

DIABETES GESTACIONAL

**Trabalho realizado sob a orientação da Professora Doutora Georgina Correia
da Silva**

Ana Francisca de Afonso e Rocha

Junho de 2018

É autorizada a reprodução integral desta dissertação apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

AGRADECIMENTOS

O meu reconhecimento à Professora Georgina Correia da Silva, por todo o conhecimento científico e crítico demonstrado durante esta fase. Agradeço o seu empenho, exigência e rigor em todos os detalhes a que este processo obriga.

Obrigada à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto por me permitir desenvolver conhecimentos teóricos e práticos no âmbito das análises clínicas. Este período foi importante para mim enquanto aluna e profissional de saúde, uma vez que desenvolvi aptidões e conhecimentos que atualmente ponho em prática.

Em último, mas não menos importante, obrigada aos Meus pais, por sempre me incentivarem e fazerem acreditar que *“A educação é o nosso passaporte para o futuro, pois, o amanhã pertence às pessoas que se preparam hoje”*. Sigo sempre atenta os vossos conselhos e a vossa caminhada, pois não poderia ter melhores mestres!

RESUMO

A diabetes gestacional (DG) é definida como uma intolerância aos hidratos de carbono, de grau variável, que é diagnosticada ou reconhecida pela primeira vez durante a gravidez. É uma das patologias mais frequentes da gravidez, cuja incidência tem vindo a crescer nos últimos anos e que está associada a complicações maternas e fetais a curto e a longo prazo. Para além do risco de futuro desenvolvimento de diabetes para a mãe e das complicações obstétricas, os recém-nascidos têm um risco significativo de obesidade, doenças cardiovasculares e intolerância à glicose a longo prazo.

Paralelamente ao crescimento da DG, o aumento da obesidade é um dos fatores de risco mais importantes. Contudo, outros fatores estão implicados, como a idade materna avançada, índice de massa corporal elevado, etnia, antecedentes familiares de diabetes bem como fatores genéticos.

O diagnóstico da DG possibilita o tratamento e a consequente redução das suas complicações. Os critérios de diagnóstico, baseados nos critérios primordiais de O'Sullivan e Mahan, sofreram algumas alterações ao longo do tempo de acordo com novas evidências científicas. Embora seja reconhecida a importância da existência de diretrizes, não existe uma uniformidade de critérios entre os diversos países. Os critérios da Direção Geral de Saúde (DGS) suportados pelo Relatório de 2017 de Consenso Sobre Diabetes e Gravidez Português, são baseados no estudo *Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes* (HAPO) que demonstrou a existência de uma relação entre os valores da glicemia materna e as morbilidades materna, fetal e neonatal e estão de acordo com as recomendações da Associação Internacional dos Grupos de Estudo de Diabetes e Gravidez (IADPSG). A mulher com diagnóstico de DG deverá ser referenciada para vigilância num Hospital de Apoio Perinatal. Para além disso, é recomendada uma reclassificação e uma vigilância no pós-parto.

Neste trabalho, efetuou-se uma revisão bibliográfica da evidência científica mais atual, focando nomeadamente a etiologia, fatores de risco associados, complicações fetais e maternas, evolução dos critérios de diagnóstico e critérios atuais. Por último, com o auxílio de dados internacionais e nacionais é apresentado o aumento da prevalência da DG a nível mundial e em Portugal. É assim da maior relevância encontrar as melhores estratégias que permitam abordar a problemática da diabetes gestacional promovendo a saúde materno-fetal.

PALAVRAS-CHAVE: Diabetes Gestacional, gravidez, placenta

ABSTRACT

Gestational diabetes (GD) is defined as any degree of carbohydrate intolerance with onset or first recognition during pregnancy. It is one of the most frequent pathologies of pregnancy, whose incidence has been growing in recent years and is associated with maternal and fetal complications in the short and long term. In addition to the risk of future development of diabetes for the mother and obstetric complications, newborns have a significant risk of obesity, cardiovascular disease and long-term glucose intolerance.

Parallel to the growth of the DG, the increase in obesity is one of the most important risk factors. However, other factors are implicated, such as advanced maternal age, high body mass index, ethnicity, family history of diabetes as well as genetic factors.

The diagnosis of DG allows the treatment and consequent reduction of its complications. Diagnostic criteria based on the O'Sullivan and Mahan primordial criteria have undergone some changes over time according to new scientific evidence. While the importance of guidelines is recognized, there is no uniformity of criteria across countries. The criteria of the *Direção Geral de Saúde* (DGS) supported by the Portuguese Diabetes and Pregnancy Consensus Report 2017 are based on the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes study (HAPO), which demonstrated the existence of a relationship between the values of maternal glycemia and maternal, fetal and neonatal morbidities and are in accordance with the recommendations of the *International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups* (IADPSG). Women diagnosed with GD should be referred for surveillance in a Perinatal Support Hospital. In addition, reclassification and postpartum surveillance are recommended.

In this work, a bibliographic review of the most current scientific evidence was made, focusing in particular on etiology, associated risk factors, fetal and maternal complications, evolution of diagnostic criteria and current criteria. Finally, with the help of international and national data, the increase in the prevalence of DG worldwide and in Portugal is demonstrated. It is therefore of great relevance to find the best strategies to address the problem of gestational diabetes and promote maternal-fetal health.

KEY WORDS: Gestational Diabetes, pregnancy, placenta

ÍNDICE

Índice de Figuras	xi
Índice de Tabelas	xii
Lista de Abreviaturas	xiii
1. Introdução	1
2. A placenta Humana	3
2.1 Aspetos morfológicos e anatómicos da placenta	3
2.2 A placenta e o transporte de nutrientes	7
2.2.1 Transporte de aminoácidos	8
2.2.2 Transporte de ácidos gordos	9
2.2.3 Transporte de glicose	10
2.2.4 Placenta e suas principais hormonas	11
3. Homeostasia da glicose	13
4. Etiologia da Diabetes Gestacional	17
4.1 Alterações do metabolismo da grávida	17
4.2 Mediadores pró-inflamatórios	20
5. Fatores de Risco	23
5.1 Fatores Genéticos e etnias	24
5.2 Condições patológicas associadas	25
6. Implicações para a mãe e para o filho	27
6.1 Implicações maternas	27
6.2 Implicações fetais	30
7. Diagnóstico da Diabetes Gestacional	34
7.1 Critérios de diagnóstico segundo a Direção Geral de Saúde	34
7.2 Reclassificação no pós-parto	37
8. A epidemiologia da Diabetes Gestacional	39
9. CONCLUSÃO	41
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Excesso de crescimento fetal e complicações a longo prazo	2
FIGURA 2 - Representação esquemática da placenta humana	3
FIGURA 3 - Representação esquemática das vilosidades coriônicas placentárias	4
FIGURA 4 - Desenvolvimento das vilosidades coriônicas placentárias	5
FIGURA 5 - Representação esquemática da barreira sinciotrofoblástica: membrana basal plasmática e membrana microvilosa	7
FIGURA 6 - Vias de sinalização da insulina	18
FIGURA 7 - Diabetes gestacional e a interação entre as diversas citocinas	21
FIGURA 8 - Fatores de Risco maternos associados à diabetes gestacional	23
FIGURA 9 - Associação entre fatores de risco na pré-gravidez, resultados da gravidez e pós-gravidez	28
FIGURA 10 - Hiperglicemia materna e consequentemente hiperglicemia fetal e hiperinsulinemia. Consequências fetais	29
FIGURA 11 - Fluxograma – Diagnóstico e Conduta na diabetes gestacional	36
Figura 12 - Diabetes gestacional estratificado por idades. Estimativa referente ao ano de 2017, pela IDF	39

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - Transportadores de glicose da família GLUT	13
TABELA 2 - Genes e sua associação com diabetes gestacional	24
TABELA 3 - Manifestações Congénitas em filhos de mãe com Diabetes Gestacional .	30
TABELA 4 - Morbilidades associadas à DG	31
TABELA 5 - Critérios propostos para diagnóstico da diabetes gestacional baseada na PTGO	33
TABELA 6 - Valores de referência da glicemia em jejum para diagnóstico da diabetes gestacional	35
TABELA 7 - Valores de referência da PTGO para diagnóstico da diabetes gestacional	36
TABELA 8 - DG na mulher entre os 20-49 anos. Estimativa Global do ano de 2017	39
TABELA 9 - Estimativa Global da DG no ano de 2017	40
TABELA 10 - Prevalência da DG em Portugal continental, entre 2010-2016	40

LISTA DE ABREVIATURAS

DG - Diabetes Gestacional

DGS - Direção Geral de Saúde

DM2 - Diabetes Mellitus tipo 2

FABP - Proteínas de ligação a ácidos gordos

FATP - Proteínas de transporte de ácidos gordos

FID - Federação Internacional de Diabetes

GLUTs - Transportadores Especificos de Glicose

HAP - Hospital de Apoio Perinatal

HAPO - *The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Study*

HAPD - Hospital de Apoio Perinatal Diferenciado

hCG - Gonadotrofina Coriónica Humana

hPL - Lactogénio Placentário Humano

hPGH - Hormona de Crescimento Placentário Humano

IL-6 - Interleucina-6

IMC - Índice de Massa Corporal

IGF-1 - insulin-like growth factor-1

LE - Lípase endotelial

LPL - Lipoproteína lípase

NDDG - National Diabetes Data Group

NEFAS - Ácidos gordos não esterificados

OMS - Organização Mundial de Saúde

PTGO - Prova de Tolerância à Glicose Oral

SNS - Sistema Nacional de Saúde

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

1. INTRODUÇÃO

A diabetes é uma das principais causas de mortalidade, morbidade e aumento dos custos no Sistema Nacional de Saúde (SNS). Associadas a esta patologia estão as complicações microvasculares, nefropatia diabética, retinopatia diabética e neuropatia diabética e macrovasculares, relacionadas com as doenças cardíacas e as doenças vasculares cerebrais, responsáveis por mais de 2 milhões de mortes por ano. No sentido de atenuar o impacto e a morbidade, devem ser implementadas medidas que permitam diminuir estes riscos como a monitorização da glicemia, vigilância terapêutica e a promoção da mudança do estilo de vida (1-2).

A Diabetes Gestacional (DG) define-se como uma intolerância aos hidratos de carbono, de grau variável, que é diagnosticada ou reconhecida pela primeira vez durante a gravidez (3-4).

Esta é a doença metabólica mais comum diagnosticada em grávidas. A DG aumenta o risco de morbidade perinatal, bem como de doenças metabólicas e neurológicas a longo prazo no recém-nascido e, posteriormente, na vida adulta. Contudo, os mecanismos bioquímicos e celulares responsáveis por estes efeitos patológicos estão ainda muito pouco explorados (3).

