona de inibição definida com o crescimento de várias

colónias dentro dessa zona, é indicativo da atividade da oxicillinase (OXA-48).^[83] O meio utilizado para a inoculação destes microrganismos é o MHE, por ser destinado ao estudo de antibióticos.

6.8.6 Hemoculturas

As hemoculturas, são análises de bastante importância, permitindo identificar infecções causadas por microrganismos na corrente sanguínea.

As hemoculturas são realizadas, compreendendo diversas etapas. Primeiramente, a colheita de sangue é efetuada segundo as normas e são colocados os adaptadores nos frascos de colheita. Os frascos de análise são incubados durante 7 dias, a uma temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. À exceção do primeiro dia, onde os frascos são agitados 4 vezes ao longo do dia, nos restantes, estes são agitados apenas duas vezes por dia. Ao fim dos 7 dias, se não existir desenvolvimento, o resultado é dado como negativo, o que representa uma ausência de infecção sanguínea. Caso exista um desenvolvimento na hemocultura, esta ao fim dos 7 dias é passada para uma placa de COS e incubada durante 18 a 48 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura e em atmosfera de CO_2 . Caso o resultado da placa seja negativo, dá-se o resultado negativo e caso seja positivo o desenvolvimento da placa, é feita uma valorização e uma testagem dos microrganismos consoante as características destes, de modo a identificá-los. Os microrganismos possíveis de encontrar são: Leveduras, Cocos Gram negativos, Bacilos Gram negativos e Cocos Gram positivos.^[84] Consoante os tipos de colónias, são efetuados testes de identificação para caracterizar cada microrganismo e conseqüentemente se fazer os antibiogramas adequados, tanto seja efetuados por intermédio de cartas de antibiograma e identificação, no equipamento Vitek, tanto efetuados por galerias de ATB HAEMO.

Capítulo 7. Conclusão

O estágio realizado no laboratório SYNLABHEALTH ALENTEJO permitiu aprofundar os conhecimentos previamente adquiridos, bem como adquirir novas competências sobretudo na prática, aproximando-me do ambiente profissional na área da saúde, uma vez que tive a possibilidade de acompanhar a rotina laboratorial nos diferentes setores do laboratório.

A realização do estágio possibilitou a aquisição de novas competências, destacando-se o trabalho de equipa, organização, execução de técnicas manuais, manuseamento de diferentes equipamentos e a capacidade de análise crítica dos resultados obtidos.

Parte 2: Dislipidemia nas várias regiões do Alentejo

Capítulo 1. Introdução

Segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE), as doenças associadas ao sistema circulatório são a principal causa de morte em Portugal, tendo sido registados 32 452 óbitos no ano de 2021. Embora em 2020 e 2021 tenha aumentado o número de mortes devido à COVID-19, as associadas a doenças cardiovasculares foram bastante mais elevadas, tendo sido registados em 2021, 9 613 óbitos por acidente vascular cerebral (AVC), 6 683 por doença isquémica cardíaca, bem como 3 977 óbitos por enfarte agudo do miocárdio.^[85]

A Dislipidemia é um termo usado para designar todas as alterações quantitativas ou qualitativas dos lípidos no sangue. A dislipidemia é um dos mais importantes fatores de risco das doenças cardiovasculares, uma vez que os lípidos acumulados nas paredes das artérias podem resultar na obstrução parcial ou total do fluxo sanguíneo para o coração e o cérebro. Para além das doenças mencionadas anteriormente, as dislipidemias são consideradas uma das principais condições para o desenvolvimento da doença arterial, designada de aterosclerose.^[86]

1.1 Metabolismo Lipídico

Tal como mencionado no capítulo do perfil lipídico, descrito na parte do relatório de estágio, os lípidos constituem a principal fonte de energia, e devido à sua estrutura molecular, são armazenados em caso de excesso, no organismo até ao seu consumo aquando de défice energético. Assim sendo, para além de exercerem um papel fundamental no metabolismo energético do organismo, apresentam propriedades estruturais, sendo constituintes das membranas biológicas e de algumas hormonas.^[87]

A determinação do tipo e quantidade de lípidos existentes na corrente sanguínea, permitem efetuar o diagnóstico da dislipidemia. Estes, após serem absorvidos, são transportados pelas lipoproteínas plasmáticas, que permitem a sua solubilização no sangue, uma vez que, estes possuem natureza hidrofóbica. As lipoproteínas apresentam na sua constituição, colesterol livre, fosfolípidos e proteínas que representam a fração hidrofílica destas partículas. As lipoproteínas possuem na sua camada mais interior, triglicéridos e colesterol esterificado, que representa a sua fração hidrofóbica. Estas são as responsáveis por mediar o transporte do colesterol no plasma. As diferentes classes de lipoproteínas (figura 12) distinguem-se consoante a variação da concentração de cada constituinte e diferente densidade: os quilomícrons, as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), as lipoproteínas de densidade intermédia (IDL), as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e as lipoproteínas de alta densidade (HDL).^[87]

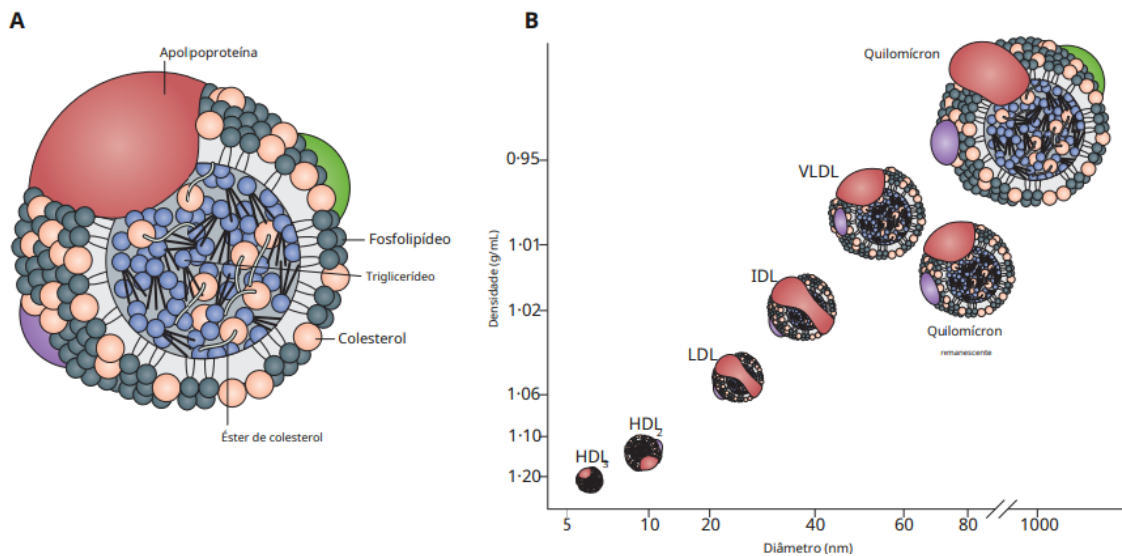


Figura 12- Componentes estruturais das lipoproteínas (A) e sua relação com diâmetro e densidade (B) Adaptado de [87].

Figura 13- Conjunto de interações dos monócitos, macrófagos no processo de formação da placa aterosclerótica. (Adaptado de [91].) Figura 14- Componentes estruturais das lipoproteínas (A) e sua relação com diâmetro e densidade (B) Adaptado de [87].

Desta forma, o diagnóstico da dislipidemia é dado consoante a análise dos parâmetros: triglicéridos, colesterol total, LDL e HDL. Daí ser bastante importante perceber o papel de cada um destes parâmetros no nosso organismo (NORMA nº 019/2011 da Direção Geral de Saúde, atualizada a 11/05/2017).^[88]

Os triglicéridos têm a função de armazenar a energia de uma forma primária nos adipócitos e nos músculos. Uma concentração moderadamente elevada destes lípidos é considerado um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, à semelhança dos níveis elevados de LDL e colesterol total. Existem estudos que indicam que, por si só, concentrações muito elevadas de triglicéridos não surgem associadas diretamente ao risco de desenvolvimento de aterosclerose. Porém, como níveis aumentados destes, surgem associados a uma diminuição da concentração das lipoproteínas HDL, poderá associar indiretamente estas concentrações ao risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares.^{[89][90]}

Existem outros estudos que associam as elevadas concentrações de triglicéridos, ao risco de desenvolvimento de isquemia coronária e cerebral, devido à acumulação destes nos vasos sanguíneos.^[89]

As LDL são lipoproteínas ricas em colesterol e responsáveis pelo seu transporte para os diversos tecidos, onde entra nas células através do reconhecimento por parte de recetores específicos. As dislipidemias são caracterizadas também pelo aumento da concentração de LDL, e a um eventual risco aumentado de doenças cardiovasculares, tais como o enfarte do miocárdio. Como forma de controlo dos níveis de LDL sanguíneos, os macrófagos possuem recetores que ligam às

LDL na corrente sanguínea e eliminam o excesso destas lipoproteínas, permitindo a diminuição da sua concentração.^[87]

Uma dieta rica em gorduras saturadas, favorece o aumento das LDL, mas existem fatores genéticos que também contribuem para o seu aumento no sangue, nomeadamente mutações nos recetores de LDL, que vão impedir a ligação das lipoproteínas, levando a que estas se acumulem na corrente sanguínea originando hipercolesterolemia. Esta condição assume-se como um fator de risco para o desenvolvimento de aterosclerose, enfarte do miocárdio e AVC.^[87]

A formação das placas ateroscleróticas pode ser iniciada pelas LDL, através da sua acumulação na íntima das artérias, uma vez que conseguem penetrar na parede arterial através do endotélio, ficando retidas na matriz extracelular e provocando a disfunção das suas funções, nomeadamente o controlo na difusão de moléculas entre o plasma e a íntima, resultando numa desregulação ao nível de diversos processos, tais como a inflamação.^[91]

Após a retenção das LDL na matriz extracelular estas lipoproteínas sofrem alterações estruturais resultantes de reações de oxidação e acetilação, formando LDL com características pró-aterogénicas. Estas irão permitir o desenvolvimento de diversos processos aterogénicos, tais como, a formação de células esponjosas por interação com os macrófagos. As LDL pró-aterogénicas irão promover diversos processos que estimularão um processo inflamatório no endotélio, com migração de células do músculo liso e dendríticas para o espaço subendotelial, permitindo também a passagem e adesão dos monócitos para este espaço, e a estimulação da expressão de fatores quimiotáticos.^[91]

As LDL com características pró-aterogénicas, consoante as características adquiridas da reação que lhes deu origem, possuem diferentes modos de desencadear um processo inflamatório, atuando de diversas formas. Assim sendo, as LDL provenientes de uma reação de oxidação, presentes na matriz extracelular da íntima das artérias, induzem a secreção de fatores quimiotáticos pelo endotélio, que promovem a migração e adesão de leucócitos para a parede arterial, contribuindo para o desenvolvimento do processo inflamatório.^[91]

Os monócitos assumem um papel preponderante no processo de formação de células espumosas, o principal constituinte da placa aterosclerótica. Os monócitos são diferenciados em macrófagos, que em conjunto com as LDL modificadas, e por ação dos fatores de crescimento libertados pelas células do músculo liso dos vasos, irão formar as células espumosas, permitindo a sua proliferação e migração para a íntima da artéria. Todos estes processos permitem o desenvolvimento e a manutenção da placa aterosclerótica (Figura 13) .^[91]

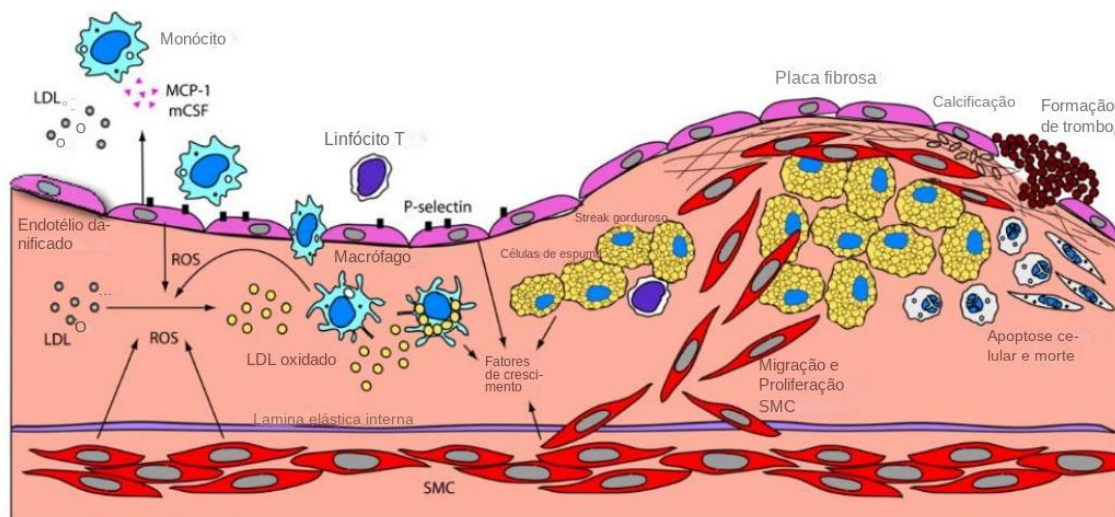


Figura 15- Conjunto de interações dos monócitos, macrófagos no processo de formação da placa aterosclerótica. (Adaptado de [91].)

Figura 16- Metabolismo das HDL.[92] Figura 17- Conjunto de interações dos monócitos, macrófagos no processo de formação da placa aterosclerótica. (Adaptado de [91].)

Tal como mencionado anteriormente, as HDL, por sua vez são outras lipoproteínas bastante importantes no metabolismo lipídico, uma vez que têm como papel principal o transporte de colesterol existente nos tecidos periféricos e em outras lipoproteínas, bem como a diminuição dos níveis de triglicéridos. Após captarem o colesterol, as HDL irão transportá-lo para diversos locais do organismo, permitindo distribuí-lo de uma forma eficiente. Estas lipoproteínas são sintetizadas no fígado e no intestino, por meio de um metabolismo característico. Nestes dois órgãos, existe secreção da apolipoproteína AI (apoA-I) pobre em lípidos que irá entrar em contacto com o ABCA1 (ATP Binding Cassette A1) que é um transportador de colesterol proveniente de hepatócitos e enterócitos, permitindo enriquecer a apoA-1 com lípidos, formando assim as HDL nascentes. O mecanismo de hidrólise de lipoproteínas ricas em triglicéridos envolve a libertação de lípidos e apolipoproteínas, que posteriormente são captados pelas HDL maduras nascentes, permitindo a diminuição da concentração de triglicéridos na corrente sanguínea (Figura 14). [90]

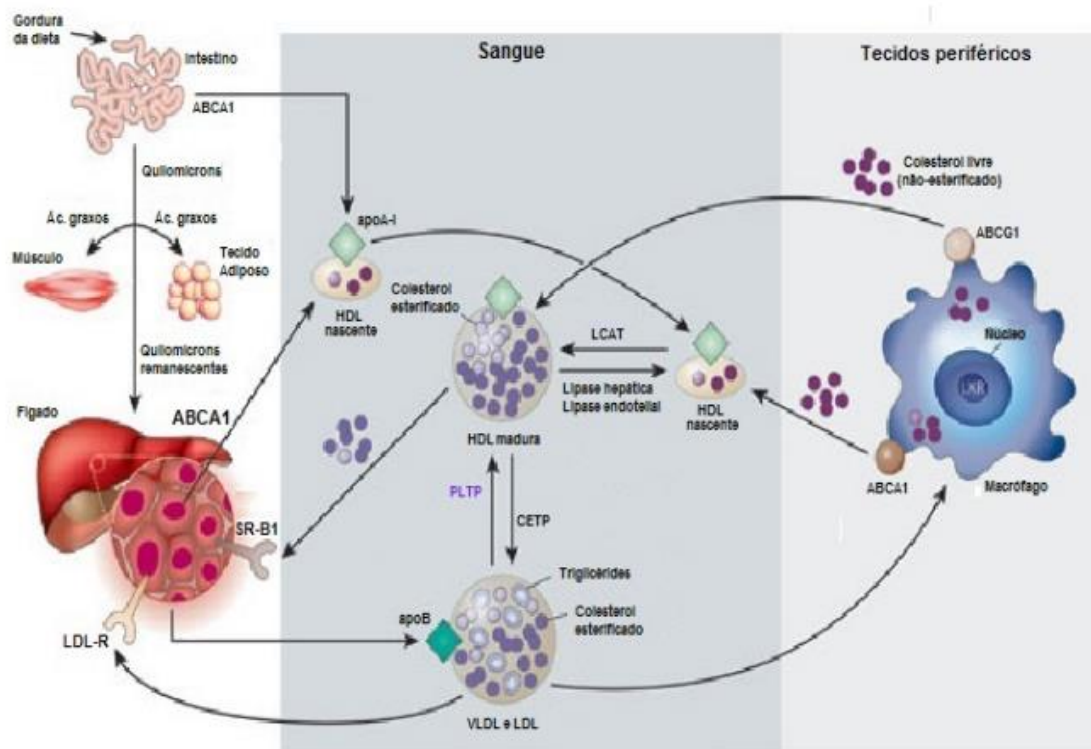


Figura 18- Metabolismo das HDL.^[92]

Figura 19- Metabolismo das HDL.^[92]

O núcleo das HDL maduras é formado por ésteres de colesterol provenientes da atividade enzimática da enzima lecitina colesterol acil transferase (LCAT) sobre as moléculas de colesterol captadas pelas HDL nascentes. Posteriormente, podem ser eliminadas por duas vias metabólicas diferentes. Uma delas, dá-se no fígado ou nos tecidos esteroideogénicos, em que intervém o recetor B1 específico para as HDL, que permite remover os ésteres de colesterol presentes nestas, e a conseqüente libertação das apoA-I. A outra via, dá-se por intermédio da proteína plasmática de transferência de éster de colesterol (CETP) que transfere o colesterol do HDL para as lipoproteínas contendo apoB, promovendo a eliminação de ésteres de colesterol existentes nas HDL, e também um enriquecimento destas com triglicéridos. Por sua vez, permite que estas lipoproteínas fiquem expostas a uma maior atividade lipolítica efetuada pelas enzimas lípase endotelial e hepática, transformando-se em HDL com menor tamanho (Figura 14).^[90]

A diminuição das HDL é um dos marcadores da dislipidemia, uma vez que quanto menor a concentração de HDL, mais deficiente será a distribuição do colesterol pelo organismo e, conseqüentemente, maior a concentração de colesterol e triglicéridos na corrente sanguínea, indicando um maior risco de ocorrência de doenças cardiovasculares.^{[89][90]}

1.2 Dislipidemia, classificação, causas e diagnóstico

A dislipidemia caracteriza-se pelo aumento da concentração de Triglicéridos, Colesterol Total e LDL, bem como a diminuição da concentração das HDL o que pode contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.^[89]

As dislipidemias podem ser caracterizadas consoante os parâmetros lipídicos alterados, podendo ser classificadas como (tabela 11): hipercolesterolemia, quando se verifica uma elevada concentração de LDL na corrente sanguínea, e colesterol total elevado, geralmente superior a 200mg/dL; hiperlipidemia combinada, que pode ser hereditária, é caracterizada por um aumento de concentração de LDL e Triglicéridos, e também por um aumento na concentração de colesterol; a hipoalfalipoproteinemia, à semelhança da anterior, pode também ser hereditária, porém caracteriza-se pela diminuição da concentração de HDL abaixo de 35 mg/dL. Neste caso, uma vez que existem menos HDL, a eliminação de triglicéridos e LDL é realizada de forma menos eficiente, resultando num aumento da concentração destes; hipertrigliceridemia é um tipo de dislipidemia hereditária ou adquirida, caracterizada por uma elevada concentração de triglicéridos. Esta, à semelhança da hipoalfalipoproteinemia, também poderá apresentar um aumento da concentração de LDL e uma diminuição de HDL.^{[93][94]}

Tabela 11- Tipos de dislipidemias.^{[88][95]}

Tipo de dislipidemia	[LDL] mg/dL	[HDL] mg/dL	[Colesterol total] mg/dL	[Triglicéridos] mg/dL
Hipercolesterolemia	> 100	-----	> 200	-----
Hipoalfalipoproteinemia	> 100	≤ 40 no sexo masculino	-----	> 150
		≤ 45 no sexo feminino		
Hiperlipidemia combinada	> 100	-----	> 200	> 150
Hipertrigliceridemia	> 100	≤ 40 no sexo masculino	> 200	> 150
		≤ 45 no sexo feminino		

As principais etiologias para o desenvolvimento da dislipidemia são o estilo de vida e/ou a fatores genéticos, estes últimos associados às dislipidemias hereditárias.

O estilo de vida surge associado a diversos fatores que condicionam a desregulação lipídica, tais como: aumento de peso, devido ao consumo excessivo de gorduras saturadas e à falta de prática de exercício físico; tabagismo ; consumo excessivo de álcool que pode originar doenças hepáticas

como cirrose hepática. A Diabetes *mellitus* também se assume como um fator desregulador dos lípidos.^{[88][89]}

As dislipidemias hereditárias surgem etiológicamente associadas a causas genéticas que afetam o metabolismo lipídico, alterando não só os níveis de triglicéridos, LDL, HDL e colesterol individualmente, mas também de forma conjunta. As causas genéticas podem estar associadas à diminuição da expressão de genes codificadores para proteínas, como por exemplo a enzima lipase que possui a função de degradar os triglicéridos presentes no plasma e é regulada pelas apolipoproteínas C3 e A5. Deste modo, irá existir uma menor regulação da lipase e uma menor degradação de triglicéridos, resultando num aumento da concentração destes no plasma.^[89] Outro exemplo, é a presença de defeitos genéticos nos recetores de LDL, o que a impede a ligação de estas lipoproteínas, levando ao aumento de LDL livre na corrente sanguínea, muito característica nas hiperlipidemias hereditárias.^[89]

Para o diagnóstico e terapêutica das dislipidemias é importante referir que os valores das concentrações de referência a considerar para cada parâmetro lipídico, variam tendo em conta o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Deste modo, os valores a considerar variam consoante a hereditariedade de cada utente e a sua condição, assim sendo, os valores de risco são avaliados seguindo a Norma nº 019/2011 da Direção Geral de Saúde, atualizada a 11/05/2017.

Capítulo 2.Objetivos

O presente estudo teve como objetivos caracterizar o perfil lipídico dos utentes dos laboratórios Synlab nas diferentes regiões do Alentejo (Baixo, Alto e Alentejo Central) e avaliar qual a região do Alentejo, que possui maior número de casos de dislipidemias. Adicionalmente, o estudo teve também o objetivo de avaliar qual a região que possui maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, mediante os resultados obtidos da caracterização lipídica de cada região.

A população do Alentejo constitui uma população importante para este estudo, uma vez que, o consumo de alimentos ricos em gordura é bastante acentuado em todas as gerações, nomeadamente produtos da região, como enchidos, queijos e carne de porco preto, com elevado teor em gordura.

Capítulo 3. Métodos

Para o estudo, foram recolhidos os dados de utentes das três regiões do Alentejo, o Baixo, Alto e Alentejo Central no período de 3 de Agosto de 2022 a 3 de Agosto de 2023. No total, foram analisados dados de 70 160 utentes, sendo 30 785 do sexo masculino e 39 375 do sexo feminino das três regiões do Alentejo (tabela 12 dos anexos). Os dados recolhidos e discutidos nos resultados e discussão deste estudo foram os seguintes parâmetros: Triglicéridos, Colesterol Total, LDL e HDL. Já os dados referentes aos parâmetros Hba1c e Glucose serviram de apoio para a classificação dos diversos grupos de utentes, tais como utentes diabéticos e não diabéticos.

Os valores de referência dos parâmetros analisados foram os seguintes:

- Concentração de colesterol total superior a 190 mg/dL;
- Concentração de triglicéridos superior a 200 mg/dL;
- Concentração de LDL superior a 115 mg/dL;
- Concentração de HDL no sexo masculino inferior a 40 mg/dL e no sexo feminino inferior a 45 mg/dL.

Com base na Norma nº 019/2011 da Direção Geral de Saúde, atualizada a 11/05/2017, estes valores anteriormente referenciados, são valores que poderão indicar o desenvolvimento de doenças cardiovasculares sendo associados também a outras condições patológicas dos utentes.

Os utentes incluídos neste estudo obedecem aos seguintes critérios de inclusão:

- Ter idade igual ou superior a 18 anos;
- Realizar as análises durante o período de 3 de Agosto de 2022 a 3 de Agosto de 2023;
- Efetuar as análises num dos postos da SYNLAB na região do Alentejo.

Numa primeira fase, os dados foram recolhidos nos softwares do laboratório e transpostos para Excel, tendo sido depois separados consoante a origem dos postos de colheita, das três regiões do Alentejo. Depois, dentro de cada região os utentes foram classificados em função do sexo, e da idade, sendo divididos em seis faixas etárias: dos 18 aos 30, 31 aos 50, 51 aos 60, 61 aos 70, 71 aos 80 e mais de 81 anos.

Após esta primeira fase, os utentes dentro de cada região do Alentejo, foram divididos em utentes não diabéticos com glucose superior ou igual a 100 mg/dL, utentes não diabéticos com glucose menor que 100 mg/dL e utentes diabéticos.

A caracterização dos utentes diabéticos foi realizada com recurso aos valores dos parâmetros Hba1c, Glucose e Albumina (micro-albuminúria). Deste modo, os diabéticos foram seleccionados, primeiramente, por possuírem na sua prescrição, a análise ao Hba1c, em conjunto com a presença de glucose em jejum igual ou superior a 126 mg/dL. Para além destes dois parâmetros, os utentes diabéticos ainda foram seleccionados, por apresentarem valores de Albumina (micro-albuminúria) na urina.^[26]

A principal diferença entre os utentes não diabéticos com glucose superior a 100 mg/dL e os utentes diabéticos, é que os primeiros, apesar de possuírem valores de glucose iguais ou superiores a 100, não possuem valores para os parâmetros Hba1c e Albumina (micro-albuminúria), pelo que, não podem ser classificados como diabéticos.

Assim sendo, dentro de cada faixa etária, os utentes foram divididos em seis grupos:

- 1) diabéticos com colesterol total superior a 200 mg/dL;
- 2) diabéticos com colesterol total inferior a 200 mg/dL;
- 3) não diabéticos com glucose menor que 100 mg/dL e com colesterol total igual ou superior a 200 mg/dL;
- 4) não diabéticos com glucose menor que 100 mg/dL e com colesterol total inferior a 200 mg/dL;
- 5) não diabéticos com glucose superior a 100 mg/dL e com colesterol total inferior a 200 mg/L.
- 6) não diabéticos com glucose superior a 100 mg/dL e com colesterol total inferior a 200 mg/L.

Uma vez separados os dados nos seis grupos, foram determinadas as médias e medianas dos parâmetros lipídicos: Triglicéridos, Colesterol total, LDL e HDL para cada grupo e posteriormente, esses valores foram organizados nas tabelas, que se encontram representadas nos anexos como tabelas: 13; 14; 15; 16; 17; 18 e 19.

Os parâmetros lipídicos foram analisados em função do sexo e faixa etária em cada região e entre as diferentes regiões do Alentejo. Adicionalmente, foi possível avaliar se existe um padrão de valores comparando as faixas etárias de todas as regiões, ou seja, analisar a variação dos valores dos parâmetros lipídicos, consoante o aumento da idade dos utentes. Para além disso, foram também avaliadas quais as faixas etárias que apresentam maior percentagem de utentes com colesterol total superior a 200 mg/dL dentro de cada grupo, cada sexo e cada região do Alentejo (tabelas: 20; 21 e 22), presentes nos anexos.

Capítulo 4. Resultados e Discussão

As tabelas 13 e 14, representam as médias e as medianas dos parâmetros lipídicos determinados nos Homens utentes não diabéticos do sexo masculino das três regiões do Alentejo com colesterol total superior e inferior a 200 mg/dL respetivamente. As tabelas 15 e 16, representam por sua vez, as médias e as medianas dos parâmetros lipídicos determinados nos utentes diabéticos do sexo masculino das três regiões do Alentejo com colesterol total superior e inferior a 200 mg/dL respetivamente.

As tabelas 17 e 18 representam as médias e as medianas dos parâmetros lipídicos determinados nas utentes não diabéticas do sexo feminino das três regiões do Alentejo com colesterol total superior e inferior a 200 mg/dL respetivamente. E as tabelas 19 e 20, representam as médias e as medianas dos parâmetros lipídicos determinados nas utentes diabéticas do sexo feminino das três regiões do Alentejo com colesterol total superior e inferior a 200 mg/dL respetivamente.

As tabelas 21, 22 e 23, representam as percentagens de utentes com colesterol total superior a 200 mg/dL nos grupos de utentes diabéticos, não diabéticos e não diabéticos com glucose superior a 100 mg/dL nas diversas faixas etárias e em ambos os sexos, nas três regiões do Alentejo, Baixo, Central e Alto respetivamente.

Por sua vez, para uma melhor análise, as tabelas 13 a 20 estão representadas pelos gráficos 1 a 48. E as tabelas 21, 22 e 23, estão representadas pelos gráficos 49 a 54. Os gráficos 1 a 48 foram elaborados, tendo como base, os valores das medianas de cada parâmetro representado nas tabelas 13 a 20.