A obesidade tem ganho um papel de destaque nos últimos anos, uma vez que é um dos fatores de risco para o desenvolvimento de diabetes e de diabetes gestacional. A prevalência da diabetes gestacional tem aumentando em todo o mundo. De igual modo, verifica-se o aumento da prevalência do excesso de peso, bem como da obesidade em mulheres que estão em fase de gestação (5).

Por outro lado, a obesidade infantil, devido ao aumento de casos nos últimos anos, é um tema de debate clínico e de saúde pública a nível mundial. Esta situação levou à identificação de diversos fatores de risco que estão relacionados com a obesidade, como o ambiente intrauterino e o excessivo crescimento fetal. Vários estudos sugerem que a obesidade adulta pode resultar, não só do estilo de vida atual do indivíduo, mas também advir de uma fase muito anterior, relacionada com o ambiente metabólico no útero durante a gestação (Figura 1) (6-7).

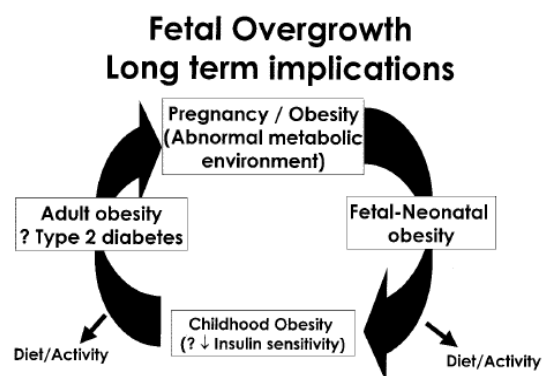


Figura 1– Excesso de crescimento fetal e complicações a longo prazo

Retirado de *Catalano PM. 2003 (7)*

A obesidade durante a gestação origina o nascimento de recém-nascidos com aumento de adiposidade, predispondo, a longo prazo, ao desenvolvimento de alterações metabólicas, nomeadamente, síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2 (DM2). No entanto, embora outros fatores estejam associados ao crescimento fetal excessivo, o aumento de peso materno e a diabetes durante a gestação, correlacionam-se positivamente com o aumento de massa gorda ao nascimento e consequentes problemas na vida adulta (7-9).

Em mães com DG foram descritas algumas alterações morfológicas da placenta, como uma inadequada distribuição vascular materna, trombose fetal, desequilíbrio de moléculas sinalizadoras vasoativas e um *stress* oxidativo excessivo.

A patologia diabetes gestacional é compatível com mudanças metabólicas sucessivas na placenta, alterando a expressão de transportadores e o transporte de nutrientes. A exposição do feto a estes ambientes adversos aumenta a susceptibilidade de desenvolvimento, a longo prazo, de co-morbididades maternas e fetais (10-13).

2. A PLACENTA HUMANA

2.1 Aspetos morfológicos e anatómicos da placenta

Anatomicamente, a placenta das mulheres portadoras de DG pode apresentar-se ligeiramente maior, relativamente a uma placenta de uma mãe sem DG. No entanto, possuem igual forma, área, inserção do cordão umbilical e número de vilosidades coriônicas (14).

A placenta é o órgão responsável pela comunicação materno-fetal durante a gestação, exercendo a sua atividade funcional no transporte de nutrientes, trocas gasosas e na eliminação de resíduos. A placenta produz hormonas essenciais ao desenvolvimento e metabolismo fetal, bem como exerce um papel a nível imunitário, protegendo o feto em desenvolvimento. Este órgão permite controlar o desenvolvimento fetal, estando em constante alteração durante as 40 semanas de gestação (15-17).

A placenta humana é constituída por diferentes porções, uma porção materna, derivada do endométrio, e uma porção fetal, derivada da trofoectoderme embrionária (Figura 2).

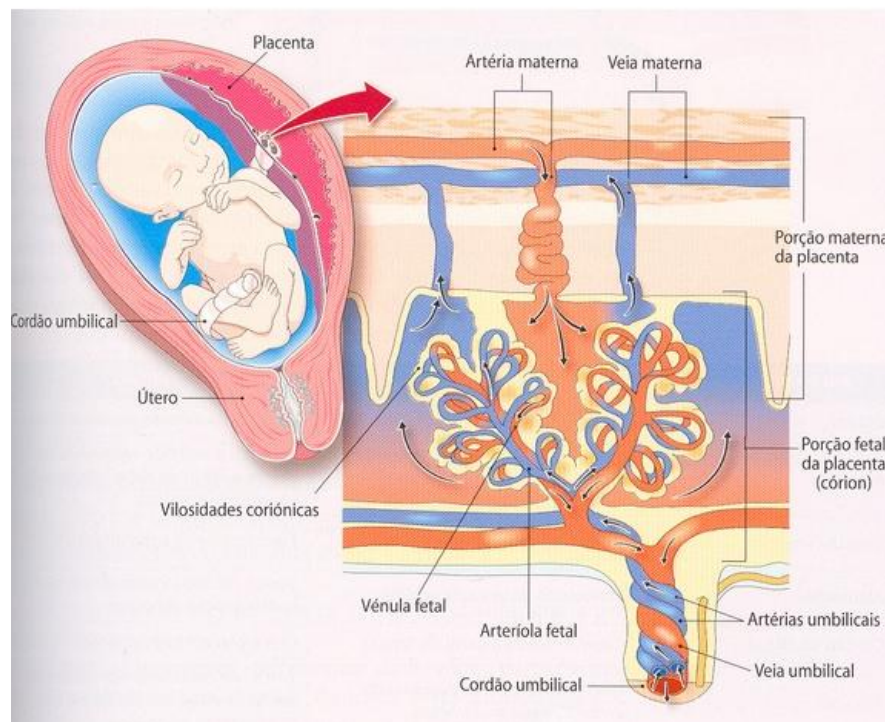


Figura 2 - Representação esquemática da placenta humana

Disponível em : <https://es.slideshare.net/psuinformator/biologa-18>
[acedido em 16 /5/ 2018]

No estágio do desenvolvimento embrionário correspondente ao blastocisto, o embrião possui uma camada externa de células, o trofoblasto, envolvendo um aglomerado interno de células, a **massa celular interna**. Esta dá origem à formação do corpo do embrião, enquanto que o **trofoblasto** na camada externa será o responsável pela invasão do endométrio e pela formação da parte embrionária da placenta (18).

O trofoblasto é constituído por uma população de células heterogêneas. Na espécie humana, as formas diferenciadas do trofoblasto são: o citotrofoblasto, o sinciotrofoblasto e o trofoblasto extraviloso. No fim da segunda semana de gestação, surgem as vilosidades coriônicas primárias, que são extensões de células do citotrofoblasto que proliferam e crescem para dentro do sinciotrofoblasto que vai invadindo o endométrio materno, sendo o primeiro estágio no desenvolvimento das vilosidades coriônicas (18).

À medida que a gestação avança, as vilosidades crescem de forma arborizada e de forma assimétrica. Os vasos sanguíneos fetais vão surgindo dentro das vilosidades e tornam-se mais proeminentes. Com o amadurecimento da placenta e consequente avanço da gestação, as vilosidades coriônicas tornam-se cada vez mais vascularizadas (19).

O sangue fetal circula pelas artérias e vénulas umbilicais, que se ramificam para as vilosidades coriônicas. O sangue materno, circulando em artérias e veias maternas, entra no espaço intervilositário (16).

As vilosidades coriônicas (Figura 3) desempenham um papel importante no âmbito das trocas materno-fetais.

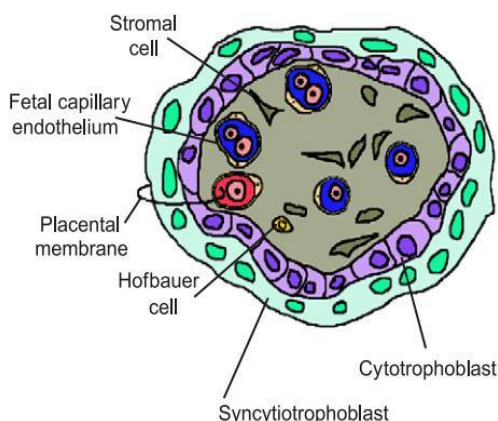


Figura 3 - Representação esquemática das vilosidades coriônicas placentárias.
Adaptado de Gude NM, et al.2004 (16)

Uma vez que o sangue materno e o sangue fetal não entram em contacto, as trocas são realizadas, maioritariamente, nas extremidades das vilosidades coriônicas, existindo diferentes subcamadas de células a separá-los. Externamente encontra-se o sinciotrofoblasto que está diretamente em contato com o sangue materno, mais internamente existe uma camada de citotrofoblastos, seguindo-se as células do tecido conjuntivo das vilosidades e o endotélio que reveste os capilares fetais (16).

Como demonstra o esquema da Figura 4, a estrutura das vilosidades coriônicas sofre modificações durante a gravidez. Na 16 semana ocorre uma redução na espessura, que se deve ao desaparecimento em parte do citotrofoblasto. Assim, durante o desenvolvimento placentário, os citotrofoblastos da camada mais interna da vilosidade, deixam de formar uma camada contínua e assim a distância de difusão entre as circulações materna e fetal vai sendo reduzida progressivamente (16,20).

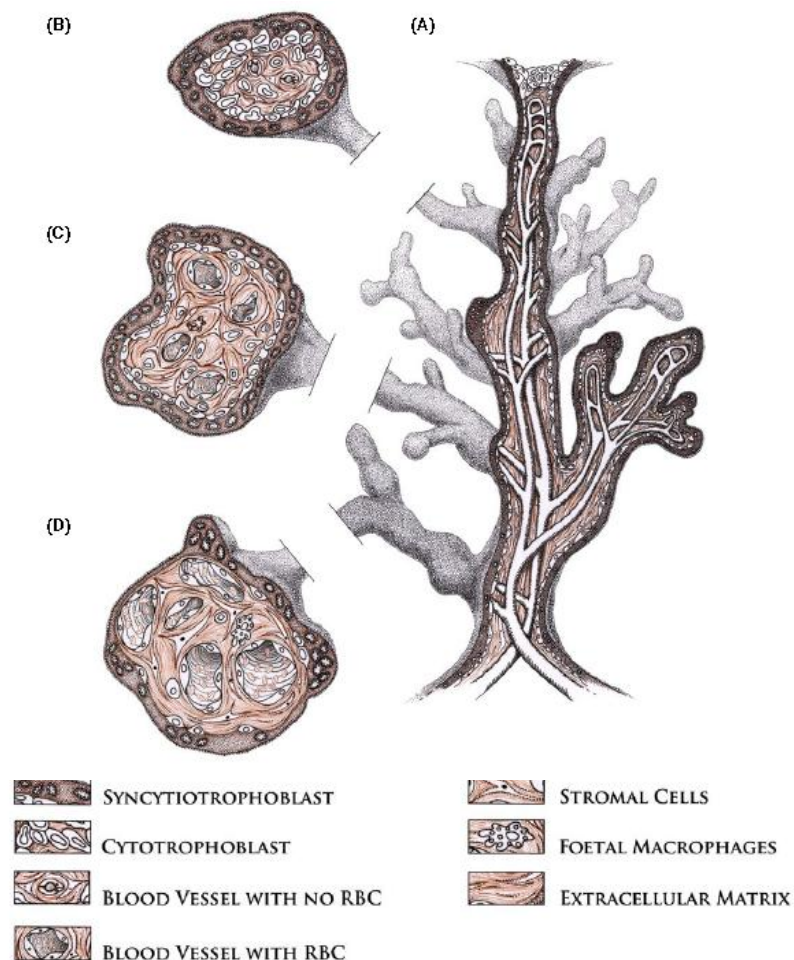


Figura 4 – Desenvolvimento das vilosidades coriônicas placentárias.