4.1 Triglicéridos

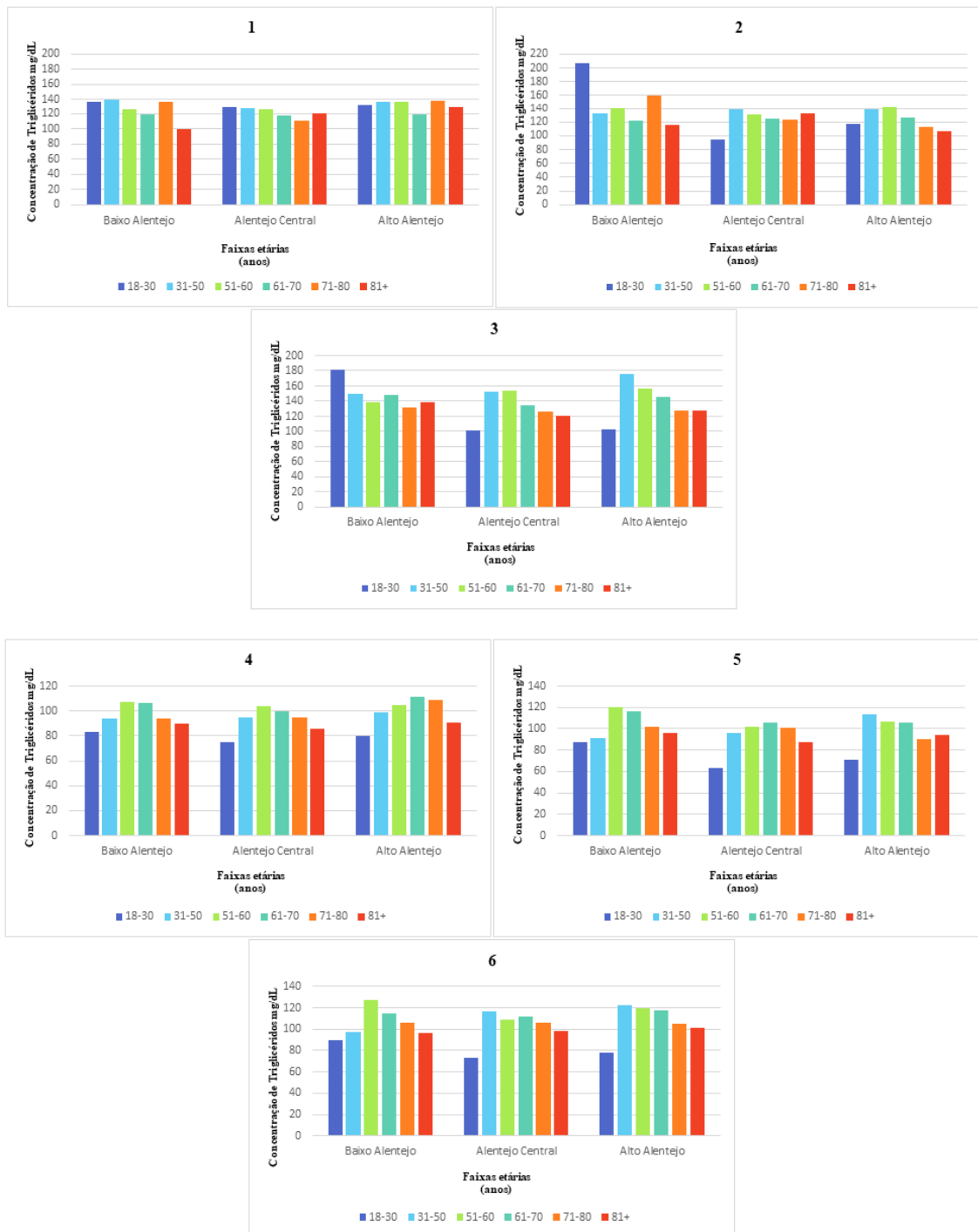


Figura 20- Concentração de triglicéridos nos utentes do sexo masculino com:

Figura 21- Concentração de triglicéridos nos utentes do sexo feminino com: Figura 22- Concentração de triglicéridos nos utentes do sexo masculino com:

- 1) glicose < 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 2) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 3) diabéticos com colesterol \geq 200 mg/dL; 4) glicose < 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 5) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 6) diabéticos com colesterol < 200 mg/dL

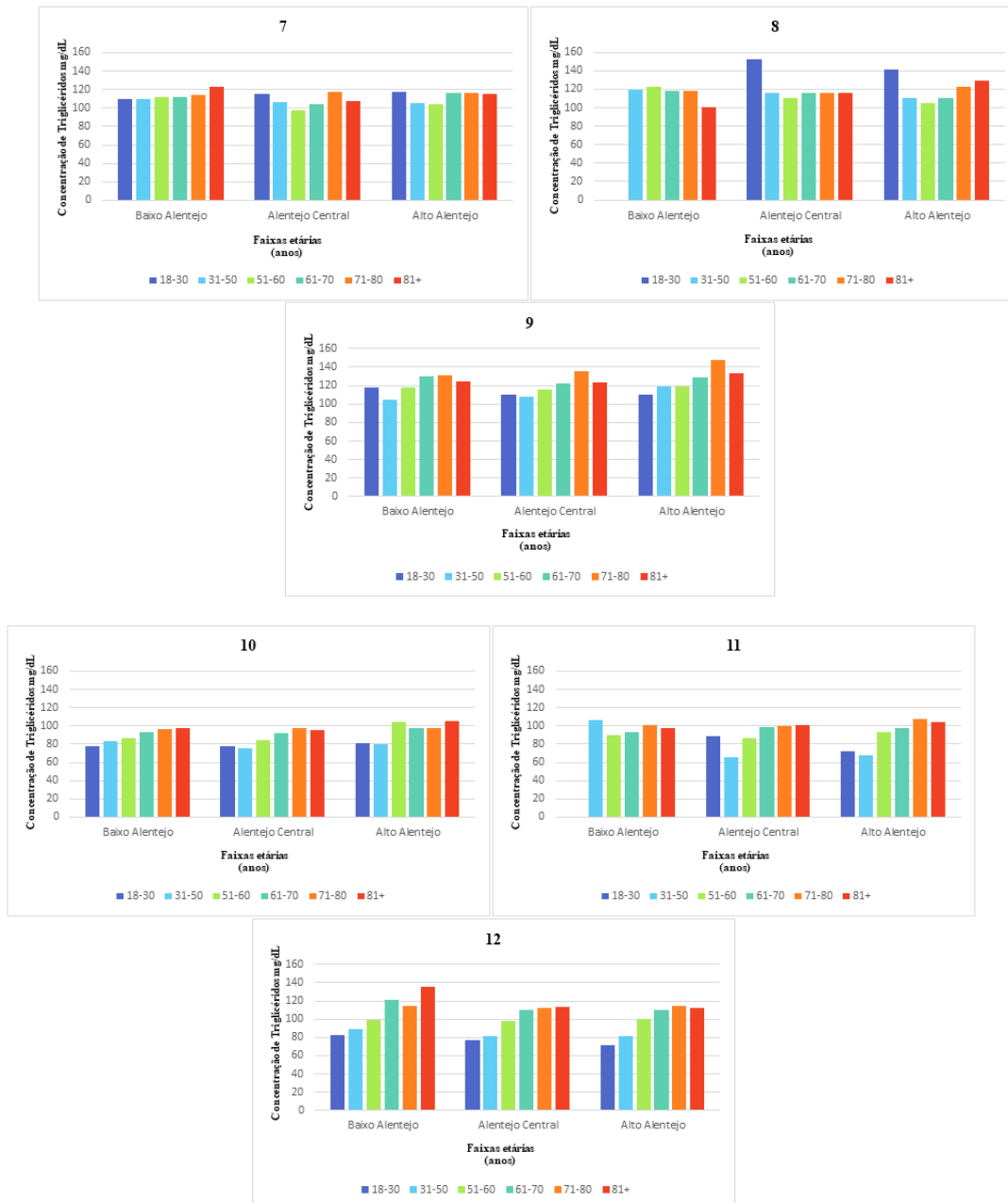


Figura 23- Concentração de triglicéridos nos utentes do sexo feminino com:

7)

Figura 24- Concentração de LDL nos utentes do sexo masculino com: Figura 25- Concentração de triglicéridos nos utentes do sexo feminino com:

- glicose < 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 8) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 9) diabéticos com colesterol \geq 200 mg/dL; 10) glicose < 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 11) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 12) diabéticos com colesterol < 200 mg/dL.

- Utentes não diabéticos

Em termos da análise da concentração de triglicéridos nos utentes não diabéticos em estudo, com base nos gráficos 1, 2, 4, 5,7,8,10 e 11, (figuras 15 e 16) é possível denotar que em ambos os sexos, existe geralmente um aumento da concentração de triglicéridos nos utentes que apresentam glucose superior a 100 mg/dL, quando comparado com os utentes com glucose inferior a 100 mg/dL dentro das mesmas faixas etárias.

Com base nos dados é possível referir também, que tanto nos utentes com colesterol superior a 200 mg/dL ou inferior a 200 mg/dL, os utentes do sexo masculino apresentam geralmente valores médios e medianos de concentração de triglicéridos superiores aos do sexo feminino, dentro das mesmas faixas etárias (gráficos 1, 2, 4, 5,7,8,10 e 11), (figuras 15 e 16).

Para além destas observações, é possível verificar também, recorrendo aos gráficos 1, 2, 4 e 5, (figura 15) que no sexo masculino os valores medianos da concentração de triglicéridos no sangue dos utentes da região do Baixo Alentejo são geralmente superiores aos das restantes regiões do Alentejo. Deste modo, para o sexo masculino, a região do Alentejo com maior concentração de triglicéridos é a região do Baixo Alentejo, já no sexo feminino, esse aumento não é tão notório (gráficos 7,8,10 e 11), (figura 16).

Em qualquer um dos sexos, é possível visualizar que existe um aumento da concentração de triglicéridos consoante o aumento da concentração de colesterol total, uma vez que, os utentes com colesterol total superior a 200 mg/dL apresentam geralmente maior concentração de triglicéridos do que os utentes com colesterol total inferior a 200 mg/dL, (gráficos 1, 2, 4, 5,7,8,10 e 11), (figuras 15 e 16).

- Utentes diabéticos

Nos utentes diabéticos, à semelhança dos não diabéticos, verifica-se uma correlação entre o aumento da concentração de colesterol total e o aumento dos triglicéridos, independentemente do sexo dos utentes (Gráficos 3,6,9 e 12). Neste grupo, os diabéticos do sexo masculino apresentam igualmente concentrações de triglicéridos superiores às do sexo feminino, quer nos utentes com colesterol total superior quer nos utentes com colesterol total inferior a 200 mg/dL, quer nos utentes com colesterol total igual ou superior a 200 mg/dL (gráficos 3,6,9 e 12, (figuras 15 e 16).

Nos utentes diabéticos, é possível visualizar, que os do sexo masculino apresentam, independentemente da concentração de colesterol total, uma maior concentração de triglicéridos nas faixas etárias compreendidas entre os 30 e os 70 anos de idade (gráficos 3 e 6), (figura 15).

Já os utentes do sexo feminino, para a mesma condição apresentam maiores valores de triglicéridos nas faixas etárias a partir dos 50 anos de idade (gráficos 9 e 12), (figura 16).

Para além destes tópicos é importante referir que os utentes diabéticos de ambos os sexos apresentam geralmente valores superiores da concentração de triglicéridos, quando comparados com os valores dessa concentração nos utentes não diabéticos (gráficos 3,6,9 e 12), (figuras 15 e 16).

Em termos de valores da mediana no geral, a população do Alentejo tem por norma concentrações de triglicéridos inferiores a 150 mg/dL. Com base nesta análise de triglicéridos, poder-se-á mencionar que a dislipidemia associada ao aumento excessivo de triglicéridos não assume uma forte posição no Alentejo, embora em algumas faixas etárias a média dos valores da população esteja ligeiramente acima dos 150 mg/dL. Ainda assim, devido a esse facto é importante referir que nessas faixas etárias existe um maior risco desta condição, contribuindo para o aumento do risco de doenças cardiovasculares nessas populações.

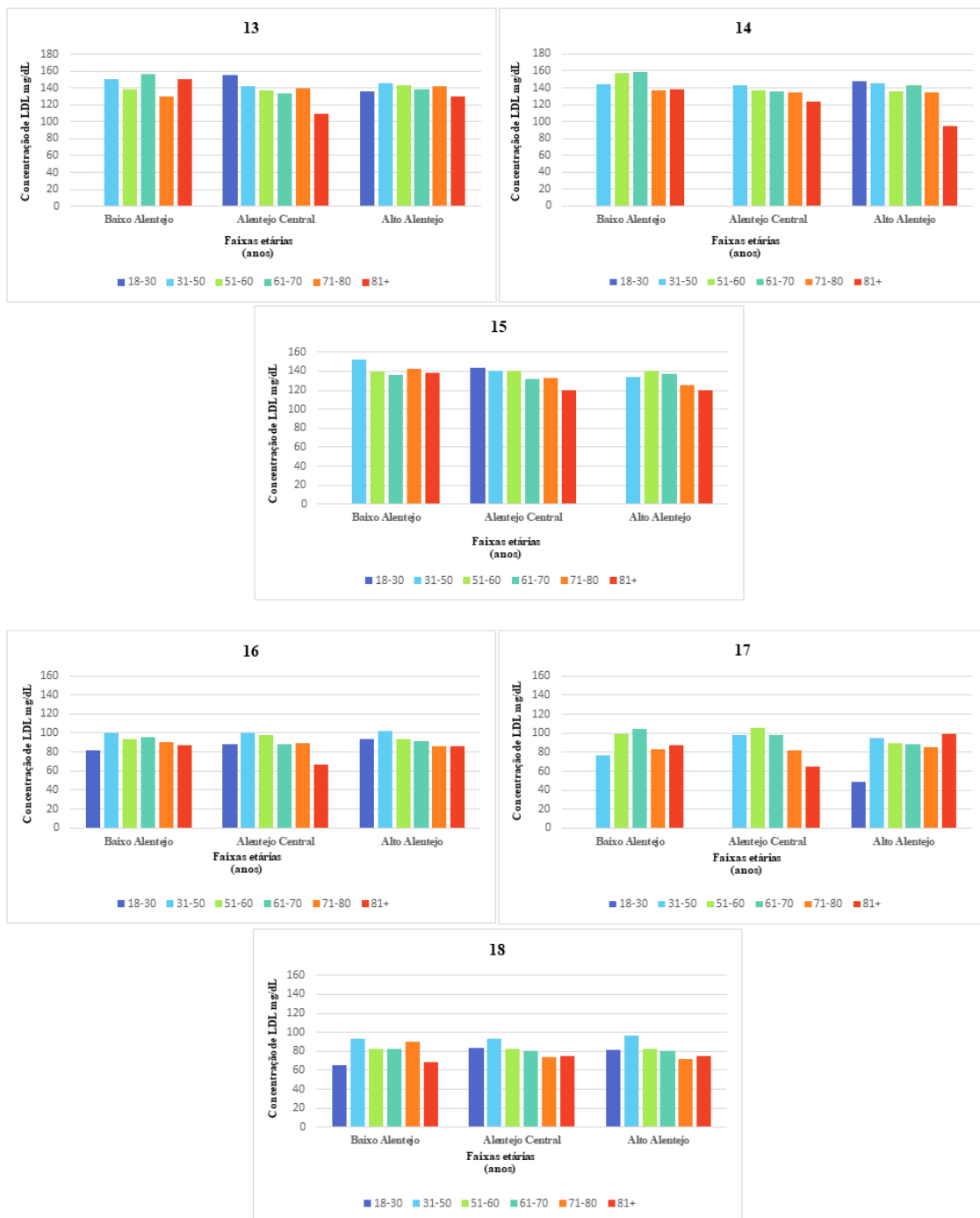


Figura 26- Concentração de LDL nos utentes do sexo masculino com:

4.2 LDL

13) glicose < 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 14) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 15) diabéticos com colesterol \geq 200 mg/dL; 16) glicose < 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 17) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 18) diabéticos com colesterol < 200 mg/dL.