A) Arborização das vilosidades coriônicas B) Vilosidades coriônicas primeiro-trimestre

C) Vilosidades coriônicas segundo-trimestre D) Vilosidades coriônicas terceiro-trimestre.

Retirado de Sultana Z, et al.2017 (19)

Em termos de transporte através da placenta, uma molécula para atingir o sangue fetal a partir do sangue materno tem de ultrapassar a barreira placentária constituída pelo sinciciotrofoblasto, a matriz da vilosidade e o endotélio do capilar fetal. A passagem está dependente de algumas características físico-químicas, tais como o tamanho, o grau de ionização e a solubilidade lipídica. Na placenta são expressos transportadores que podem estar envolvidos em processos de transporte ativo ou facilitado. O processo de difusão facilitada não requer energia pois segue um gradiente de concentração, enquanto os transportadores ativos requerem energia para o seu funcionamento, uma vez que funcionam contra o gradiente de concentração. A existência de transportadores garante a passagem de substâncias que não entram por difusão simples, nomeadamente alguns nutrientes essenciais ao desenvolvimento do feto.

2.2 A placenta e o transporte de nutrientes

A placenta é responsável pelo transporte de nutrientes que é dependente de diversos fatores, como o fluxo sanguíneo uteroplacentário e umbilical, a área disponível, o metabolismo e atividade placentária, bem como da expressão de proteínas transmembranares da barreira placentária. Estes fatores, para além de influenciarem e determinarem o transporte de nutrientes, participam no desenvolvimento estrutural e funcional da placenta, influenciando o seu tamanho, morfologia e vascularização (21-23).

O crescimento fetal é regulado pela atividade dos transportadores de nutrientes na placenta, sendo as alterações nas condições maternas placentárias um dos principais fatores de desenvolvimento de subnutrição do feto. Vários estudos realizados apontam para uma relação entre a nutrição materna e o peso e tamanho do recém-nascido, tendo sido evidenciada uma correlação positiva na proporção de calorias ingeridas e o peso ao nascimento. Assim, a alimentação durante a gestação determina a saúde futura do filho (24).

A placenta apresenta vários transportadores que facilitam a transferência de nutrientes para o embrião e exportam os produtos do seu metabolismo para a mãe. Tanto o sincitiotrofoblasto como o endotélio dos capilares fetais expressam diversos transportadores (Figura 5).

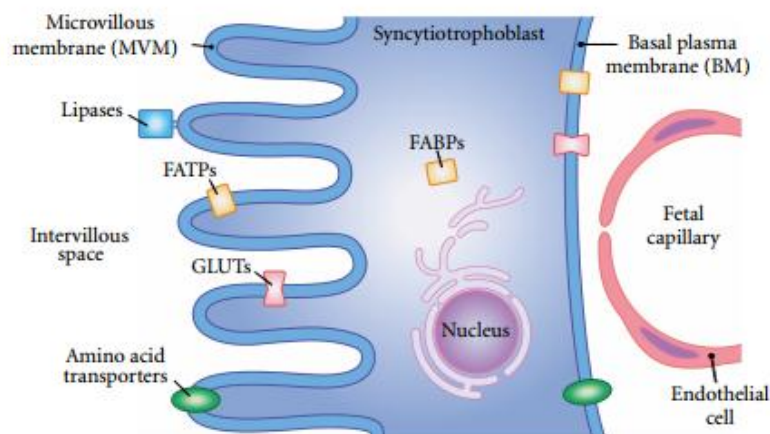


Figura 5 - Representação esquemática da barreira sincitiotrofoblástica.

MVM - membrana microvilositária; MB - membrana basolateral;

Retirado de Lager S and Powell TL. 2012 (21)

No sinciotrofoblasto os transportadores encontram-se tanto na membrana apical, a membrana microvilositária (MVM) (em contacto com a circulação materna), como na basolateral (MB) (orientada para a circulação fetal), onde transferem os compostos para dentro ou para fora do sinciotrofoblasto, *sendo regulados por sinais maternos, placentários e fetais*. Através da placenta são transportados glucose, aminoácidos, ácidos gordos, iões e gases (oxigénio e dióxido de carbono) (21,25).

O transporte transplacentário de nutrientes é de particular importância para assegurar um crescimento e desenvolvimento fetal adequado (26). Além disso, mudanças na capacidade de transporte de nutrientes foram associadas a tamanho e peso anormais ao nascimento, que, como proposto por Baker (27) são ambos determinantes principais da morbidade e mortalidade perinatais e, mais tarde, do desenvolvimento de doenças cardiovasculares e metabólicas (21,27).

2.2.1 Transporte de aminoácidos

Os aminoácidos, substratos importantes e necessários para a síntese de proteínas e ácidos nucleicos, são transportados mediante um transporte ativo, daí que as concentrações plasmáticas da maioria dos aminoácidos são mais elevadas no feto do que na mãe (28).

O transporte destes aminoácidos é realizado pelos transportadores de aminoácidos do sinciotrofoblasto, localizados na membrana microvilositária e na membrana basolateral. *Existem duas classes principais de transportadores de aminoácidos, o transportador cumulativo e o sistema de permuta de aminoácidos. O transportador cumulativo medeia o transporte de aminoácidos pelo seu influxo, elevando a sua concentração dentro da célula. O sistema de permuta de aminoácidos baseia-se na troca de aminoácidos, em que um aminoácido entra no meio intracelular quando outro sai do seu interior* (21,29).

Muitos aminoácidos são transportados nas duas direções, possuindo um transporte bidirecional, como o glutamato. Este aminoácido é libertado pelo feto na placenta, onde é transformado em glutamina. Posteriormente, a glutamina regressa ao feto e é usada como fonte de energia (21,30).

A placenta humana também é reconhecida como um órgão capaz de sintetizar e degradar aminoácidos. Estes são essenciais para o crescimento normal fetal. Níveis

reduzidos de aminoácidos ou alterações na capacidade dos sistemas de transporte da placenta, do metabolismo ou do fluxo sanguíneo são fatores que comprometem o crescimento fetal (31).

2.2.2 Transporte de ácidos gordos

Os ácidos gordos possuem diversas propriedades importantes a nível fisiológico. Para além de serem componentes da estrutura das membranas celulares, participam no desenvolvimento dos órgãos e tecidos. Os ácidos gordos provêm de fonte materna como ácidos gordos não esterificados (NEFAS) e ácidos gordos esterificados em triglicerídeos. No entanto, são os triglicerídeos a fonte primária de ácidos gordos no final da gestação.

A placenta expressa diversas lípases como por exemplo a lipoproteína lípase (LPL) e a lípase endotelial (LE), que são responsáveis pela lise dos ácidos gordos sob a forma de triglicerídeos, transformando-os em NEFAS (21,32).

As proteínas de transporte de ácidos gordos (FATP) são compostas por seis membros, sendo cinco expressos na placenta humana, a FATP1-4 e a FATP6. Estas são responsáveis pelo transporte de ácidos gordos, estando localizadas nas membranas do sinciotrofoblasto. Relativamente aos membros da família FATP, a FATP-1 está localizada na membrana microvilositária e na membrana basal (21,32).

As proteínas de ligação a ácidos gordos (FABP) possuem diversas isoformas, sendo expressas na placenta humana, a FABP1 e FABP3-5. Estas proteínas encontram-se no citosol dos sinciotrofoblastos. Em gravidezes complicadas, a placenta expressa um nível aumentado de FABP-1, estando associada com um aumento da LPL, contribuindo assim para a acumulação de gordura.

2.2.3 Transporte de glicose

A glicose é o principal substrato energético para a unidade feto-placentária e juntamente com os aminoácidos constitui o principal estímulo para a secreção fetal da hormona insulina promotora do crescimento. No entanto, a produção fetal de glicose é mínima, sendo necessário o aporte materno deste nutriente (21). A concentração materna de glicose é mais elevada que a concentração fetal, permitindo que o fluxo global deste nutriente siga um gradiente de concentração materno-fetal. A passagem transplacentária de glicose é realizada por difusão facilitada através de proteínas transportadoras específicas de glicose, os transportadores facilitativos de glicose (GLUTs) expressos nos sinciotrofoblastos (30,34-35).

A família GLUT, responsável pelo transporte de glicose, contém 14 membros, entre os quais o GLUT-1, -3 -4 e -12 expressos na placenta humana. No entanto o GLUT-1 é considerado o principal transportador da glicose na placenta (36),(37). Este é regulado pelas concentrações ambientais de glicose. No sinciotrofoblasto o GLUT-1 é expresso nas duas membranas, embora seja na membrana microvilositária que ele se encontra em concentrações superiores, atingindo uma densidade máxima na primeira metade da gravidez (30,34,38). A expressão do GLUT-1 no sinciotrofoblasto é assimétrica, com uma maior expressão na MVM, onde assegura que a glicose é transportada desde a circulação materna para a circulação fetal (37).

O GLUT-3, GLUT-4 e GLUT-12 têm um padrão de expressão mais restrito, possuindo funções mais especializadas, exercendo as suas ações sobretudo no 1º trimestre de gestação. O GLUT-3 é um transportador de alta afinidade, encontrando-se no endotélio dos vasos fetais e em células de estroma. Os transportadores GLUT-4 e GLUT-12 são dependentes da ação da insulina (34,38,39).

Alterações no transporte placentário e metabolismo da glicose foram relatadas em distúrbios da gravidez associados com o excesso de crescimento fetal (37,40,41). Em mulheres com DM1 e DG, a expressão e a atividade do GLUT-1 mostraram-se aumentadas no sinciotrofoblasto (37,42).

2.2.4 A placenta e suas principais hormonas

A placenta humana é um importante órgão endócrino. A placenta tem a capacidade de secretar importantes mediadores durante a gravidez (21,23), como diversas hormonas (estrogénios, progesterona, gonadotrofina coriónica humana e lactogénio placentário), fatores de crescimento (fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento semelhante à insulina tipo I e II e fatores derivados de plaquetas), citocinas eicosanóides e diversas proteínas (16).