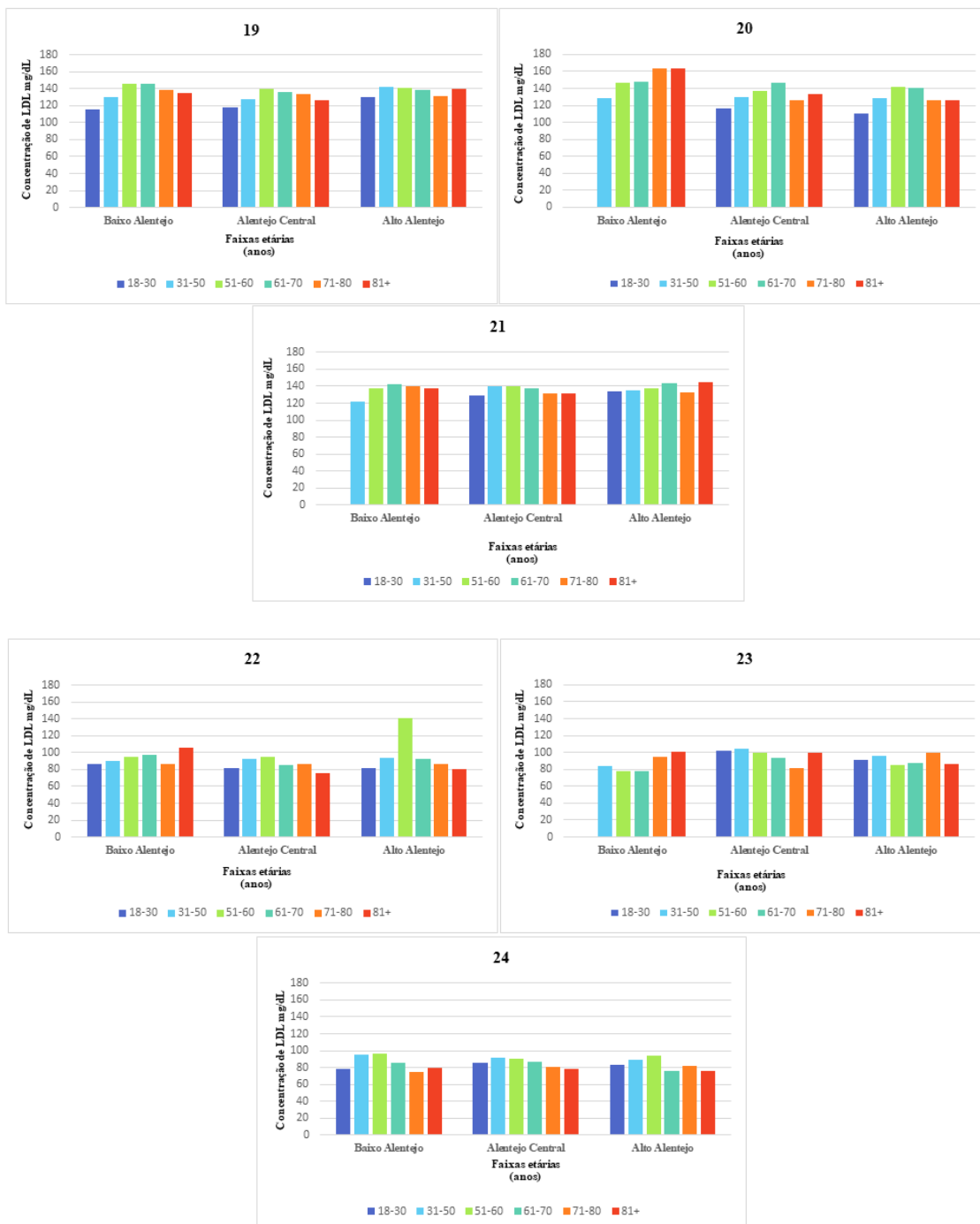


Figura 29- Concentração de LDL nos utentes do sexo feminino com:

Figura 30- Concentração de LDL nos utentes do sexo feminino com:

19) glicose < 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 20) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 21) diabéticos com colesterol \geq 200 mg/dL; 22) glicose < 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 23) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 24) diabéticos com colesterol < 200 mg/dL.

Após análise dos gráficos 13 a 24, (figuras 17 e 18) é possível observar que os utentes, independentemente do sexo, tanto não diabéticos como diabéticos, possuem um aumento de LDL, em função do aumento da concentração de Colesterol total. Este aumento, poderá ser justificado, pelo facto de as LDL serem ricas em Colesterol e assim sendo, quanto maior a concentração de colesterol, maior será por sua vez a concentração de LDL, tal como descrito na introdução. Para além disso, é possível denotar também que, os valores de LDL são mais elevados nos utentes do sexo masculino e feminino do Baixo Alentejo quando estes possuem uma concentração de colesterol superior a 200 mg/dL, uma vez que, a maior parte das médias e medianas deste parâmetro se revela superior às das outras regiões do Alentejo, na maioria das faixas etárias (gráficos 13, 14, 15, 19, 20, 21), (figuras 17 e 18).

A concentração de LDL em utentes não diabéticos e diabéticos, de ambos os sexos com Colesterol total superior ou igual a 200 mg/dL (gráficos 13, 14, 15, 19, 20, 21), (figuras 17 e 18) não apresentam uma grande variação, porém no caso de os utentes com Colesterol total inferior a 200 mg/dL, a concentração de LDL tende a aumentar nos utentes não diabéticos, tal como visível nos gráficos 16,18,22 e 23, (figuras 17 e 18). Ainda assim, é possível observar, que na região do Baixo Alentejo, tanto no sexo masculino, como no sexo feminino, os utentes não diabéticos com Colesterol total superior a 200 mg/dL também possuem um aumento da concentração de LDL, quando comparado com os diabéticos (gráficos 13, 14, 15, 19, 20, 21), (figuras 17 e 18).

Comparando os utentes não diabéticos entre si, é possível observar que quando os utentes apresentam a alteração na glucose (gráficos 14,18, 21 e 23), (figuras 17 e 18), esta não influencia de uma forma tão notória o aumento da concentração de LDL, quando comparando os valores de LDL dos utentes sem essa alteração na glucose (gráficos 13,16,19 e 22), (figuras 17 e 18).

Ainda no sexo masculino, é possível salientar que, independentemente da zona ou da condição de diabético ou não, os utentes com colesterol igual ou superior a 200 mg/dL, apresentam um decréscimo na concentração de LDL na faixa etária superior a 81 anos, quando comparando com todas as outras faixas etárias com idades inferiores (gráficos 13 a 15), (figura 17).

Nas utentes não diabéticas, independentemente da concentração de colesterol, é possível observar um aumento de LDL na faixa etária de idade superior a 81 anos, quando estas possuem um aumento nos níveis de glucose (gráficos 21 e 23), (figura 18), comparando com as utentes da mesma faixa etária sem esse aumento (Gráficos 19 e 22), (figura 18). Já as utentes do sexo feminino diabéticas, com colesterol superior a 200 mg/dL, apresentam concentrações ligeiramente mais elevadas de LDL nas faixas etárias entre os 51 e 70 anos (gráfico 20), (figura 18).

Em termos de concentração de LDL, é também importante salientar que independentemente do sexo, zona do Alentejo e presença ou não de diabetes quando a concentração de colesterol é igual ou superior a 200 mg/dL, os utentes possuem geralmente em diversas faixas etárias, valores medianos de concentração de LDL superiores aos de referência de 115 mg/dL (gráficos 13, 14, 15, 19, 20, 21), (figuras 17 e 18). Por outro lado, quando o Colesterol total é menor que 200 mg/dL, nas mesmas condições mencionadas anteriormente, os utentes apresentam geralmente concentrações de LDL inferiores ao valor de referência. Deste modo, é possível referir que a população alentejana poderá estar associada principalmente a dois tipos de dislipidemias, sendo estas a hiperlipidemia combinada e a hiperalfalipoproteínemia. Poderá estar associada à hiperlipidemia, uma vez que com o aumento da concentração de colesterol total, surge demonstrado no estudo um aumento da concentração de triglicéridos e LDL, sendo estes aumentos, característicos deste tipo de dislipidemia. Já a hiperalfalipoproteínemia, poderá estar associada, uma vez que os resultados do estudo demonstraram um aumento na concentração de LDL e nos mesmos pacientes, é notório uma diminuição da concentração de HDL, que caracteriza este tipo de dislipidemia.

4.3 HDL

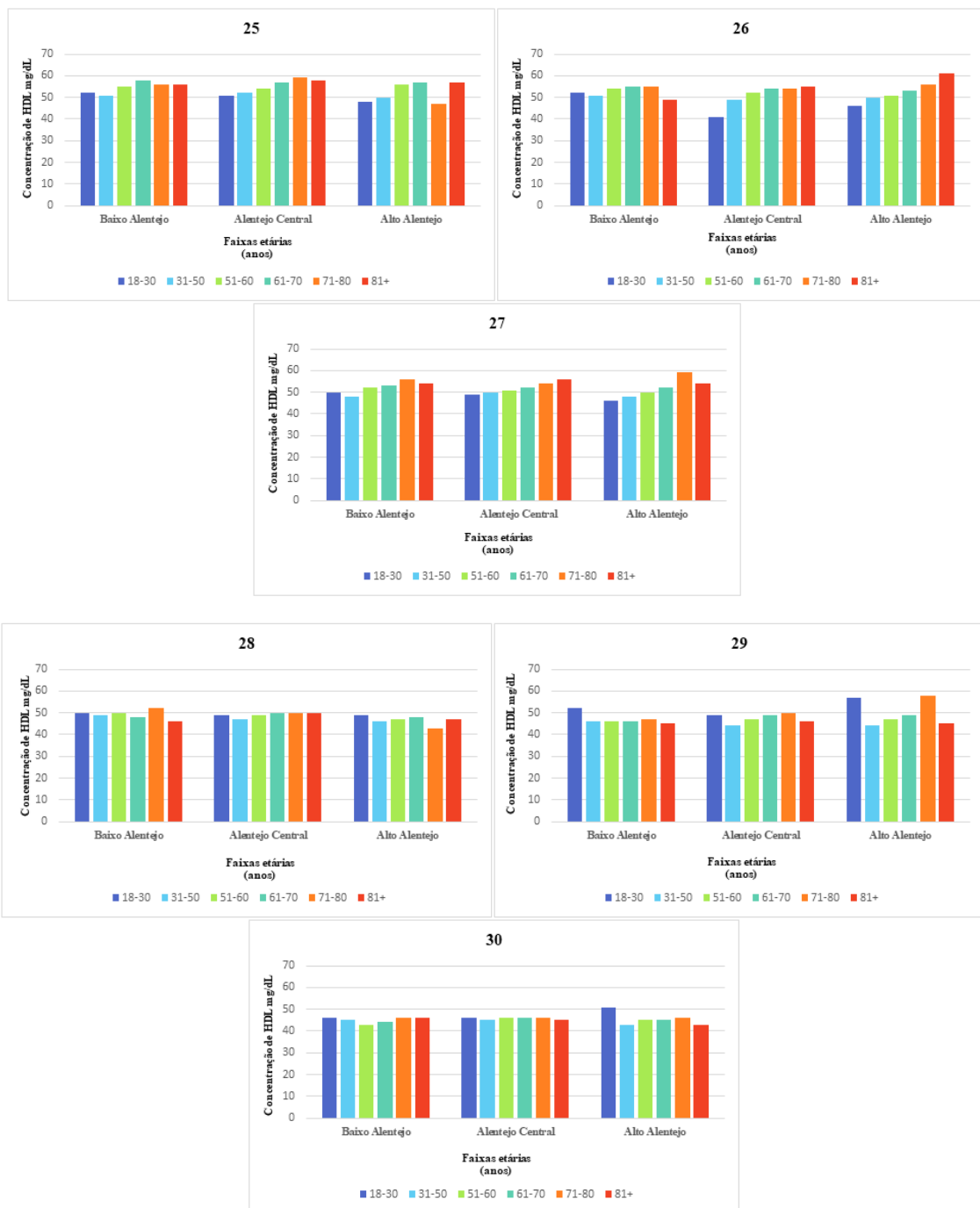


Figura 31- Concentração de HDL nos utentes do sexo masculino com:

Figura 32- Concentração de HDL nos utentes do sexo feminino com: Figura 33- Concentração de HDL nos utentes do sexo masculino com:

25) glicose < 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 26) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol \geq 200 mg/dL; 27) diabéticos com colesterol \geq 200 mg/dL; 28) glicose < 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 29) glicose \geq 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 30) diabéticos com colesterol < 200 mg/dL.

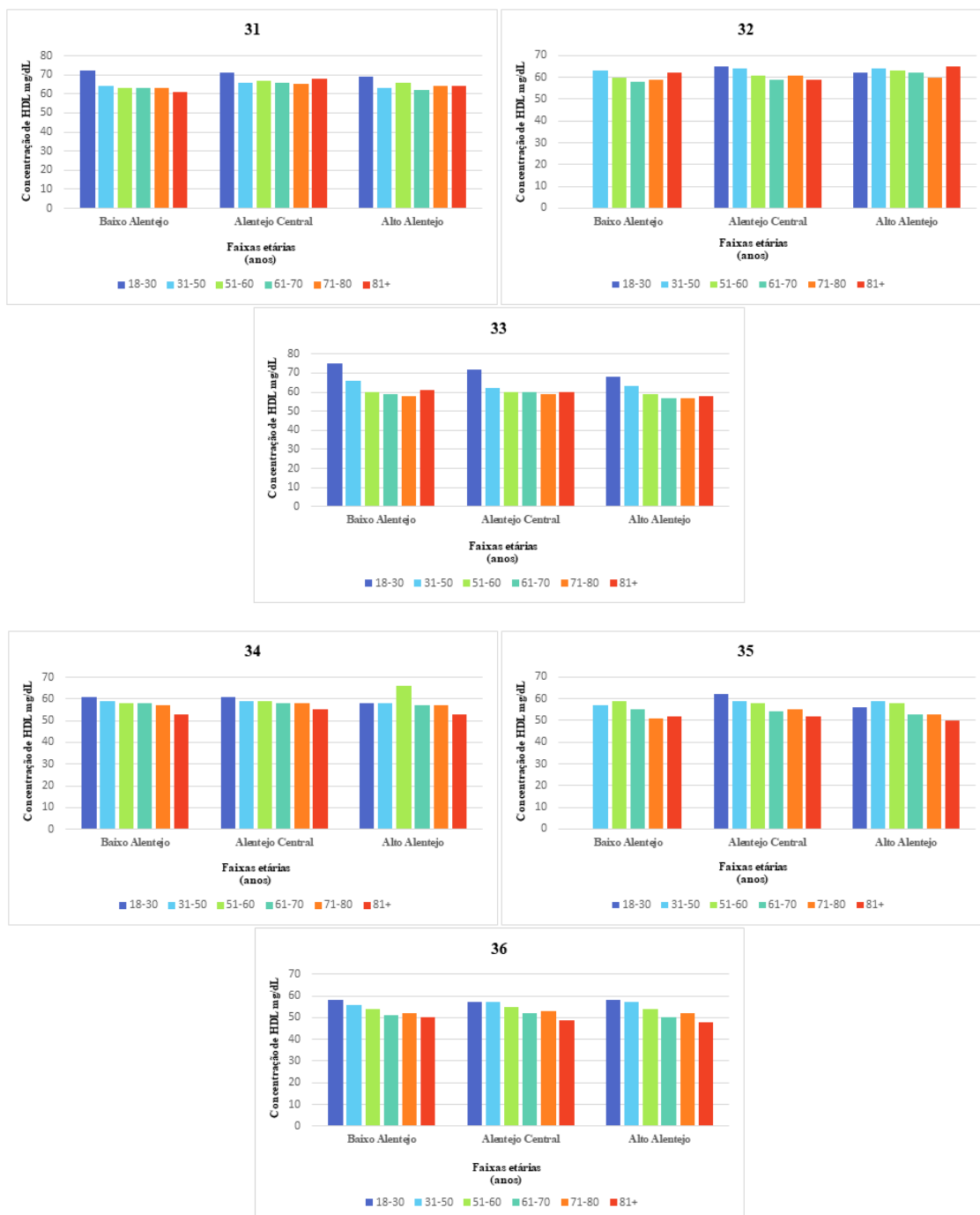


Figura 34- Concentração de HDL nos utentes do sexo feminino com:

Figura 35- Concentração de colesterol total nos utentes do sexo masculino com: Figura 36- Concentração de HDL nos utentes do sexo feminino com:

31) glicose < 100 mg/dL e com colesterol ≥ 200 mg/dL; 32) glicose ≥ 100 mg/dL e com colesterol ≥ 200 mg/dL; 33) diabéticos com colesterol ≥ 200 mg/dL; 34) glicose < 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 35) glicose ≥ 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 36) diabéticos com colesterol < 200 mg/dL.

Em relação à concentração de HDL no estudo, verificou-se que é superior no sexo feminino. Para além disso, independentemente do sexo e da concentração de Colesterol total, os utentes com diabetes possuem concentrações de HDL menores que os do mesmo sexo sem diabetes (gráficos 25 a 36), (figuras 19 e 20) confirmando o descrito por Pereira, 2014.

Através da análise também possível observar que, independentemente do sexo, zona do Alentejo e concentração de Colesterol total, os utentes não diabéticos com alteração na glucose (gráficos 26,29,32 e 35), (figuras 19 e 20), possuem concentrações de HDL ligeiramente inferiores às dos não diabéticos sem alteração na concentração de glucose (gráficos 25,28,31 e 34), (figuras 19 e 20). Estes resultados estão de acordo com Pereira (2014), onde é mencionado que o aumento de níveis de glicémia está relacionado com o aumento do índice de massa corporal, que por sua vez, surge associado ao desenvolvimento de dislipidemia, neste caso caracterizado pela diminuição da concentração de HDL.

Relativamente às diferenças por sexo, pode observar-se que no sexo masculino, independentemente da zona do Alentejo, e de os utentes serem ou não diabéticos, há um ligeiro aumento na concentração de HDL, a partir da faixa etária dos 51 anos, quando a concentração de colesterol é superior ou igual a 200 mg/dL (gráficos 25,26 e 27), (figura 19). Já nas mulheres esse aumento não é notório (gráficos 31,32 e 33), (figura 20).

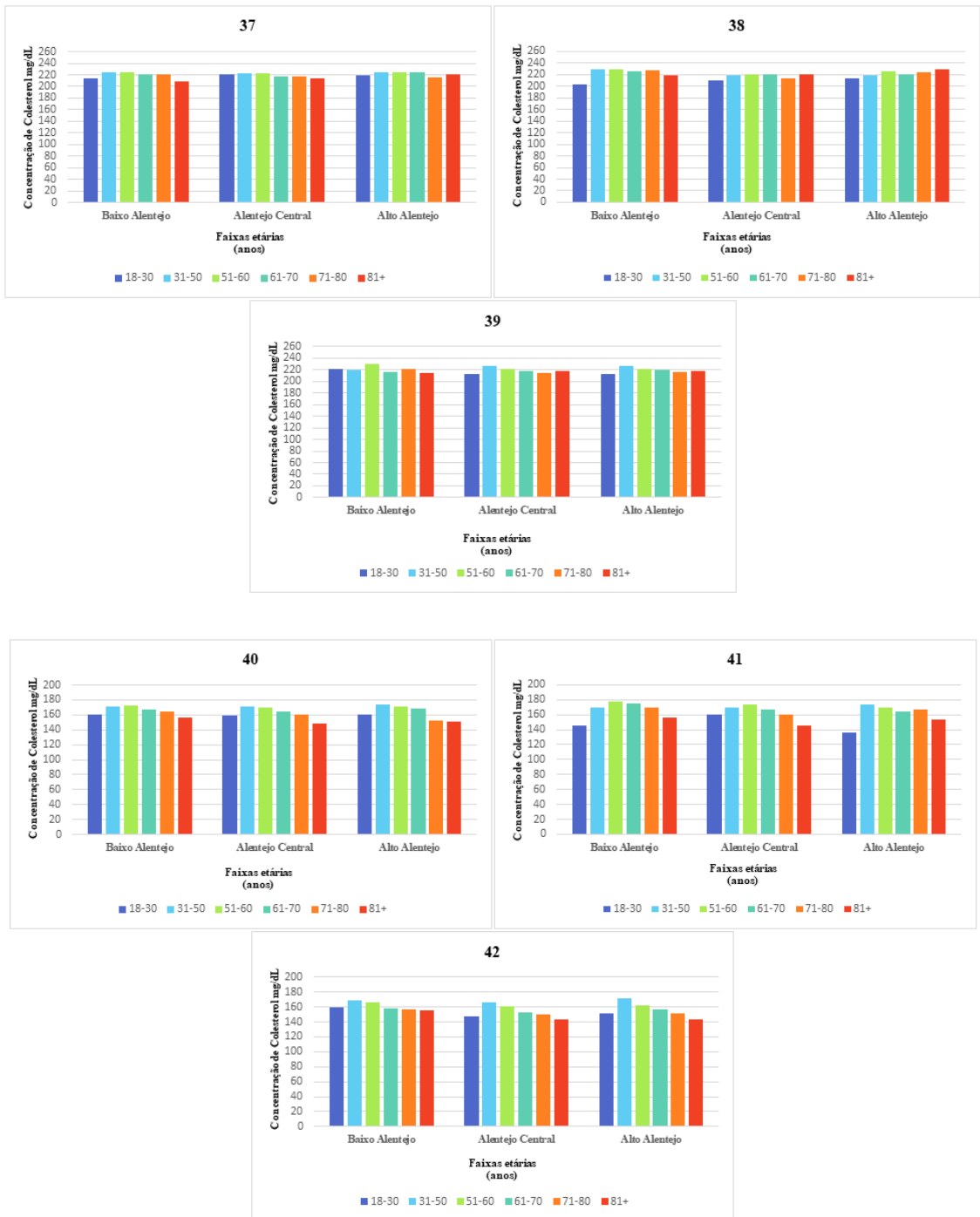
Outro aspeto bastante importante a salientar no estudo da concentração de HDL, é que esta tendência a diminuir com o aumento da concentração de Colesterol total, independentemente do sexo ou até mesmo da condição de diabetes. Um exemplo está presente na faixa etária de 18 a 30 anos do Alto Alentejo (tabela 13), onde a mediana do Colesterol total nos utentes sem a alteração na glucose é de 160 mg/dL e a mediana da concentração de HDL do mesmo grupo é de 49 mg/dL. Por outro lado, na mesma faixa etária e mesma zona do Alentejo, os utentes com alteração na glucose possuem uma mediana de concentração de colesterol de 136 mg/dL e uma mediana de concentração de HDL de 57 mg/dL.

Com base nos gráficos 25 a 36 (figuras 19 e 20), é possível denotar que a mediana de todos os utentes apresenta concentração de HDL dentro dos valores normais, uma vez que nenhuma mediana está abaixo dos 40 mg/dL. É também importante mencionar que os utentes do sexo feminino possuem valores de HDL elevados, traduzidos para valores ótimos, uma vez que estes são superiores a 60 mg/dL ou normais, dentro dos 40 e 60 mg/dL. Já nos utentes do sexo

masculino, os valores de HDL são um pouco inferiores aos do sexo feminino, porém são valores normais, uma vez que estão compreendidos entre os 40 e 60 mg/dL.

O estudo das LDL e HDL é bastante importante para as hipoalipoproteínemias, tal como mencionado na introdução, já que se verifica um aumento geral de LDL nos utentes com a respetiva diminuição de HDL. Deste modo, neste estudo é comprovado através dos resultados obtidos, essa alteração, ainda que ligeira.

Com o aumento da concentração de colesterol total, é possível denotar que a concentração de triglicéridos dos utentes se apresenta aumentada e a concentração de HDL surge diminuída no estudo a quando, esse aumento de colesterol total. Deste modo, é comprovado a afirmação descrita na introdução, onde é dito que concentrações aumentadas de triglicéridos surgem associadas a uma diminuição da concentração de HDL, associando indiretamente os níveis elevados de triglicéridos com o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares.



4.4 Colesterol total

Figura 37- Concentração de colesterol total nos utentes do sexo masculino com:

Figura 38- Concentração de colesterol total nos utentes do sexo feminino com: Figura 39- Concentração de colesterol total nos utentes do sexo masculino com:

37) glicose < 100 mg/dL e com colesterol ≥ 200 mg/dL; 38) glicose ≥ 100 mg/dL e com colesterol ≥ 200 mg/dL; 39) diabéticos com colesterol ≥ 200 mg/dL; 40) glicose < 100 mg/dL e com colesterol < 200

mg/dL; 41) glicose ≥ 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 42) diabéticos com colesterol < 200 mg/dL.

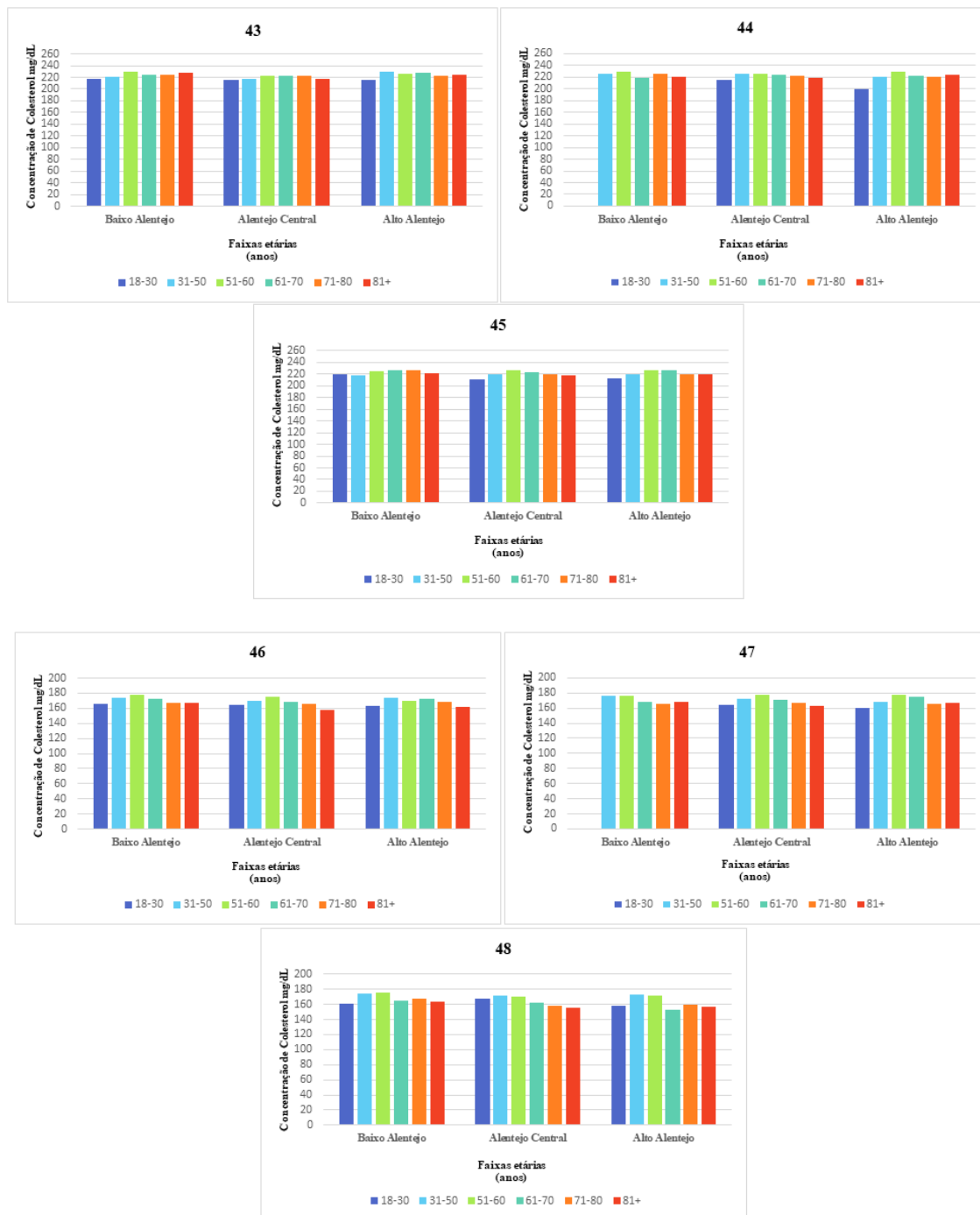


Figura 40- Concentração de colesterol total nos utentes do sexo feminino com:

Figura 41- Percentagem de utentes do sexo masculino com colesterol ≥ 200 mg/dL; Figura 42- Concentração de colesterol total nos utentes do sexo feminino com:

43) glicose < 100 mg/dL e com colesterol ≥ 200 mg/dL; 44) glicose ≥ 100 mg/dL e com colesterol ≥ 200 mg/dL; 45) diabéticos com colesterol ≥ 200 mg/dL; 46) glicose < 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 47) glicose ≥ 100 mg/dL e com colesterol < 200 mg/dL; 48) diabéticos com colesterol < 200 mg/dL.

Em relação aos valores de Colesterol Total comparados entre si, a análise dos gráficos 37 a 48 (figuras 21 e 22) mostra que as utentes do sexo feminino possuem valores de concentração deste parâmetro ligeiramente superiores aos do sexo masculino.

Em relação às zonas do Alentejo, verifica-se que o Baixo Alentejo é a zona que possui os valores mais elevados das medianas da concentração de Colesterol total, independentemente do sexo e da condição de diabético ou não (gráficos 37 a 48), (figuras 21 e 22). Os utentes do Alto Alentejo possuem também valores elevados, porém menores que os do Baixo Alentejo. Por fim, a zona com os menores valores de Colesterol total é o Alentejo Central. Esta diferença entre zonas é mais notória quando a concentração de Colesterol total nos utentes é inferior a 200 mg/dL (gráficos 40,41,42,46,47 e 48), (figuras 21 e 22).