A placenta é a principal fonte de produção de progesterona e estrogénios. Os estrogénios (estradiol, estrona e estriol) são essenciais como fatores de crescimento, nomeadamente nos órgãos reprodutivos, colo do útero e seios. Estes promovem a proliferação das células do endométrio, de modo a prepará-lo para a gravidez. Quanto à progesterona, esta hormona, promove um ambiente favorável para a implantação do embrião, sendo responsável pela manutenção da gravidez e impedimento da contração uterina (16,43).

A gonadotrofina coriónica humana (hCG) é produzida pelo trofoblasto e secretada na circulação materna. Esta glicoproteína atinge o seu pico máximo no início da gravidez (16,44).

O lactogénio placentário humano (hPL) é sintetizado pelo sinciciotrofoblasto e é libertado simultaneamente na circulação materna e fetal. Esta hormona exerce a sua função na modulação embrionária, estimula a produção de fatores de crescimento semelhantes à insulina (16,44).

3. HOMEOSTASIA DA GLICOSE

A glicose é um substrato importante para o Homem, encontrando-se numa faixa de concentrações relativamente estreita e constante em indivíduos saudáveis. A homeostasia da glicose é regida pelo equilíbrio entre a sua produção no fígado, a absorção pelo intestino e o seu metabolismo nos tecidos periféricos (45).

Este substrato possui transportadores específicos, os transportadores dependentes de sódio (SGLT) e os transportadores independentes de sódio (GLUTs). Os GLUTs, definidos com transportadores facilitadores de glicose, estão amplamente estudados, possuindo especificidades e propriedades diferentes, e estão agrupados em três subclasses, a classe I, II e III (Tabela 1).

Tabela 1 – Transportadores de glicose da família GLUT

Isoform	Previous name	Class	Main tissue localization	Insulin sensitive?	Functional characteristics (transport)
GLUT1	–	I	Erythrocytes, brain, ubiquitous	No	Glucose
GLUT2	–	I	Liver, pancreas, intestine, kidney	No	Glucose (low affinity); fructose
GLUT3	–	I	Brain	No	Glucose (high affinity)
GLUT4	–	I	Heart, muscle, WAT, BAT, brain	Yes	Glucose (high affinity)
GLUT5		II	Intestine, testes, kidney	No	Fructose; glucose (very low affinity)
GLUT6	GLUT 9	III	Brain, spleen, leucocytes	No	Glucose
GLUT7		II	n.d.	n.d.	n.d.
GLUT8	GLUT X1	III	Testes, brain and other tissues	No (yes in blastocytes)	Glucose
GLUT9	GLUT X	II	Liver, kidney	n.d.	n.d.
GLUT10		III	Liver, pancreas	No	Glucose
GLUT11†	GLUT 10	II	Heart, muscle	No	Glucose (low affinity); Fructose (long form)
GLUT12	GLUT 8	III	Heart, prostate, muscle, small intestine, WAT	Yes	n.d.
HMIT		III	Brain	n.d.	H ⁺ –myo-inositol

WAT, white adipose tissue; BAT, brown adipose tissue; m, mRNA only; n.d., not determined; HMIT, H⁺-coupled myo-inositol transport.
 * The presence of each transporter in skeletal muscle and WAT is shown since these are the major sites of insulin-stimulated glucose transport.
 † GLUT11 occurs in two splice variants: a short form (low-affinity glucose transport) and a long form (which may be a fructose transporter).

As três classes de proteínas GLUT estão codificadas por cores:

azul: classe I; vermelho: classe II e verde: classe III.

Retirado de Wood IS and Trayhurn P. 2003 (13)

A classe I inclui quatro GLUTs, desde o GLUT-1 ao GLUT-4. Estes estão caracterizados em termos de estrutura, função e localização. O GLUT-1 encontra-se

maioritariamente no cérebro e eritrócitos, o GLUT-2 encontra-se principalmente no hepatócito, o GLUT-3 está confinado ao cérebro e o GLUT-4 é expresso no coração, músculo-esquelético e tecido adiposo. Este último responde à hormona insulina (13).

A classe II inclui o GLUT-5, GLUT-7, GLUT-9 e GLUT-11, estando amplamente distribuídos no organismo. O GLUT-5 é expresso no intestino, testículos e rins, o GLUT-9 encontra-se maioritariamente no fígado e rins, o GLUT-11, existindo em duas formas, é encontrado no fígado, pulmão, traqueia e cérebro e o GLUT-9 é o menos conhecido desta família. Esta classe não se encontra ainda bem definida em termos de funcionalidades destes transportadores (13).

A classe III compreende cinco membros, o GLUT-6, GLUT-8, GLUT-10, GLUT-12 e HMIT, sendo comum entre eles o local de glicosilação. O GLUT-12 também responde à ação da insulina (13).

A insulina, hormona secretada pelas células beta do pâncreas, é responsável pela promoção da entrada de glicose nas células e é essencial para a homeostasia da glicose sanguínea. Deste modo, para além de facilitar a entrada nas células, ela exerce a sua ação no metabolismo pela redução da produção de glicose hepática, diminuindo a gliconeogénese e glicogenólise (46). A insulina é produzida em resposta a concentrações elevadas de glicose no sangue e atua por ligação a um recetor, o recetor de insulina, em diversas células, principalmente no tecido hepático, muscular e adiposo (35).

A necessidade diária de insulina divide-se em três categorias: insulina basal, que responde à produção endógena de glicose durante o jejum e entre refeições, maioritariamente assegurada pela glicogenólise e neoglicogénese hepáticas; insulina pré-prandial, que responde à ingestão alimentar e insulina de correção, que consiste no ajuste em função da glicemia num determinado momento.

A diabetes gestacional é caracterizada pela hiperglicemia, um aumento de glicose no sangue detetado durante a gravidez. Esta patologia é definida como uma intolerância, de grau variável, à glicose (47-48).

O desenvolvimento da DG ocorre quando o pâncreas de uma mulher grávida é impossibilitado de secretar insulina, uma vez que a secreção de insulina não acompanha o *stress* metabólico da grávida, gera-se um estado de intolerância à glicose, desenvolvendo-se a DG (47).

Inerentes à patologia estão diversos fatores de risco implicados que predispõem ao aparecimento deste estado de intolerância à glicose. A obesidade durante a gravidez é um dos fatores mais apontados em diversos estudos e é desencadeante de diversas situações patológicas, como pré-eclampsia, distúrbios cardiovasculares e metabólicos (10).

A avaliação dos diferentes riscos associados à DG envolve a avaliação das características maternas, nomeadamente idade materna, índice de massa corporal, história familiar de diabetes, marcadores bioquímicos, bem como características fisiológicas, incluindo a etnia e DG em gravidez anterior (11).

4. ETIOLOGIA DA DIABETES GESTACIONAL

4.1 Alterações do metabolismo na grávida

Em relação ao metabolismo lipídico, no terceiro trimestre estão descritas interações específicas entre recetores de lipoproteínas, lípases e proteínas transportadoras de ácidos gordos na placenta, que permitem a transferência de triglicerídeos e colesterol para o feto. Por outro lado, verifica-se um aumento dos triglicerídeos, colesterol e lipoproteínas maternos.

Quanto ao metabolismo dos hidratos de carbono durante a gestação, desenvolve-se um processo fisiológico de insulino-resistência, mediado diretamente pela ação da progesterona e estrogénios, e indiretamente pelo lactogénio placentário, prolactina e cortisol, atuando como antagonistas da insulina. O aumento da insulino-resistência coincide com o pico de progesterona e da hCG.

A insulina, através da ligação ao seu recetor na placenta, desencadeia vários processos intracelulares, levando à captação de glicose. Estes processos decorrem pela fosforilação e ativação de cascatas de sinalização, onde se incluem proteínas, enzimas e os recetores de insulina. O processo de entrada de glicose envolve assim uma cascata de sinalização, onde qualquer falha poderá originar o estado de resistência à insulina (35,49,50).

Na placenta, mediante a ligação da insulina ao recetor, podem ser ativadas duas vias de sinalização celular, a RAS-ERK e a IRS-PI3k-Akt-mTOR (Figura 6) (50).

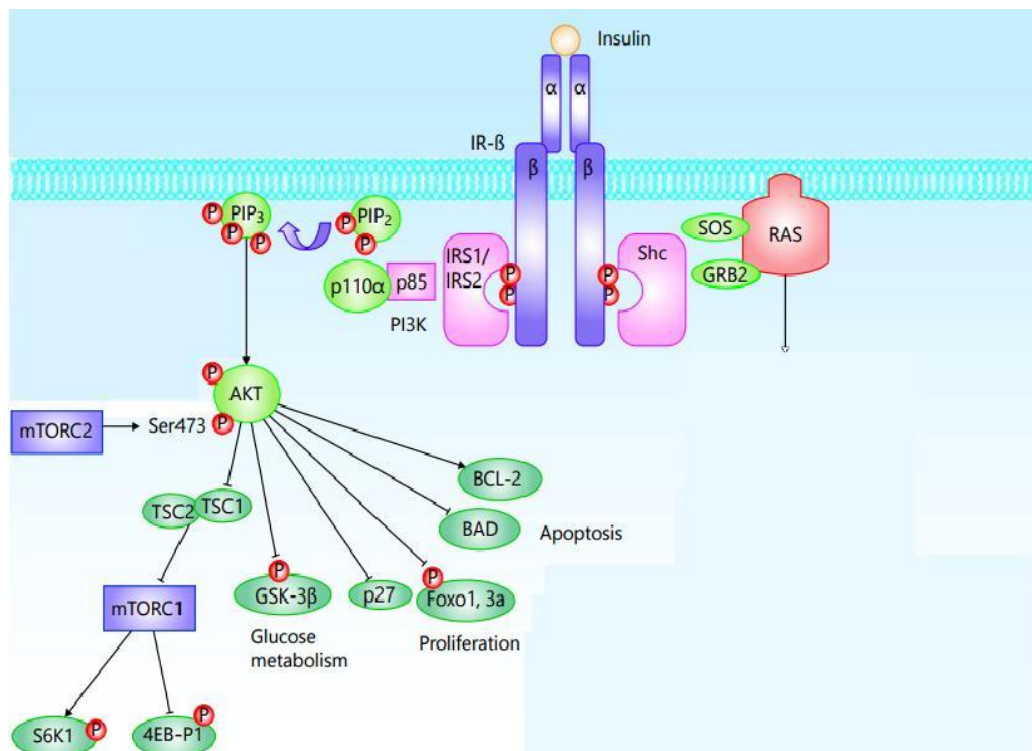


Figura 6 - Vias de sinalização da insulina

Adaptado de Ruiz-Palacios M et al. 2017 (50)

Estas são as principais vias descritas na placenta, onde a via PI3K-Akt-mTOR é a responsável pelo metabolismo nutricional, proliferação celular e apoptose, sendo esta via a mais relacionada com os mecanismos de resistência à insulina. A via RAS-ERK está relacionada com a proliferação celular (50).

O recetor de insulina é constituído por duas subunidades alfa e duas subunidades beta. Estas encontram-se ligadas por pontes dissulfureto, e enquanto que as subunidades alfa se encontram no domínio extracelular as subunidades beta existem num domínio transmembranar. A insulina quando se liga às subunidades alfa faz ativar as subunidades beta, onde existem tirosinas capazes de serem fosforiladas. No entanto, para além da fosforilação de resíduos de tirosina, membros do substrato do recetor de insulina, o IRS1-4 também o são. Esta fosforilação leva à ativação de proteínas importantes, como a subunidade reguladora do fosfatidilinositol de tipo 1, a 3-cinase (PI 3-cinase) (46).

A proteína cinase B (Akt) desencadeia a translocação do transportador da glicose GLUT-4 do citoplasma para a membrana de tecidos periféricos, levando à captação e transporte de glicose. Paralelamente, a Akt ativa o mTOR, sendo este uma cascata extremamente sensível aos nutrientes. Este envolve a regulação de uma série de

mediadores, incluindo a sobrevivência, crescimento, metabolismo, proliferação e autofagia (50).

A Akt pode ser inibida mediante o complexo mTORC1, pela obesidade e consequente excesso de nutrientes. Esta situação desencadearia uma resistência à insulina na placenta. Embora possa acontecer em qualquer ponto desta cascata, a resistência tem-se verificado fundamentalmente na redução de fosforilação do recetor de insulina (49-50).

Na mulher grávida, entre as 18 e 28 semanas de gestação, ocorre uma redução da sensibilidade à insulina, provocada, para além da redução da fosforilação dos recetores de insulina, também por inúmeras hormonas e proteínas. Deste modo, proteínas, como anexinas (proteínas multifuncionais, capazes de se ligar aos fosfolípidos) que estão envolvidas em diversas patologias, como doenças cardiovasculares, inflamação e doenças neoplásicas (51), são encontradas sobre-expressas em placentas de mulheres com DG, bloqueando as vias da insulina em diversos níveis e provocando a resistência. O lactogénio placentário, é também responsável pela indução de resistência periférica à insulina (35,50,52).

Paralelamente a estes fatores intrinsecamente ligados à resistência à insulina, o tecido esquelético e o tecido adiposo são os principais responsáveis pela deposição de glicose e consequente causa de resistência a esta hormona (52).

A resistência à insulina durante o processo de gravidez é multifatorial, envolvendo a diminuição da capacidade de fosforilação do recetor de insulina, diminuição da fosforilação do IRS1-4, não ativação da subunidade PL3 cinase, fatores hormonais envolvidos na gestação, bem como determinadas condições maternas, como a obesidade. Estes fatores são sinérgicos no desenvolvimento de uma gravidez com resistência à insulina (52).

Várias hormonas estão implicadas, como a hormona de crescimento placentário humano (hPGH), o lactogénio placentário humano, o cortisol, a prolactina, a progesterona e os estrogénios. Estas hormonas são responsáveis pela indução da resistência à insulina, diminuindo o *uptake* da glicose pela mãe e fazendo com que fique disponível para o feto. Este estado de hiperglicemia leva a que seja necessária a produção de níveis mais elevados de insulina (53-55).

4.2. Mediadores pró-inflamatórios

O tecido adiposo possui um papel significativo no processo de gestação, uma vez que é responsável pela produção de diversas citocinas, como as adipocitocinas. As adipocitocinas são citocinas secretadas pelo tecido adiposo visceral abdominal e desempenham um papel importante na homeostasia da degradação lipídica, controle da pressão arterial, angiogénese e sensibilidade à insulina. Algumas adipocitocinas também participam na resposta imune e inflamatória (56). As principais citocinas envolvidas no processo de desenvolvimento da DG são a adiponectina, leptina, interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral (TNF - α).

Com exceção da adiponectina que exibe uma ação protetora, as citocinas secretadas contribuem para um processo inflamatório, em que, quanto maior a extensão do tecido adiposo e o grau de obesidade, maior a contribuição para o processo inflamatório e para o desequilíbrio metabólico. Na DG os níveis destas citocinas estão aumentados como resultado do *stress* oxidativo e das alterações inflamatórias induzidas pela hiperglicemia. No sistema imunológico, a gravidez em indivíduos obesos desencadeia um estado de inflamação e um desequilíbrio na produção de citocinas, ocorrendo uma produção mais acentuada do perfil de citocinas pró-inflamatórias (57).

○ ADIPONECTINA

A adiponectina desempenha um papel importante na sensibilidade à insulina e no processo inflamatório. Esta atua sobre o fígado e músculo-esquelético, melhorando a ação da insulina, bem como promove a diminuição da inflamação a nível vascular. O nível sérico desta adipocitocina está inversamente relacionado com a obesidade, hipertensão e perfil lipídico. Assim, níveis diminuídos da adiponectina correlacionam-se com uma diminuição da sensibilidade à insulina (56).

○ LEPTINA

A leptina, produzida nos adipócitos, ovários e placenta, desempenha um papel importante na regulação do apetite e do metabolismo. A concentração sérica da leptina encontra-se aumentada durante a gravidez já que a placenta também produz leptina e diminui após o nascimento, revelando-se como um fator importante durante a gestação uma vez que participa nos processos de angiogénese, no crescimento da placenta e na transferência de nutrientes e na manutenção da homeostasia energética (56).

- **INTERLEUCINA-6**

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória produzida por monócitos e macrófagos do tecido adiposo. Esta citocina exerce ações pró-inflamatórias, modula a função das células beta e as vias de sinalização da insulina, provocando a resistência (54,56,58).

- **FATOR DE NECROSE TUMORAL**

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória produzida pelos monócitos e macrófagos do tecido adiposo. O TNF- α inibe a secreção de insulina pelas células beta pancreáticas. Vários estudos apontam para que os níveis desta citocina, juntamente com a IL-6, estejam numa relação inversa com a sensibilidade à insulina, (54,56,58).

A gravidez induz um estado inflamatório e um agravamento da resistência à insulina, podendo ser exacerbada pela obesidade e ganho de peso gestacional, resultando no desenvolvimento da DG (58).

Diversos estudos mostram evidências que a patogénese da DG se desenvolve por uma interação entre estas diferentes citocinas, onde os níveis de TNF- α e IL-6 se encontram elevados, concomitantemente com a leptina. Contrariamente, a adiponectina, sendo uma citocina sensibilizante à insulina, encontra-se em níveis reduzidos na DG (Figura 7) (12,59,60).

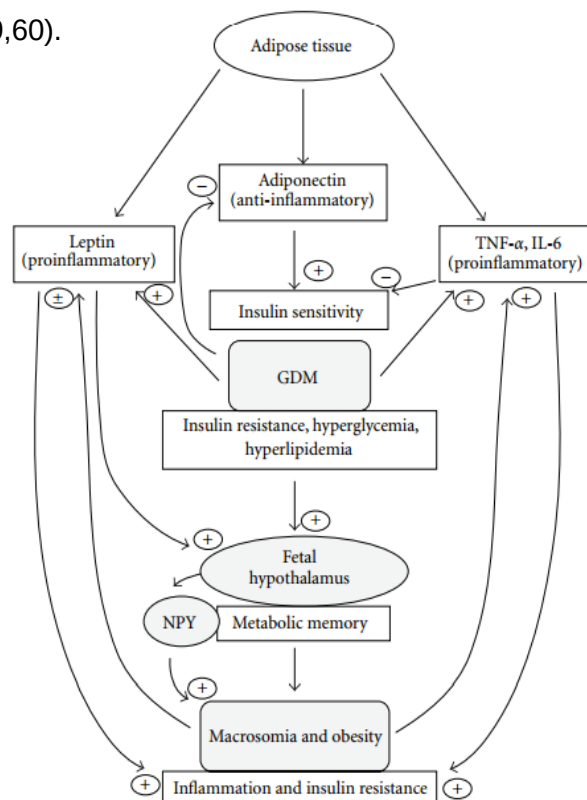


Figura 7 – Diabetes gestacional e a interação entre as diversas citocinas
Retirado de Yessoufou A and Moutairou K. 2011(12)

Os níveis elevados de glicose induzem um estado de *stress* oxidativo, levando à produção de radicais de oxigénio altamente reativos. Estes tornam-se tóxicos para as células, particularmente para as membranas plasmáticas, onde interagem com a bicamada fosfolipídica (12).

A macrosomia, resultando de um excesso de nutrientes, como a glicose, predispõe o recém-nascido a um aumento da auto-oxidação e glicação de proteínas, gerando radicais livres que induzem a peroxidação lipídica. Estes desenvolvimentos levam a uma alteração do estado de defesa antioxidante, em que enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e determinadas vitaminas, se encontram deficitárias (12,61).

A DG e consequente macrosomia são reportados como causadores de uma falha de atividade das enzimas antioxidantes, bem como de uma elevada concentração de substâncias reativas (61).

5. FATORES DE RISCO

Existem vários fatores de risco associados ao desenvolvimento da DG. Vários estudos apontam um conjunto de fatores como a suscetibilidade genética, influências do meio ambiente ao longo do tempo (estilo de vida, alimentação e exercício) e ambiente fetal que contribuem para o aparecimento da diabetes durante a gestação. A associação entre eles predispõe a mulher grávida ao desenvolvimento de DG (Figura 8) (62-63).



Figura 8– Fatores de risco maternos associados à diabetes gestacional

Adaptado de *Castillo-Castrejon M and Powell TL. 2017 (14)*

5.1. Fatores Genéticos e Etnias

A DG tem uma componente genética associada, indicando que algumas populações poderão ser mais suscetíveis que outras para o surgimento desta patologia. Alguns estudos mostraram evidências de genes envolvidos na patogénese da resistência à insulina, como os relacionados com as adipocitocinas, recetores da melatonina e prolactina. Todos estes genes estão envolvidos na regulação da homeostasia da glicose (62,64). Por outro lado, a DG pode ser considerada uma doença poligénica, uma vez que são vários os genes que afetam a predisposição para o desenvolvimento desta patologia. Vários genes foram estudados, nomeadamente os relacionados com a secreção de insulina, os genes de insulina e seus recetores, genes causadores de resistência à insulina, entre outros. A seguinte tabela evidencia os genes estudados que demonstraram associação com a DG (Tabela 2) (65).