Através da análise dos gráficos 52, 53 e 54, (figura 24), é possível observar que em qualquer região do Alentejo, a faixa etária do sexo feminino, compreendida entre 51 e 60 anos, é a que apresenta a maior percentagem de utentes com o colesterol mais elevado. Para além desta, verifica-se que em todas as regiões do Alentejo, existe um aumento do colesterol total em qualquer um dos sexos, nas faixas etárias compreendidas entre os 31 e os 60 anos. Para além deste aumento, é possível denotar uma diminuição desta percentagem em qualquer um dos sexos nas idades superiores a 70 anos, bem como nas idades mais jovens de 18 a 30 anos (gráficos 49 a 54), (figuras 23 e 24).

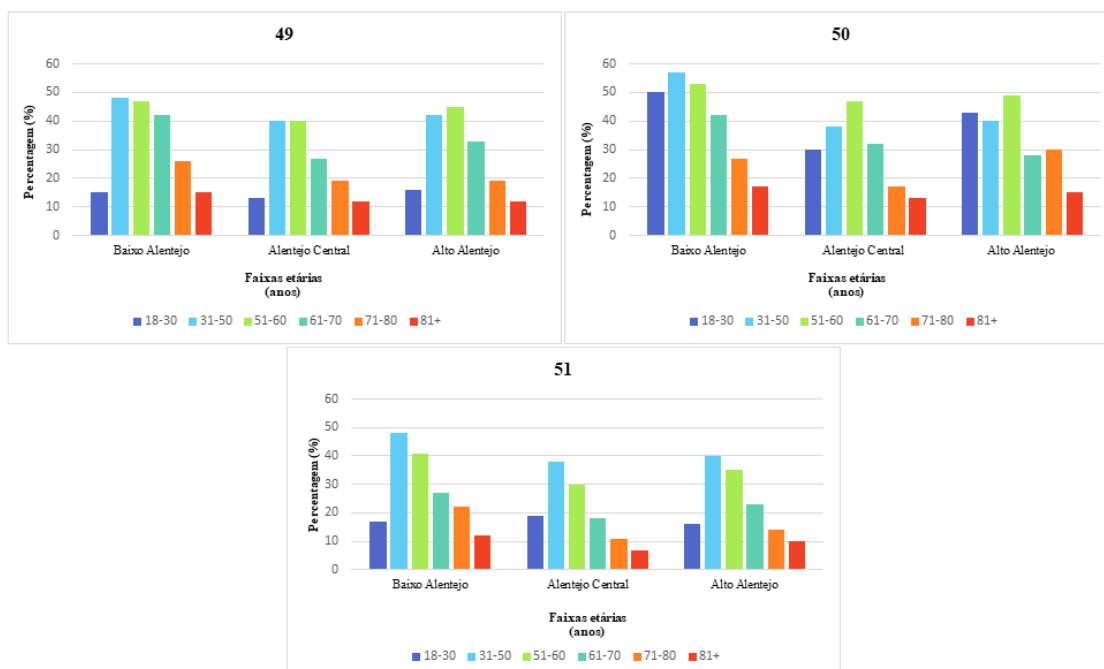


Figura 43- Percentagem de utentes do sexo masculino com colesterol ≥ 200 mg/dL:

Figura 44- Percentagem de utentes do sexo feminino com colesterol ≥ 200 mg/dL: Figura 45- Percentagem de utentes do sexo masculino com colesterol ≥ 200 mg/dL:

49) não diabéticos com glicose < 100 mg/dL e com colesterol total ≥ 200 mg/dL dentro de cada faixa etária; 50) não diabéticos com glicose ≥ 100 mg/dL e com colesterol total ≥ 200 mg/dL dentro de cada faixa etária; 51) diabéticos e com colesterol total ≥ 200 mg/dL dentro de cada faixa etária.

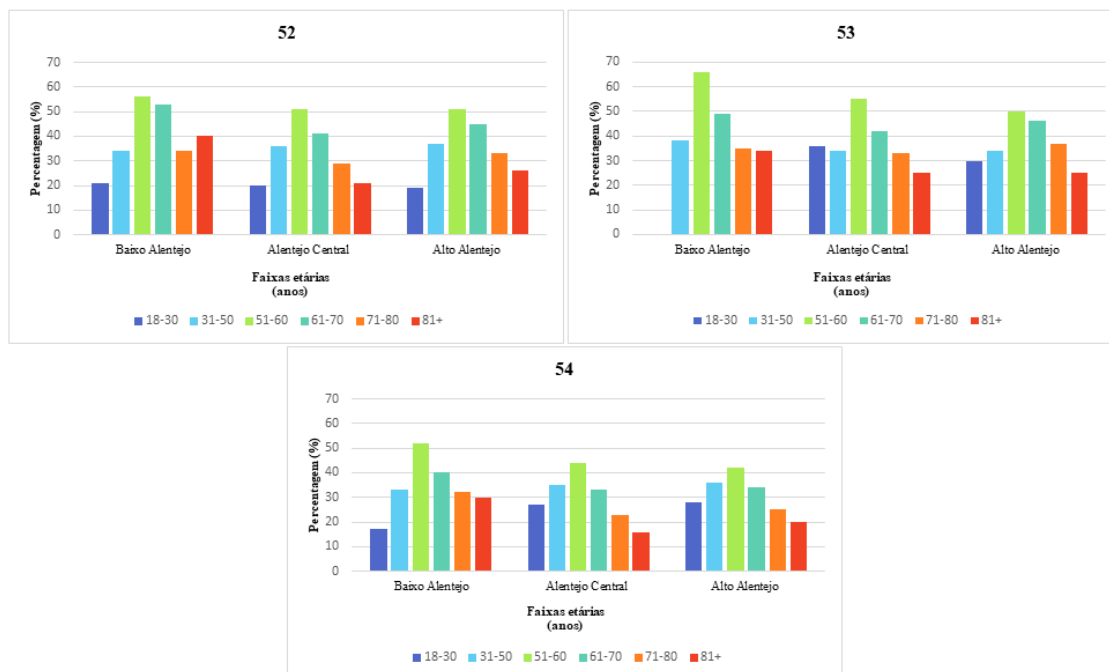


Figura 46- Percentagem de utentes do sexo feminino com colesterol ≥ 200 mg/dL:

Figura 47- Percentagem de utentes do sexo feminino com colesterol ≥ 200 mg/dL:

52) não diabéticos, com glicose < 100 mg/dL e com colesterol total ≥ 200 mg/dL dentro de cada faixa etária; 53) não diabéticos com glicose ≥ 100 mg/dL e com colesterol total ≥ 200 mg/dL dentro de cada faixa etária; 54) diabéticos e com colesterol total ≥ 200 mg/dL dentro de cada faixa etária.

Da análise dos gráficos 49 a 54, (figuras 23 e 24), verifica-se também que o Baixo Alentejo é a região que apresenta percentagens mais elevadas de colesterol total em quase todos os grupos representados, quando comparada com as outras duas regiões, tanto no sexo masculino como no feminino. Para além de todas estas análises, ainda é possível observar que a percentagem de utentes com colesterol superior a 200 mg/dL e com alteração na glicose (glicose ≥ 100 mg/dL) (gráficos 50 e 53), (figuras 23 e 24), é ligeiramente superior à dos utentes sem alteração na glicose ou até mesmo os diabéticos, nas três regiões do Alentejo (Gráficos a 49,51, 52 e 54), (figuras 23 e 24).

Em suma, a partir da análise dos gráficos das figuras 23 e 24, é importante destacar três pontos: em primeiro lugar, verifica-se que, em geral, há uma maior percentagem de utentes com colesterol superior a 200 mg/dL em todas as faixas etárias na região do Baixo Alentejo. Outro ponto a destacar desta análise é que a maior percentagem de colesterol superior a 200 mg/dL foi observada no sexo feminino, com idade entre 51 e 60 anos, com valores acima dos 50%, ou seja, das 7538 mulheres nesta faixa etária, cerca de 3769 possuem colesterol superior aos valores de referência. O último ponto a destacar desta análise é que a faixa etária dos utentes do sexo masculino, onde existe um maior número de utentes com colesterol total igual ou superior a 200 mg/dL é entre os 31 e os 60 anos, enquanto que no sexo feminino esta condição está presente nas faixas etárias entre os 51 e os 70 anos.

Capítulo 5. Conclusão e Perspetivas Futuras

Através deste estudo é possível destacar diversas conclusões. Primeiramente, e de encontro com um objetivo deste estudo, a região do Alentejo que possui maior prevalência de dislipidemia, é a região do Baixo Alentejo, uma vez que apresentou a maior percentagem de utentes com dislipidémica decorrente da elevada concentração de colesterol. Adicionalmente, os indivíduos desta região possuem também os valores mais elevados em quase todos os parâmetros dislipidémicos, nomeadamente o LDL e os Triglicéridos.

Outra conclusão que este estudo fornece é que, por norma, a população diabética possui concentrações de Triglicéridos mais elevados, quando comparado com a população não diabética. É também importante mencionar que existem diversas faixas etárias referentes a todos os utentes do sexo masculino que, embora, não possuam medianas da concentração de triglicéridos superiores aos valores de referência, possuem médias superiores, indicando, dislipidemia.

Importa referir que os valores da concentração de HDL na população diabética tende a diminuir, consoante o aumento dos valores da concentração de LDL, característico de hipoalfalipoproteinemia e consequentemente, aumentando o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Neste estudo, comprovou-se também que, quanto maior a concentração das LDL, maior concentração de Colesterol total, uma vez que, as LDL são ricas em colesterol.

A população alentejana poderá estar associada a dois tipos de dislipidemias, tais como: hiperlipidemia combinada e hiperalfalipoproteinemia, uma vez que se verifica uma associação entre o aumento da concentração de Colesterol, aumento da concentração de LDL, aumento da concentração de Triglicéridos e a consequente diminuição da concentração de HDL.

Por meio deste estudo foi possível observar que a população feminina nas faixas etárias entre os 51 e 70 anos, possui a maior percentagem de utentes com dislipidemia de colesterol elevado. Para além disso, é importante referir que no sexo masculino a maior percentagem de utentes com esta condição dislipidémica está presente nas faixas etárias entre os 31 e 60 anos.

Através da análise dos dados é possível chegar à conclusão de que a população do Baixo Alentejo apresenta um maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, quando comparada com as outras regiões, uma vez que possui geralmente a maior gama de valores das concentrações dos diversos parâmetros dislipidémicos em análise.

Com base nestas conclusões, é possível vislumbrar perspectivas futuras relacionadas com a saúde cardiovascular na população alentejana.

Primeiramente, seria aconselhável implementar programas de sensibilização e educação para a saúde, direcionados especialmente para as faixas etárias identificadas como mais propensas a dislipidemias, ou seja, mulheres entre 51 e 70 anos e homens entre 31 e 60 anos. Essas iniciativas podem incluir campanhas de promoção da alimentação saudável, estímulo à prática regular de atividade física e consciencialização sobre a importância do controlo dos níveis lipídicos.

Além disso, seria relevante considerar estratégias específicas de intervenção para o Baixo Alentejo, dado o maior risco cardiovascular observado nessa região. A implementação de serviços de rastreio de dislipidemias, acompanhamento médico regular e acesso facilitado a tratamentos preventivos poderiam ser medidas importantes para mitigar o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

No âmbito da investigação, seria interessante realizar estudos mais aprofundados para compreender as causas subjacentes a essas prevalências de dislipidemias na população alentejana. Isso poderia incluir estudos epidemiológicos mais abrangentes e investigações sobre os hábitos de vida locais que podem contribuir para essas condições.

Em resumo, as conclusões deste estudo podem ser uma contribuição para orientar ações futuras, no sentido de prevenir e gerenciar dislipidemias na população alentejana, promovendo assim a saúde cardiovascular e o bem-estar geral da comunidade.

Bibliografia

- [1] Kinns, H., Pitkin, S., Housley, D., & Freedman, D. B. (2013). Internal quality control: best practice. *Journal of Clinical Pathology*, 66(12), 1027- 1032.
- [2] Marshall, W., Bangert, S., & Lapsley, M. (2012). *Química Clínica*. 7.^a edição. London, UK: Elsevier, pp 1.
- [3] Burtis, C. A., Ashwood, E. R., & Bruns, D. E. (2006). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4.^a Edição, Elsevier Saunders. Philadelphia.
- [4] <https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/quimbiotec/FQpractica4.pdf> (Acedido a 22 de abril de 2023).
- [5] Rej, R. (1977). Effect of incubation with Mg²⁺ on the measurement of alkaline phosphatase activity. *Clin Chem Lab Med*, 23, 1903-1911.
- [6] Schumann, G., Bonora, R., Ceriotti, F., Ferard, G., Ferrero, C.A., Franck, P.F., *et al.* (2011). IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 9: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline chosphatase. *Clin Chem Lab Med*, 49, 1439-1446.
- [7] Eisenman, G. (1967). *Glass Electrodes for Hydrogen and Other Cations, Principles and Practice*. New York: Marcel Dekker Inc.
- [8] Frías, L. S. & Gutiérrez, A. L. (2010). Estudios de la Función Hepática: Magnitudes Bioquímicas. *SEQC*, 14: 78-102.
- [9] Ravel, R. (2009). *Laboratório Clínico - Aplicações Clínicas dos Dados Laboratoriais*. 6.^a Edição. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro.
- [10] Sacher, R. A. & McPherson, R. A., (2002). *Widmann-Interpretação Clínica dos Exames Laboratoriais*. 11.^a Edição. Manole. São Paulo.
- [11] Doreste, J. A. A. (2010). Parámetros Bioquímicos para la valoración de la función hepática. *FC AeFA*. Tema 5.

- [12] Higgins, T., Beutler, E., & Dumas, B. (2008). Hemoglobin, Iron, Bilirubin In Burtis, C. A., and Bruns, D.E. (Eds). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th Ed. Saunders Elsevier, St.Louis, Missouri, pp. 509-516.
- [13] <https://www.cuf.pt/saude-a-z/pancreatite> (Acedido a 22 de abril de 2023).
- [14] Silva, J. A. (2004). Lipídios dietéticos e eficiência energética. (Monografia apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Nutrição). Recife, Brasil.
- [15] Fort, N. & Diament, J. (2007). Lipoproteínas de alta densidade: aspetos metabólicos, clínicos, epidemiológicos e de intervenção terapêutica. Instituto do Coração do Hospital das Clínicas. FMUSP. São Paulo.
- [16] Shioji, N., Hayashi, M., & Morimatsu, H. (2016). Kidney, Fluid, and Acid-Base Balance. *Masui*, 65:503–510.
- [17] Lamb, E., & Price, C. (2008). Creatinine, Urea, and Uric Acid. In Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th Edition. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, pp 363-372.
- [18] <https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2014/11/eletrolitico.pdf> (Acedido a 27 de abril de 2023).
- [19] Alsaeid, K., & Majeed, H.A. (1998). Acute rheumatic fever: diagnosis and treatment. *Pediatric Annals*, 27:295-300.
- [20] https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/252/12/20012_12_CAPIV_SistemaEndocrino.pdf (Acedido a 26 de abril de 2023)
- [21] Risteli, J., Winter, W.E., Klerrekoper, M., & Risteli, L. (2015). Disorders of Bone and Mineral Metabolism. In Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 7th Edition. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, pp. 741-768.
- [22] Nakken, B., Papp, G., Bosnes, V., *et al.* (2017) Biomarcadores para a artrite reumatoide: Dos processos moleculares às aplicações de diagnóstico - conceitos atuais e perspectivas futuras. *Immunol Lett*, 189:13-18.
- [23] Costa, A. (2015). Relatório de Estágio. (Estágio curricular apresentado para a obtenção do grau de mestre em Análises Clínicas). Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra.
- [24] Silva, R., Lopes, A., & Faría, R. (2008). Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica. *Revista Médica de Minas Gerais*, 18(2): 116-122.
- [25] Norma da DGS nº 033/2011, atualizada a 06/12/2012.
- [26] Norma da DGS nº 002/2011.
- [27] Silva, D. P. (2012). Determinação de compostos fenólicos por HPLC. (Dissertação apresentada para a obtenção do grau de mestre em Química Industrial). Faculdade de Ciências da Universidade da Beira Interior, Covilhã.
- [28] <https://www.beckmancoulter.com/search?query=%22iChem%20Velocity%22&index=0&size=25&languages=English&type=tech-docs> (Acedido a 6 de maio de 2023).
- [29] Janeway, C.A., Travers, P., Walport M., Shlomchik, M.J. (2001). Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science; Appendix I. Immunologists' Toolbox.