Tabela 2 – Genes e a sua associação com diabetes gestacional

Genes relacionados com a secreção de insulina
<i>ABCC8</i> (ATP-binding cassette transporter sub-family C member 8)
<i>KCNJ11</i> (potassium voltage-gated channel subfamily J member 11)
<i>MT-ND1</i> (mitochondrial NADH dehydrogenase-1)
<i>TCF7L2</i> (transcription factor 7-like2)
<i>GCK</i> (glucokinase)
Genes de insulina e seus recetores
<i>INSR</i> (Insulin receptor)
<i>IGF2</i> (Insulin-like growth factor-2)
<i>IGF2BP2</i> (Insulin-like growth factor-2 mRNA-binding protein-2)
Outros genes
<i>HLA</i> (human leukocyte antigen)
<i>HFE</i> (Haemochromatosis)
<i>MBL2</i> (Mannose-binding lectin 2)

Adaptado de *Mirghani Dirar A and Doupis J. 2017* (65)

Alguns estudos demonstraram outro parâmetro relacionado com o desenvolvimento da DG, a etnia. Embora a comparação entre países seja difícil, devido a diferentes diretrizes de diagnóstico e grupos populacionais, vários são os trabalhos que apontam as

mulheres asiáticas como possuidoras de uma maior prevalência de DG em comparação com mulheres caucasianas, ambas detentoras de igual IMC. Este aspeto mostra uma possível deficiência no âmbito das células beta pancreáticas, evidenciando uma relação multifatorial (66-67).

Inerente aos fatores de risco derivados da condição materna, existem outros fatores que são apontados como potenciadores para o desenvolvimento da DG, como a idade da grávida, apresentação de uma baixa estatura, obesidade, definida com o IMC ($[IMC] > 30 \text{ kg/m}^2$), o seu peso inicial, bem como o ganho durante a gestação e a existência de gravidez anterior com DG (62,68,69).

5.2 Condições patológicas associadas

Determinadas condições patológicas estão fortemente relacionadas com este distúrbio metabólico, como a obesidade já referida anteriormente e o Síndrome do Ovário Policístico. Esta desordem endócrina é muito comum em mulheres em idade reprodutiva, sendo caracterizada por distúrbios de ovulação, morfologia ovárica policística e excesso de androgénios. Este síndrome é um risco primário que, para além de potenciar o desenvolvimento de pré-eclampsia e parto prematuro, aumenta a probabilidade de desenvolvimento de DG (70-72).

O Síndrome do Ovário Policístico, para além de potenciar o desenvolvimento de DG e várias complicações, está implicado no aparecimento de DM2 (73-74).

6. IMPLICAÇÕES PARA A MÃE E PARA O FILHO

6.1 Implicações maternas

A DG tem um grande impacto na saúde materno-infantil, trazendo consigo consequências graves e duradouras sobre a saúde da mãe e da criança. A DG predispõe as mulheres a diversos resultados adversos que se manifestam a curto e a longo prazo (75).

A mulher grávida com diabetes gestacional está sujeita a complicações, como, parto prematuro, aborto espontâneo e retardamento do crescimento intra-uterino, sendo que a pré-eclampsia nesta população é duas a quatro vezes superior à das grávidas não diabéticas (62,76). A pré-eclampsia é uma patologia responsável pela morbidade e mortalidade materna e fetal. Esta condição desencadeia um *stress* oxidativo na placenta com libertação de fatores inflamatórios que origina disfunção das células endoteliais, hipertensão e proteinúria. No entanto, embora a pré-eclampsia se resolva após o parto, as mulheres com histórico desta patologia apresentam uma maior probabilidade de desenvolverem complicações cardiovasculares, como doença cardíaca isquêmica, acidente vascular cerebral, doença arterial periférica e enfarte do miocárdio (77-78).

O aumento do crescimento fetal reflete-se em macrosomia e recém-nascidos grandes para a idade gestacional (GIG). Quando existe um quadro de macrosomia fetal, existem algumas consequências maternas como o aumento da taxa de cesarianas em relação à da população geral, hemorragias do trato genital e laceração do tecido vaginal (79).

Num futuro próximo, a grávida poderá vir a desenvolver, diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), Síndrome Metabólica e, caso engravide novamente, diabetes gestacional mais uma vez. Outras consequências possíveis são o aumento do risco de doenças cardiovasculares e doenças vasculares cerebrais, aumento da pressão arterial, hiperglicemia, aumento dos níveis de colesterol total, aumento dos triglicerídeos e défice do colesterol-HDL (80-83).

Por outro lado, as mulheres com antecedentes de condições adversas, como hipertensão, dislipidemia, obesidade e intolerância à glicose podem desenvolver durante a gravidez determinadas situações, como pré-eclampsia, DG, recém-nascido com tamanho inferior para idade de gestação e parto prematuro. Estas situações potenciam o desenvolvimento de fatores de risco cárdio-metabólicos a longo prazo (Figura 9) (84-85).

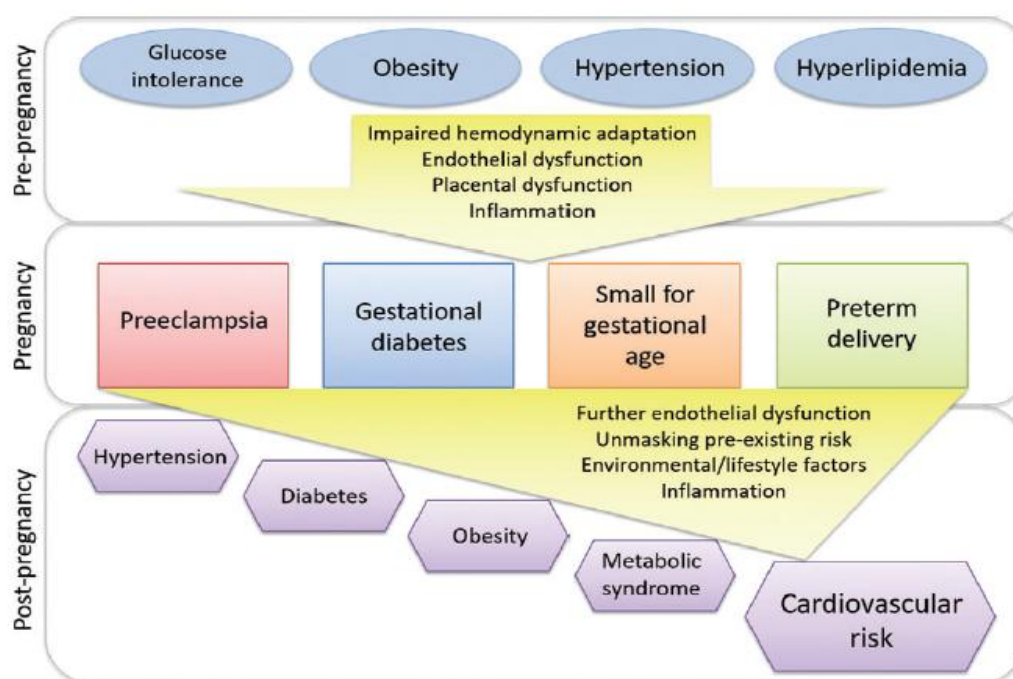


Figura 9 - Associação entre fatores de risco na pré-gravidez, resultados da gravidez e pós-gravidez

Retirado de Hauspurg A et al. 2018 (84)

6.2. Implicações fetais

A exposição do feto a um ambiente intra-uterino modificado pela DG reflete-se em taxas superiores de morbidade e mortalidade fetal e maior incidência de distúrbios metabólicos a curto e a longo prazo. Dependendo do grau de hiperglicemia materna, as consequências podem ser várias, desde macrosomia a hipoglicemia neonatal (86).

Uma das complicações é a ocorrência de um parto prematuro com envolvimento de dificuldades respiratórias, complicações na alimentação, infecções e icterícia neonatal (79).

Os recém-nascidos apresentam um aumento do crescimento fetal que se deve, em parte, ao aumento de disponibilidade de glicose materna. Como resultado, face à hiperglicemia fetal que se desenvolve, o pâncreas fetal, embora imaturo, é capaz de produzir níveis elevados de insulina. Consequentemente, a mulher grávida tem uma elevada probabilidade de o seu filho nascer com hipoglicemia, face à insulina excessiva produzida pelo pâncreas fetal (Figura 10) (86-87).

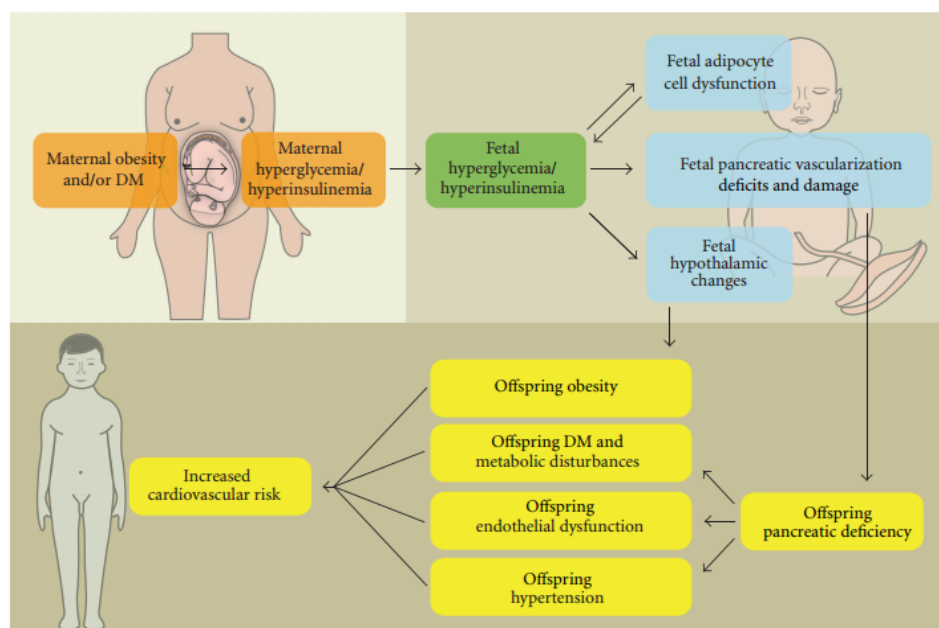


Figura 10 - Hiperglicemia materna e consequente hiperglicemia fetal e hiperinsulinemia

Retirado de *Vrchnis N et al. 2012 (86)*

A exposição a um ambiente fetal adverso predispõe ao desenvolvimento de complicações durante a vida fetal e pós-natal. Vários estudos clínicos comprovaram que a diabetes pré-existente, tipo 1 e tipo 2, bem como a DG, estão associadas a um maior risco de supernutrição fetal, resultando num estado macrossômico fetal (12) .

A macrossomia induz ainda uma alteração no metabolismo lipídico fetal, uma vez que os recém-nascidos apresentam níveis elevados de triglicerídeos e colesterol plasmático, em comparação com crianças nascidas de mulheres com ausência de DG. Como já referido a macrossomia contribui para o desenvolvimento de complicações no parto, como distócia de ombros, paralisias e lesões dos nervos (parto traumático) (12-54). Em recém-nascidos com peso superior a 4500g existe um risco elevado de ocorrer um parto traumático, aumentando em 20% o risco de lesão do plexo branquial (79).

A diabetes gestacional potencia o risco de desenvolvimento de malformações congénitas (Tabela 3), como defeitos cardíacos, gastrointestinais, no sistema nervoso central e ocorrência da fissura palatina (88).

Tabela 3 – Manifestações Congénitas em filhos de mãe com DG

Sistemas	Manifestações
Neurológico	Anencefalia, microcefalia, holoprosencefalia, defeitos do tubo neural
Cardiovascular	Transposição grandes vasos, defeitos do septo ventricular, coarctação da aorta, defeito do septo auricular, síndrome do ventrículo esquerdo hipoplásico, estenose pulmonar, atresia da válvula pulmonar, ventrículo direito de dupla câmara de saída, miocardiopatia hipertrófica
Gastrointestinal	Atresia duodenal, imperfuração anal, atresia anorectal, síndrome do intestino curto
Genito-urinário	Duplicação ureteral, agenesia renal, hidronefrose
Esquelético	Síndrome de regressão caudal, hemivértebra
Outras	Artéria umbilical única

Retirado de *Dores J, Magalhães Â, Carneiro M. Relatório de Consenso Diabetes e Gravidez. Direção Geral de Saúde. 2011 (89)*

6.3. Morbilidade a longo prazo

Um recém-nascido gerado por uma mãe com DG apresenta um maior risco associado de desenvolver em fases mais avançadas da vida, doenças metabólicas (DM2, obesidade, Síndrome Metabólica e dislipidémias), doenças cardiovasculares (hipertensão arterial), e doenças neuro-cognitivas (alterações no neuro-desenvolvimento) (62,90,91).

Os bebés de mães com DG, com mau controlo glicémico possuem maior probabilidade de apresentar sequelas neurológicas a longo prazo (92).

Estas consequências estão associadas com o conceito de “programação metabólica”, em que um estímulo ou agressão (fisiológica e metabólica), durante um período crítico de desenvolvimento, pré- e pós- natal, influencia o futuro do recém-nascido, condicionando-o a eventuais alterações que o levarão à doença na idade adulta (91). A exposição fetal a ambientes uterinos de DG desencadeia, a longo-prazo, o desenvolvimento de obesidade e diabetes. Estes efeitos podem não ocorrer de forma clara na infância, mas emergir durante a adolescência (79).

A alimentação possui um papel fulcral no desenvolvimento neonatal. O lactente, segundo a OMS, deverá ser exclusivamente alimentado com leite materno até aos 6 meses de vida. Este fator provou que diminui o risco de desenvolver obesidade infantil em 22%, comparando com lactentes que nunca foram amamentados com leite materno. Esta condição evidenciou uma redução da gordura abdominal visceral, bem como a

obtenção de um IMC menor e uma certa proteção para o desenvolvimento de diabetes e obesidade (72,93,94).

O Consenso da Diabetes Gestacional, atualizada no ano de 2017, aponta como principais morbidades a longo prazo, para os filhos de mães portadoras de DG, alterações do foro metabólico, cardiovascular, antropométrico e neuro-cognitivo (Tabela 4) (95).

Tabela 4 – Morbidades associadas à diabetes gestacional

Metabólicas	Diabetes tipo 2
	Diabetes gestacional transgeracional
	Dislipidemia
	Síndrome metabólico
Cardiovasculares	Hipertensão arterial
Antropométricos	Obesidade
Neurocognitivas	Alterações do neurodesenvolvimento

Retirado de *Catarina A Consenso “Diabetes Gestacional”. 2017 (95)*

Existe uma maior probabilidade de desenvolver resistência à insulina, Síndrome metabólico na adolescência, bem como um risco cardiometabólico elevado na fase adulta. A hiperglicemia intrauterina para além de conduzir a um excessivo crescimento fetal (macrossomia), também aumenta o risco de desenvolver obesidade desde a infância até à sua fase adulta. Estas consequências podem, no entanto, ser contornáveis pelo controlo da DG.

7. DIAGNÓSTICO DA DIABETES GESTACIONAL

A DG é umas das doenças metabólicas mais frequentes durante a gravidez, afetando a grávida quanto à sua qualidade de vida e com impacto no seu bem-estar físico e psicológico. Uma vez que esta patologia acarreta consequências potencialmente graves para a própria e para a criança, o seu diagnóstico é clinicamente relevante para a saúde de ambos (96).

7.1. Origem dos critérios de diagnóstico

O diagnóstico da DG evoluiu ao longo do tempo (Tabela 5), sendo discutido por diversas organizações de diabetes em todo o mundo. Hoje, o diagnóstico desta disfunção metabólica não apresenta um consenso unânime em todos os países, variando em diferentes partes do mundo, onde as diretrizes utilizadas dependem de vários fatores, como a disponibilidade de infraestruturas, análises de custos e a conveniência do paciente (97).

Tabela 5 – Critérios propostos para diagnóstico da diabetes gestacional baseados na PTGO

Criteria	Year proposed	Approach	Glucose load (g)	Glucose threshold mg/dl (mmol/l)			
				Fasting	1 h	2 h	3 h
O'Sullivan & Mahan	1964	2 step	100	90 (5.0)	165 (9.2)	145 (8.1)	125 (6.9)
National Diabetes Data Group (NDDG)	1979	2 step	100	105 (5.8)	190 (10.6)	165 (9.2)	145 (8.1)
Carpenter & Coustan	1982	2 step	100	95 (5.3)	180 (10.0)	155 (8.6)	140 (7.8)
World Health Organization (WHO)	1999	1 step	75	126 ^a (7.0)	–	140 (7.8)	–
American Diabetes Association (ADA)	2004	2 step	100	95 (5.3)	180 (10.0)	155 (8.6)	140 (7.8)
Latin American Diabetes Association (ALAD) ^b	2008	2 step	75	100 (5.5)	–	140 (7.8)	–
International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG)	2010	1 step	75	92 (5.1)	180 (10.0)	153 (8.5)	–
World Health Organization 2013 criteria (revised, same as IADPSG)	2013	1 step	75	92 (5.1)	180 (10.0)	153 (8.5)	–
National Institute for Health and Care Excellence (NICE)	2015	1 step	75	101 (5.6)	–	140 (7.8)	–

Adopted from (Vandorsten et al., 2011) [15]
 Values in parenthesis are in mmol/l
^aLater this fasting value was dropped
^bCriteria for the diagnosis of gestational diabetes in selected countries of the Americas. Final report of the Pan American Conference on Diabetes and Pregnancy [32]

Retirado de Sullivan JBO, Charles D, Mahan CM, Dandrow R V. 1973 (97)

Em 1964 surgiram os primeiros critérios propostos para o diagnóstico da DG, os critérios O'Sullivan e Mahan (98)(99). Estes constituíram a base da maioria dos critérios criados posteriormente. O'Sullivan e Mahan alertaram para a importância e para os

benefícios da realização do *screening* da diabetes em mulheres grávidas. Sugeriram um critério de diagnóstico baseado na realização de um teste *de tolerância à glicose oral* (PTGO) com uma prova de glicose de 100g, realizando a medição da glicose plasmática às 0 horas, 1 hora e 3 horas. Neste teste a glicose era doseada em amostras de sangue total pelo método de *Somogyi-Nelson*, para determinação de açúcares redutores (97).

Nos anos seguintes, outros critérios surgiram com algumas modificações aos critérios primordiais de O'Sullivan e Mahan (97) com a medição da glicose no plasma e com métodos enzimáticos para o doseamento da glicose. O critério da *National Diabetes Data Group* (NDDG) estipula os valores plasmáticos de jejum para 1 hora, 2 horas e 3 horas, de 105mg/dL, 190mg/dL, 165mg/dL e 145mg/dL, respectivamente, para o diagnóstico de DG (100). Os critérios de Carpenter-Coustan (CC) são mais inclusivos com os valores de 95mg/dL, 180mg/dL, 155mg/dL e 140mg/dL (101). Vários estudos demonstraram um aumento da prevalência quando os últimos critérios eram aplicados (102-103).

O critério da *International Association for Diabetes in Pregnancy Study Group* (IADPSG) foi proposto em 2010, baseado no estudo *Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome* (HAPO), que avaliou mais de 25000 mulheres em diversos países e foi desenhado para avaliar o risco de complicações relacionados com os valores de glicemia. Para o *screening* foram utilizados os valores da PTGO com 75 g às 2 horas entre as 24 e 32 semanas de gestação (104).

O IADPSG apresentou melhor desempenho do que o critério da OMS de 1999, reduzindo discretamente a incidência absoluta de nascidos grandes para a idade gestacional.

7.2.Critérios de diagnóstico segundo a Direção Geral de Saúde

Os critérios de diagnóstico da DG recomendados pela Direção Geral de Saúde (DGS) são baseados nos resultados do estudo HAPO que demonstrou a existência de uma relação linear entre os valores da glicemia materna e a morbilidade materna, fetal e neonatal (104).

O diagnóstico da DG, segundo a Direção Geral de Saúde (DGS), envolve duas fases temporais diferentes. A primeira consiste na avaliação da glicemia em jejum, realizada na primeira consulta de vigilância pré-natal e a segunda consta na realização

da Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO), efetuada entre as 24 e 28 semanas de gestação (3).

A glicemia em jejum, realizada na primeira consulta de vigilância pré-natal, deve ser interpretada consoante o seu valor (Tabela 6):

- quando este se apresenta inferior a 92 mg/dL implica a realização da PTGO com sobrecarga de 75g de glicose, realizada entre a 24 e 28 semanas;
- quando o seu valor é superior a 92 mg/dL e inferior a 126 mg/dL, este valor faz o diagnóstico da DG, não sendo necessário realizar a PTGO;
- quando a glicemia em jejum apresenta valores superiores a 126 mg/dL ou um valor de glicemia ocasional superior a 200 mg/dL (confirmando este valor num dia diferente), é indicativo de uma diabetes provavelmente anterior à gravidez;
- a hemoglobina glicada (HbA1c) superior ou igual a 6.5% deve ser interpretada como critério de diagnóstico de diabetes prévia, sem no entanto ser incluído na vigilância da gravidez (3).