- [30] Davies, C. (2013). Principles of Competitive and Immunometric Assays (Including ELISA). *The Immunoassay Handbook*, 29–59.
- [31] Burtis, C., & Bruns, D. (2015). *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 7ª edição, Saunders Elsevier USA.
- [32] Metzgar, J. (2013). ADVIA Centaur XP. *The Immunoassay Handbook*, 567–570.
- [33] Babson, A. L. (2013). IMMULITE 2000 and IMMULITE 2000 XPi. *The Immunoassay Handbook*, 575–578.
- [34] Laze, B., & Lugaj, A. (2017). Evaluation of an electrochemiluminescence immunoassay and an enzyme-linked fluorescent assay for detection of anticytomegalovirus IgM and anti-toxoplasma IgM antibodies in pregnant women. *International Scientific Journal*.
- [35] Failace, R. (2007). *Hemograma-Manual de Interpretação*, 5ª Edição, Artmed. Porto Alegre.
- [36] Longo, D. (2013). *Harrison's Hematology and Oncology*. McGraw-Hill Companies, New York.
- [37] Filella, X. (2010). Utilidad Clínica de los Marcadores Tumorales. FC AeFA. Tema 7.
- [38] Zuckerman, A., Banatvala, J., Pattison J., Griffiths, P. & Schoub, B. (2004). *Principles and Practice of Clinical Virology*. 5ª edição. John Wiley & Sons Ltd.
- [39] Lazzarotto, T., Guerra, B., Gabrielli, L., Lanari, M., & Landini, M. P. (2011). Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(9), 1285–1293.
- [40] Trépo, C., Chan, H. L. Y., & Lok, A. (2014). Hepatitis B virus infection. *The Lancet*, 384(9959), 2053–2063.
- [41] https://home.uevora.pt/~sinogas/TRABALHOS/2001/Imunoo01_Hepatite%20B.htm (Acedido a 20 de maio de 2023).
- [42] Ryan, K. J., Ray, C. G., & Sherris, J. C. (2014). *Sherris Medical Microbiology*. McGraw Hill Medical. New York.
- [43] Dionísio, A. (2010). Caracterização do doente com VIH/ SIDA. Estudo estatístico ao impacto da infecção no Baixo Alentejo. (Dissertação apresentada para a obtenção do grau de mestre em modelação estatística e análise de dados). Departamento de Matemática da Universidade de Évora, Évora.
- [44] Kindt, T., Goldsby, R., Osborne, B., Kuby, J., & Kuby, J., (2007). *Kuby Immunology*. 6ª edição. W.H. Freeman. New York.
- [45] Dean L. (2005). *Blood Groups and Red Cell Antigens*. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US).
- [46] <https://storymd.com/journal/wx4xy6rtzm-blood-typing/page/x4xy64sko7gv-the-abo-blood-group> (Acedido a 20 de novembro de 2023)
- [47] Mujahid, A., & Dickert, F. (2015). Blood Group Typing: From Classical Strategies to the Application of Synthetic Antibodies Generated by Molecular Imprinting. *Sensors*, 16(1), 51.
- [48] Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J., Josef, D., Meyer, F., Greber, S., & Drot, C. (1990). The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Transfusion*, 30(2), 109–113.

- [49] Papesch, M., Watkins, R. (2001). Epstein-Barr vírus infectious mononucleosis. *Clin Otolaryngol*, 26 (1), 3-8.
- [50] Pessegueiro, P., Barata, C., & Correia, J. (2003). Brucelose – uma revisão sistematizada. *Medicina Interna*, Vol 10. N.2.
- [51] Damasceno, I. (2014). Relatório de estágio. (Estágio curricular apresentado para a obtenção do grau de mestre em Análises Clínicas). Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Lisboa.
- [52] Cox, A., Zubair, M., & Tadi, P. (2022). Weil Felix Test. StatPearls Publishing LLC.
- [53] Keohane, E.M., Smith, L.J., & Walenga, J.M., (2016). *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications*. 5th edition. Elsevier Saunders, USA.
- [54] Lazarovits, J., Chen, Y., Sykes, E., & Chan, W. (2014). Nanoparticle-Blood Interaction: The Implications on Solid Tumour Targeting. *Chem. Commun.* 51.
- [55] Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7ª Edição, W.H. Freeman and Company. ISBN-13: 978-1-4641-0962-1.
- [56] <https://www.sysmex.com/la/pt/Products/Hematology/XN-L-Series/Pages/XN-550.aspx> (Acedido a 5 de julho de 2023).
- [57] Caeiro, S. (2021). Relatório de Estágio. (Estágio curricular apresentado para a obtenção do grau de mestre em Análises Clínicas). Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra.
- [58] Eikelboom, J.W., & Hirsh, J. (2006). Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: Time for a fresh look. *Thromb Haemost*, 96:547-52.
- [59] Teruya, J., West, A.G., & Suell, M.N. (2007). Lupus Anticoagulant Assays. Questions answered and to be answered. *Arch Pathol Lab Med*, 131:885-9.
- [60] Kamal, A.H., Tefferi, A., & Pruthi, R.K. (2007). How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc*. 82:864-73.
- [61] Poller, L. (1998). The prothrombin time. *WHO/LAB/98.3*.
- [62] Besser M.W., & MacDonald, S.G. (2016). Acquired hypofibrinogenemia: current perspectives. *J Blood Med*, 7:217-225.
- [63] Mackie, I.J., Kitchen, S., Machin, S.J., *et al.* (2003). Guidelines on fibrinogen assays. *Br J Haematol*, 121(3):396-404.
- [64] Clauss, A. (1957). Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen. *Acta Haematol*, 17: 237-46.
- [65] Jacobsson, K. (1955). Studies on the determination of fibrinogen in human blood plasma. *Scand J Clin Lab Invest*, 7 (Suppl 14): 1-54.
- [66] Vives, J.L., Albarède, S., Flandrin, G. *et al.* (2004). Guidelines for blood smear preparation and staining procedure for setting up an external quality assessment scheme for blood smear interpretation. Part I: control material. *Clin Chem Lab Med*, 42:922–926.
- [67] https://bio-optica.it/ftp/Sito/technical_datasheet/o8o8o2_PT.pdf (Acedido a 9 de julho de 2023).

- [68] Instrumento microscópico para análise de urina, serie iQ200 | Beckman Coulter (Acedido a 11 de julho de 2023).
- [69] VITEK® 2 Compact | bioMérieux Brasil (biomerieux.com.br) (Acedido a 11 de julho de 2023).
- [70] Benner, E.J. (1970). Simple disposable method for quantitative cultures of urine. *Applied Microbiol*, vol.19, p409-412.
- [71] Sandys, J.P. (1960). A new method of preventing swarming of *Proteus* sp. With a description of a new médium suitable for use in routine laboratory practice. *J.Med.Lab.Technol*, vol. 17, p,224-233.
- [72] Vastel, C.L. (1978). Coloration Gram-Hücker. *Le Tech.Biol*, n°5, p243-245.
- [73] Aubert, E. (1950). Cold Stain for Acid-Fast Bacteria, *Canad.J.Public Health*, n°41, p.31-32.
- [74] <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/infecoes-por-salmonella/#o-que-e-a-infecao-por-emsalmonellaem> (Acedido a 14 de julho de 2023).
- [75] Cowan, S.T., & Steel, K.J. (1965). *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Cambridge:University Press. p.22.
- [76] Baron, E.J., Peterson, L.R., & Finegold, S.M. (1994). *Bailey and Scott`s Diagnostic Microbiology*. 9ª edição, Ed. Mosby, ISBN 0-8016-6987-1.
- [77] Aarko, R. J., & Odugbemi, T. (1984). Superoxol and amylase inhibition tests for distinguishing gonococcal and nongonococcal cultures growing on selective media. *J. Clin. Microbiology*, vol.20,n°1,p 1-4.
- [78]https://commerce.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/pt/60781_10_2003_PT.pdf (Acedido a 14 de julho de 2023)
- [79] Bowers, E.F., & Jeffries, L.R. (1955). Optochin in the identification of *Str.pneumoniae* – *J. Clin. Path*, vol; 8,p.58.
- [80] Kurzynski, T.A., & Van Holten, C. M. (1981). Evaluation of techniques for isolation of group A streptococci from throat cultures. *J. Clin. Microbiol*, vol. 13, n°5, p. 891-894.
- [81] <https://www.lecturio.com/pt/concepts/haemophilus/> (Acedido a 16 de julho de 2023).
- [82]<https://www.arscentro.minsaude.pt/wpcontent/uploads/sites/6/2020/06/Enterobacteriaceae-Produtoras-de-Carbapenemases-Manual-de-apoio.pdf> (Acedido a 21 de julho de 2023).
- [83]<https://www.pfizerpro.com.br/microbiologia/conteudos-cientificos/metodologia-para-deteccao-de-carbapenemases-em-enterobacterales-no-laboratorio-de-microbiologia> (Acedido a 21 de julho de 2023).
- [84]<https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/MBD/brochures/Signal-Blood-Culture-System-Brochure.pdf> (Acedido a 23 de julho de 2023).
- [85]https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=594418921&DESTAQUESmodo=2 (Acedido a 13 de setembro de 2023)
- [86] Pereira, R. (2011). The relation between Dyslipidemia and Diabetes Mellitus type 2. *Cadernos UniFOA*, 89-94.
- [87] Ridker, M. P. (2014). LDL cholesterol: controversies and future therapeutic directions. *The Lancet*, 384: 607-617.
- [88] Norma nº 019/2011 da Direção Geral de Saúde, atualizada a 11/05/2017.

- [89] Nordestgaard, G. B., & Varbo, A. (2014). Triglycerides and cardiovascular disease. *The Lancet*, 384: 626-635.
- [90] Rader, J. D., & Hovingh, K. G. (2014). HDL and cardiovascular disease. *The Lancet*, 384: 618-625.
- [91] Fernandes, R., (2016). Os ácidos gordos ómega-3 na prevenção e na terapêutica da dislipidemia aterogénica. (Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de Coimbra, Coimbra.
- [92] Vieira, M. S. (2013). Atividade da Paraoxonase/ Aril-esterase (PON) e incorporação de fosfolípidos em partículas de HDL na Hipertrigliceridemia Humana. (Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa para a obtenção do grau de Mestre). Salvador, Brasil.
- [93] Devara, S., & Jialal, I., (1998). Laboratory Investigation of Dyslipidemia. *Lab Med*, 29(7):432-436.
- [94] Yuan, G., Al-Shali, K.Z., Hegele, R.A. (2007). Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. *CMAJ*, 176(8):1113-1120.
- [95] Miranda, C., Barrera, R., Saavedra, D., & López, M., (2008). Prevalencia de dislipidemias en una población de sujetos en apariencia sanos y su relación con la resistencia a la insulina. *Salud Publica Mex*, 50:375-382.

Anexos

Tabela 12- Dados demográficos dos utentes em estudo.

<u>Faixa etária</u>	<u>Número de utentes do sexo masculino</u>	<u>Número de utentes do sexo feminino</u>
<u>18-30</u>	1526	2376
<u>31-50</u>	6154	8004
<u>51-60</u>	6126	7538
<u>61-70</u>	7964	8602
<u>71-80</u>	5638	7865
<u>81+</u>	3377	4990
<u>Total utentes de cada sexo</u>	30 785	39 375
<u>Total de utentes em estudo</u>	70 160	

Tabela 13- Parâmetros lipídicos dos utentes do sexo masculino não diabéticos com colesterol superior ou igual a 200 mg/dL.

Região Do Alentejo	Alteração na glicose ≥100 mg/dL	Faixa etária (Anos)	Triglicéridos mg/dL		Colesterol Total mg/dL		LDL mg/dL		HDL mg/dL	
			Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana
Baixo	<u>Não</u>	<u>18-30</u>	221	136	228	213	----	-----	52	52
	<u>Sim</u>	<u>18-30</u>	185	207	230	203	----	-----	52	52
	<u>Não</u>	<u>31-50</u>	166	139	230	224	154	150	53	51
	<u>Sim</u>	<u>31-50</u>	154	132	237	230	147	144	52	51
	<u>Não</u>	<u>51-60</u>	169	125	230	225	139	138	59	55
	<u>Sim</u>	<u>51-60</u>	173	140	232	229	154	157	55	54
	<u>Não</u>	<u>61-70</u>	144	119	227	220	139	157	60	58
	<u>Sim</u>	<u>61-70</u>	160	122	232	226	155	159	56	55
	<u>Não</u>	<u>71-80</u>	148	136	226	221	136	130	57	56
	<u>Sim</u>	<u>71-80</u>	155	160	233	228	137	137	57	55
Central	<u>Não</u>	<u>18-30</u>	145	128	225	220	152	155	55	51
	<u>Sim</u>	<u>18-30</u>	98	95	214	210	----	-----	44	41
	<u>Não</u>	<u>31-50</u>	156	127	229	223	147	142	55	52
	<u>Sim</u>	<u>31-50</u>	158	138	226	218	143	143	51	49
	<u>Não</u>	<u>51-60</u>	155	125	228	222	144	137	57	54
	<u>Sim</u>	<u>51-60</u>	182	131	232	221	140	137	54	52
	<u>Não</u>	<u>61-70</u>	143	118	224	217	134	134	60	57
	<u>Sim</u>	<u>61-70</u>	138	125	227	220	139	136	56	54
	<u>Não</u>	<u>71-80</u>	130	110	223	218	139	140	61	59
	<u>Sim</u>	<u>71-80</u>	139	123	220	214	136	135	57	54
	<u>Não</u>	<u>18-30</u>	163	133	221	219	146	136	51	48
	<u>Sim</u>	<u>18-30</u>	117	117	211	214	148	148	46	46
	<u>Não</u>	<u>31-50</u>	169	136	231	224	151	146	52	50

Alto	Sim	31-50	158	138	227	218	143	145	52	50
	Não	51-60	168	136	233	225	146	143	57	56
	Sim	51-60	175	141	230	225	136	136	53	51
	Não	61-70	130	119	228	224	142	138	59	57
	Sim	61-70	140	126	228	220	149	143	55	53
	Não	71-80	154	138	220	215	148	142	45	47
	Sim	71-80	123	112	228	224	136	134	61	56
	Não	+81	132	129	222	220	126	130	59	57
	Sim	+81	126	106	236	229	95	95	60	61

Tabela 14- Médias e Medianas dos parâmetros lipídicos dos utentes do sexo masculino não diabéticos com colesterol inferior a 200 mg/dL.

Região Do Alentejo	Alteração na glicose ≥ 100 mg/dL	Faixa etária (Anos)	Triglicéridos mg/dL		Colesterol Total mg/dL		LDL mg/dL		HDL mg/dL	
			Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana
Baixo	Não	18-30	95	83	160	161	49	82	50	50
	Sim	18-30	100	87	155	146	----	-----	50	52
	Não	31-50	110	94	169	171	98	100	51	49
	Sim	31-50	114	91	165	169	77	77	47	46
	Não	51-60	124	107	167	173	90	94	51	50
	Sim	51-60	139	120	171	177	95	99	46	46
	Não	61-70	117	106	163	167	94	96	50	48
	Sim	61-70	126	116	169	175	103	105	48	46
	Não	71-80	103	94	161	165	81	90	53	52
	Sim	71-80	111	102	163	169	84	83	48	47
	Não	+81	97	90	155	156	94	87	48	46
Sim	+81	100	96	150	156	89	87	48	45	
Central	Não	18-30	89	75	157	159	87	88	50	49
	Sim	18-30	92	63	160	160	----	-----	46	49
	Não	31-50	113	95	168	171	99	100	49	47
	Sim	31-50	108	96	169	170	101	98	47	44
	Não	51-60	120	104	166	170	94	98	50	49
	Sim	51-60	119	102	167	173	101	106	48	47
	Não	61-70	115	100	161	164	85	88	52	50
	Sim	61-70	118	106	163	167	93	98	50	49
	Não	71-80	106	95	156	160	87	89	52	50
	Sim	71-80	112	101	157	160	81	82	50	50
	Não	+81	96	86	148	148	67	67	50	50
Sim	+81	96	87	147	146	71	65	47	46	
	Não	18-30	93	80	157	160	89	94	50	49
	Sim	18-30	84	71	147	136	49	49	56	57

Alto	Não	31-50	117	99	170	174	101	102	48	46
	Sim	31-50	121	113	171	173	92	95	46	44
	Não	51-60	119	105	166	171	91	93	49	47
	Sim	51-60	118	107	167	170	84	89	48	47
	Não	61-70	127	111	165	168	90	91	50	48
	Sim	61-70	117	106	160	164	89	88	49	49
	Não	71-80	118	109	152	153	84	86	42	43
	Sim	71-80	98	90	164	167	84	85	61	58
	Não	+81	97	91	150	151	81	86	49	47
	Sim	+81	101	94	153	153	97	99	46	45

Tabela 15- Médias e medianas dos parâmetros lipídicos dos utentes do sexo masculino diabéticos com colesterol superior ou igual a 200 mg/dL.

Região Do Alentejo	Faixa etária (Anos)	Triglicéridos mg/dL		Colesterol Total mg/dL		LDL mg/dL		HDL mg/dL	
		Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana
Baixo	18-30	255	181	232	222	----	-----	51	50
	31-50	214	149	231	220	158	152	52	48
	51-60	212	138	236	230	143	139	55	52
	61-70	178	148	228	216	147	136	56	53
	71-80	151	132	229	222	148	143	58	56
	+81	146	139	223	215	134	138	56	54
Central	18-30	122	102	214	213	144	144	51	49
	31-50	212	153	233	226	141	140	52	50
	51-60	208	154	228	221	144	141	53	51
	61-70	170	134	225	218	138	132	55	52
	71-80	147	126	220	214	134	133	56	54
	+81	136	121	222	217	121	120	57	56
Alto	18-30	111	103	220	213	-----	-----	50	46
	31-50	205	176	231	226	142	134	51	48
	51-60	203	157	226	221	141	141	52	50
	61-70	169	145	226	219	144	137	54	52
	71-80	156	127	222	216	126	125	58	59
	+81	154	128	225	218	123	120	56	54

Tabela 16- Médias e medianas dos parâmetros lipídicos dos utentes do sexo masculino diabéticos com colesterol inferior a 200 mg/dL.

Região Do Alentejo	Faixa etária (Anos)	Triglicéridos mg/dL		Colesterol Total mg/dL		LDL mg/dL		HDL mg/dL	
		Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana
Baixo	18-30	105	90	161	160	65	65	46	46
	31-50	115	97	164	169	95	93	47	45
	51-60	158	127	162	166	80	82	45	43
	61-70	133	115	155	158	82	82	46	44
	71-80	112	106	155	157	85	90	47	46
	+81	104	96	152	156	72	69	46	46
Central	18-30	85	73	145	148	84	84	47	46
	31-50	133	117	162	166	89	93	46	45
	51-60	130	109	158	161	83	82	47	46
	61-70	127	112	151	153	81	80	47	46
	71-80	118	106	148	150	75	74	47	46
	+81	108	98	145	144	79	75	47	45
Alto	18-30	86	78	151	152	78	81	51	51
	31-50	143	122	166	171	96	97	45	43
	51-60	135	120	157	162	79	82	46	45
	61-70	131	118	155	157	81	80	47	45
	71-80	116	105	150	151	74	72	49	46
	+81	112	101	145	144	76	75	45	43

Tabela 17- Médias e Medianas dos parâmetros lipídicos das utentes do sexo feminino não diabéticas com colesterol superior ou igual a 200 mg/dL.

Região Do Alentejo	Alteração na glicose ≥100 mg/dL	Faixa etária (Anos)	Triglicéridos mg/dL		Colesterol Total mg/dL		LDL mg/dL		HDL mg/dL	
			Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana
Baixo	<u>Não</u>	18-30	117	110	221	218	117	116	70	72
	<u>Sim</u>	18-30	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	<u>Não</u>	31-50	131	110	227	220	135	130	66	64
	<u>Sim</u>	31-50	128	119	226	226	129	129	64	63
	<u>Não</u>	51-60	123	112	236	230	148	146	65	63
	<u>Sim</u>	51-60	129	123	236	230	146	147	62	60
	<u>Não</u>	61-70	124	112	231	225	145	146	64	63
	<u>Sim</u>	61-70	142	118	227	218	139	148	59	58
	<u>Não</u>	71-80	126	114	231	225	143	138	65	63
	<u>Sim</u>	71-80	119	118	230	226	154	163	63	59
	<u>Não</u>	+81	132	123	234	228	133	135	61	61
	<u>Sim</u>	+81	117	101	228	220	164	164	63	62
Central	<u>Não</u>	18-30	123	115	222	215	119	118	72	71
	<u>Sim</u>	18-30	158	152	218	216	117	117	64	65
	<u>Não</u>	31-50	118	106	223	218	129	128	68	66
	<u>Sim</u>	31-50	125	116	230	225	129	130	67	64
	<u>Não</u>	51-60	113	97	230	223	146	140	68	67
	<u>Sim</u>	51-60	124	110	231	226	152	137	64	61
	<u>Não</u>	61-70	119	104	229	223	138	136	67	66
	<u>Sim</u>	61-70	130	116	231	224	142	146	62	59
<u>Não</u>	71-80	125	117	228	222	141	134	67	65	

	Sim	71-80	128	116	228	222	131	126	62	61
	Não	+81	122	108	225	218	125	126	69	68
	Sim	+81	128	116	227	218	145	133	60	59
Alto	Não	18-30	124	117	221	216	130	130	72	69
	Sim	18-30	131	141	203	200	110	110	63	62
	Não	31-50	118	105	232	229	150	142	65	63
	Sim	31-50	117	111	230	221	140	128	64	64
	Não	51-60	116	104	233	226	143	141	67	66
	Sim	51-60	118	105	232	229	150	142	65	63
	Não	61-70	132	116	233	227	141	138	64	62
	Sim	61-70	123	110	233	222	153	140	63	62
	Não	71-80	131	116	229	222	137	131	65	64
	Sim	71-80	128	123	226	220	128	126	62	60
	Não	+81	133	115	232	225	146	140	64	64
	Sim	+81	133	129	227	224	125	126	65	65

Tabela 18- Médias e Medianas dos parâmetros lipídicos das utentes do sexo feminino não diabéticas com colesterol inferior a 200 mg/dL.

Região Do Alentejo	Alteração na glicose ≥ 100 mg/dL	Faixa etária (Anos)	Triglicéridos mg/dL		Colesterol Total mg/dL		LDL mg/dL		HDL mg/dL	
			Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana
Baixo	Não	18-30	87	78	164	166	84	86	62	61
	Sim	18-30	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Não	31-50	96	83	170	174	89	90	61	59
	Sim	31-50	120	106	174	176	84	84	57	57
	Não	51-60	98	86	173	178	92	95	60	58
	Sim	51-60	100	90	172	176	82	78	61	59
	Não	61-70	102	93	169	172	92	97	58	58
	Sim	61-70	106	93	166	168	83	78	55	55
	Não	71-80	104	96	166	167	88	87	58	57
	Sim	71-80	113	101	165	166	95	95	53	51
	Não	+81	106	98	163	167	96	106	55	53
Sim	+81	103	98	162	168	87	101	52	52	
Central	Não	18-30	85	78	163	165	83	82	62	61
	Sim	18-30	98	89	166	164	90	102	60	62
	Não	31-50	86	75	168	170	92	93	60	59
	Sim	31-50	77	66	168	172	99	104	60	59
	Não	51-60	93	84	171	175	93	95	60	59
	Sim	51-60	93	87	173	177	97	100	59	58
	Não	61-70	101	92	166	168	84	85	60	58
	Sim	61-70	107	99	169	171	94	94	56	54
	Não	71-80	103	98	164	166	85	86	59	58
Sim	71-80	109	100	164	167	84	82	56	55	

	Não	+81	104	95	157	158	75	75	57	55
	Sim	+81	110	101	160	163	97	99	52	52
Alto	Não	18-30	90	81	162	163	82	82	59	58
	Sim	18-30	79	72	156	160	91	91	58	56
	Não	31-50	92	80	170	174	91	94	59	58
	Sim	31-50	80	68	165	168	97	96	60	59
	Não	51-60	117	104	168	170	143	141	67	66
	Sim	51-60	101	93	173	178	89	85	57	58
	Não	61-70	106	97	169	172	90	92	58	57
	Sim	61-70	107	98	169	175	89	88	55	53
	Não	71-80	109	98	165	168	85	86	59	57
	Sim	71-80	115	107	165	165	96	99	54	53
	Não	+81	109	105	159	162	79	81	54	53
	Sim	+81	117	104	161	167	84	86	51	50

Tabela 19- Médias e medianas dos parâmetros lipídicos das utentes do sexo feminino diabéticas com colesterol superior ou igual a 200 mg/dL.

Região Do Alentejo	Faixa etária (Anos)	Triglicéridos mg/dL		Colesterol Total mg/dL		LDL mg/dL		HDL mg/dL	
		Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana
Baixo	18-30	120	118	218	219	----	-----	76	75
	31-50	125	105	226	217	129	122	68	66
	51-60	133	118	233	225	140	138	62	60
	61-70	146	130	235	227	143	142	60	59
	71-80	145	131	231	226	141	140	59	58
	+81	141	124	230	222	141	137	60	61
Central	18-30	116	110	218	211	135	129	71	72
	31-50	128	108	225	219	138	140	64	62
	51-60	138	116	232	227	145	140	62	60
	61-70	143	122	231	223	143	138	62	60
	71-80	156	136	226	219	132	131	60	59
	+81	136	123	224	217	134	131	62	60
Alto	18-30	121	110	224	213	144	134	68	68
	31-50	144	119	227	219	138	135	64	63
	51-60	141	119	231	226	140	138	61	59
	61-70	150	129	233	226	150	143	59	57
	71-80	166	148	228	219	135	133	59	57
	+81	150	133	226	220	145	145	59	58

Tabela 20- Médias e medianas dos parâmetros lipídicos das utentes do sexo feminino diabéticas com colesterol inferior a 200 mg/dL.

Região Do Alentejo	Faixa etária (Anos)	Triglicéridos mg/dL		Colesterol Total mg/dL		LDL mg/dL		HDL mg/dL	
		Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana	Média	Mediana
Baixo	18-30	97	82	160	161	76	78	58	58
	31-50	103	89	170	174	96	95	57	56
	51-60	112	99	170	175	94	97	56	54
	61-70	130	121	163	165	85	85	52	51
	71-80	126	114	163	167	76	75	52	52
	+81	128	136	160	163	82	80	51	50
Central	18-30	91	77	163	167	85	86	59	57
	31-50	96	81	166	171	90	92	58	57
	51-60	112	98	167	170	90	91	56	55
	61-70	122	110	159	162	85	87	54	52
	71-80	122	112	157	158	81	81	54	53
	+81	121	113	153	155	80	78	51	49
Alto	18-30	88	71	161	158	86	83	59	58
	31-50	94	81	169	173	90	89	58	57
	51-60	116	100	167	172	91	94	55	54
	61-70	121	110	148	153	74	76	52	50
	71-80	125	115	159	160	83	82	53	52
	+81	122	112	155	157	78	76	50	48

Tabela 21- Percentagens de utentes com colesterol total superior a 200 mg/dL, no Baixo Alentejo.

Sexo	Faixa etária (anos)	Baixo Alentejo		
		% utentes com alteração na glicose e com colesterol total > 200 mg/dL	% utentes sem alteração na glicose e com colesterol total > 200 mg/dL	% utentes com diabetes e com colesterol total > 200 mg/dL
Masculino	18-30	50	15	17
	31-50	57	48	48
	51-60	53	47	41
	61-70	42	42	27
	71-80	27	26	22
	81+	17	15	12
Feminino	18-30	-----	21	17
	31-50	38	34	33
	51-60	66	56	52
	61-70	49	53	40
	71-80	35	34	32
	81+	34	40	30

Tabela 22- Percentagens de utentes com colesterol total superior a 200 mg/dL, no Alentejo Central.

Sexo	Faixa etária	Alentejo Central		
		% utentes com alteração na glicose e com colesterol total > 200mg/dL	% utentes sem alteração na glicose e com colesterol total > 200 mg/dL	% utentes com diabetes e com colesterol total > 200 mg/dL
Masculino	18-30	30	13	19
	31-50	38	40	38
	51-60	47	40	30
	61-70	32	27	18
	71-80	17	19	11
	81+	13	12	7
Feminino	18-30	36	20	27
	31-50	34	36	35
	51-60	55	51	44
	61-70	42	41	33
	71-80	33	29	23
	81+	25	21	16

Tabela 23- Percentagens de utentes com colesterol total superior a 200 mg/dL, no Alto Alentejo.

Alto Alentejo		

Sexo	Faixa etária	% pessoas com alteração na glicose e com colesterol total > 200 mg/dL	% pessoas sem alteração na glicose e com colesterol total > 200 mg/dL	% pessoas com diabetes e com colesterol total > 200 mg/dL
Masculino	18-30	43	16	16
	31-50	40	42	40
	51-60	49	45	35
	61-70	28	33	23
	71-80	30	19	14
	81+	15	12	10
Feminino	18-30	30	19	28
	31-50	34	37	36
	51-60	50	51	42
	61-70	46	45	34
	71-80	37	33	25
	81+	25	26	20