Tabela 6 – Valores de referência da glicemia em jejum para diagnóstico da diabetes gestacional

Glicemia plasmática em jejum	
<92 mg/dl (5,1 mmol/L)	Normal
≥92 mg/dl (5,1 mmol/L) <126 mg/dl (7 mmol/L)	Diabetes Gestacional
≥126 mg/dl (7 mmol/L)	Tratar como provável Diabetes prévia
>200 mg/dl (11,1 mmol/L) ocasional	
HbA1c ≥6,5% *	

* este exame não se inclui nos que se realizam na vigilância da gravidez

Retirado de *Direção-Geral da Saúde. Diagnóstico e conduta na Diabetes Gestacional. Norma da DGS. 2011* (3)

A PTGO com sobrecarga de 75g de glicose consiste na dissolução da glicose em 300 ml de água. De modo a não inviabilizar o resultado desta análise recomenda-se que a grávida cumpra determinados requisitos, como um jejum de pelo menos 8 horas, bem como nos dias anteriores manter uma atividade física regular e uma dieta não restritiva. Durante a prova é necessário que a grávida se mantenha em repouso (3).

O diagnóstico da DG faz-se quando um ou mais valores de glicemia forem iguais ou superiores aos valores de referência (Tabela 7) (Figura 11). Quando o diagnóstico é de DG, a grávida é referenciada para um Hospital de Apoio Perinatal (HAP) ou para um

Hospital de Apoio Perinatal Diferenciado (HAPD). Caso os valores sejam inferiores aos valores apresentados como sendo os de referência, é considerado um diagnóstico negativo (3).

As grávidas que apenas iniciem a vigilância após as 28 semanas devem realizar a glicemia em jejum e se esta for inferior a 92mg/dL, realizar de seguida a PTGO (3).

Tabela 7 – Valores de referência da PTGO para diagnóstico da diabetes gestacional

Hora	Glicemia plasmática
0	≥92 mg/dl (5,1 mmol/L)
1	≥180 mg/dl (10,0 mmol/L)
2	≥153 mg/dl (8,5 mmol/L)

Retirado de *Direção-Geral da Saúde. Diagnóstico e conduta na Diabetes Gestacional. Norma da DGS. 2011* (3)

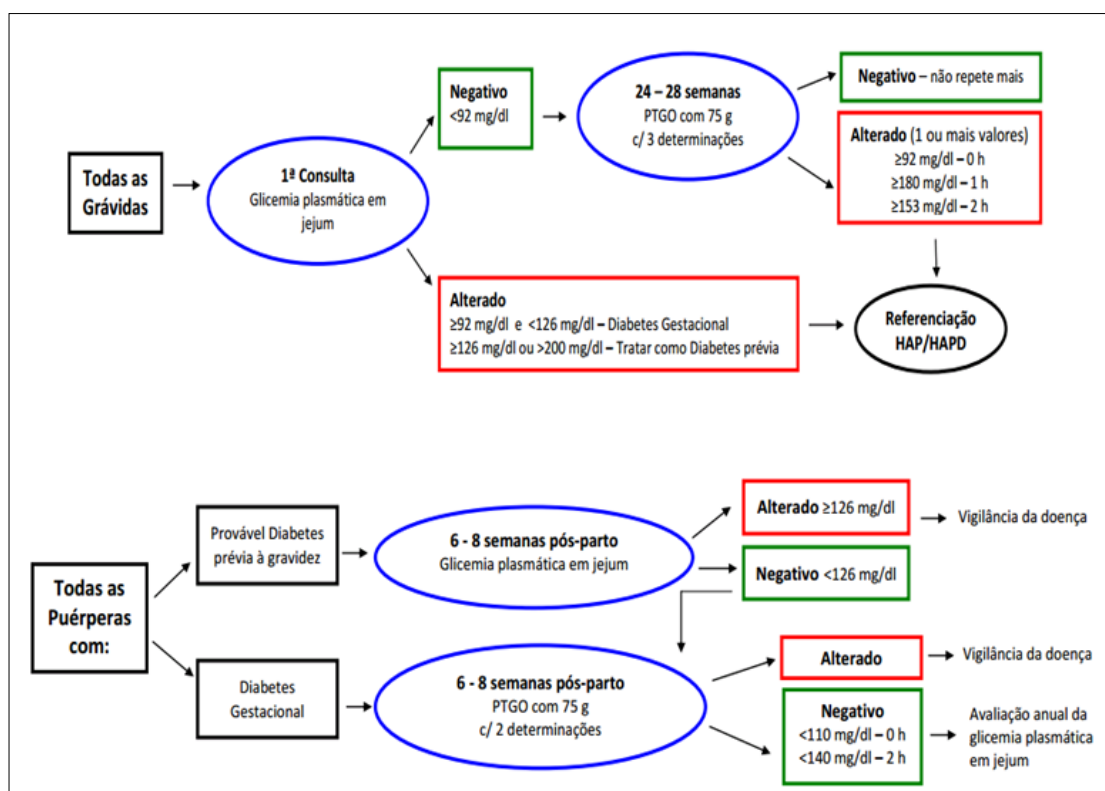


Figura 11 - Fluxograma – Diagnóstico e Conduta na diabetes gestacional

Retirado de *Direção-Geral da Saúde. Diagnóstico e conduta na Diabetes Gestacional. Norma da DGS. 2011* (3)

7.3 Reclassificação no pós-parto

Como referido anteriormente, de acordo com a DGS, na sua norma de Diagnóstico e Conduta na Diabetes Gestacional, as mulheres com diagnóstico de Diabetes Gestacional deverão ser referenciadas para vigilância num Hospital de Apoio Perinatal (HAP) ou Hospital de Apoio Perinatal Diferenciado (HAPD). Na continuação do seu seguimento, as mulheres a quem foi diagnosticada uma Diabetes Gestacional, 6 a 8 semanas após o parto, devem submeter-se a uma prova de reclassificação com a realização de uma PTGO com sobrecarga de 75g de glicose com duas determinações de glicemia, uma em jejum e outra após 2 horas (3).

Na maioria das mulheres, 85% a 95%, a resistência à insulina retorna ao normal após o nascimento. Caso a PTGO indique alteração dos valores, a mulher é classificada como possuidora de DM, Tolerância Diminuída à Glicose ou Anomalia da Glicose em Jejum. No entanto, estas mulheres deverão fazer uma vigilância regular da glicemia plasmática em jejum, uma vez que têm um risco aumentado de desenvolver DM2 e doenças cardiovasculares (105-106).

Mulheres diagnosticadas com DG possuem uma maior probabilidade de desenvolver DG nas próximas gestações, bem como um risco acrescido de desenvolver problemas cardiovasculares. Esta nova avaliação da diabetes após o parto permite o tratamento precoce da hiperglicemia, evita complicações maternas microvasculares, bem como permite tratar a patologia, evitando a evolução (81,107).

No entanto, existem diversos fatores apontados para que ocorra uma falta de seguimento desta patologia no pós-parto, como falta de comunicação e/ou interpretação da informação concedida e o desconhecimento das consequências e sua importância por parte da grávida (107).

Ainda de acordo com a norma da DGS, numa gravidez subsequente, a mulher com antecedentes de Diabetes Gestacional deve realizar uma avaliação da glicemia pré-concepcional.

8. A epidemiologia da Diabetes Gestacional

A DG abrange algumas diferenças significativas quanto à sua prevalência mundial. Segundo uma estimativa da Federação Internacional de Diabetes (FID), no ano de 2017, a DG atinge a sua maior prevalência nas mulheres com idades superiores a 40 anos, apresentando uma prevalência de 36,4% entre os 40-44 anos e uma prevalência de 45,4% em mulheres grávidas entre os 45-49 anos (Figura 12).

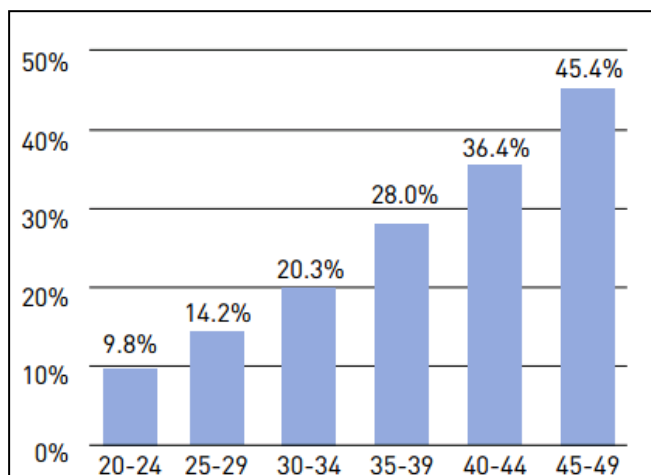


Figura 12 – Diabetes gestacional estratificada por idades. Estimativa referente ao ano de 2017, pela IDF Adaptado de *International Diabetes Federation. Diabetes Atlas, Eighth edition. 2017 (108)*

Relativamente à sua distribuição geográfica mundial, a região da Ásia Sudeste apresenta a maior prevalência da DG, 24.2%, comparavelmente à região de África cuja prevalência aponta para os 10,4% (Tabela 8). A grande maioria dos casos de DG apontam para países de renda média-baixa, onde os acessos aos cuidados de saúde materno-infantis são precários (108).

Tabela 8 – DG na mulher entre os 20-49 anos. Estimativa Global do ano de 2017

IDF region	Raw prevalence	Age-adjusted prevalence	Number of live births affected
Africa	10.4%	9.5%	3.4 million
Europe	16.2%	13.7%	1.7 million
Middle East and North Africa	21.8%	17.9%	3.8 million
North America and Caribbean	14.6%	12.0%	1.0 million
South America and Central America	13.1%	11.6%	0.9 million
South East Asia	24.2%	26.6%	6.9 million
Western Pacific	12.6%	12.3%	3.6 million

Adaptado de *International Diabetes Federation. Diabetes Atlas, Eighth edition. 2017 (108)*

No ano de 2017, a IDF estima que, num total de 131.4 milhões de nascimentos de mulheres entre os 20 e os 49 anos de idade, cerca de 21.3 milhões desses recém-nascidos serão afetados por DG (Tabela 9) (108).

Relativamente à origem deste distúrbio metabólico, estimou-se que cerca de 86.4% dos casos se deveu efetivamente à DG, 6.2% teve origem devido a uma diabetes detetada antes da gravidez e 7.4% se deveu a outros tipos de diabetes, como a diabetes tipo 1 e diabetes tipo 2, detetadas primeiramente durante a gestação (108).

Tabela 9 – Estimativa Global da DG no ano de 2017

Total live births to women aged 20-49 years		131.4 million
Hyperglycaemia in pregnancy		
Global prevalence		16.2%
Number of live births affected		21.3 million
Proportion of cases due to GDM		86.4%
Proportion of cases due to other types of diabetes first detected in pregnancy		7.4%
Proportion of cases due to diabetes detected prior to pregnancy		6.2%

Adaptado de *International Diabetes Federation. Diabetes Atlas, Eighth edition. 2017* (108)

A DG tem aumentado significativamente nos últimos anos em Portugal atingindo uma prevalência de 7.5% no ano de 2016 (Tabela 10). Consoante a estratificação por idades, a DG atinge uma maior prevalência em mulheres que engravidam com idade igual ou superior a 40 anos (109).

Tabela 10 – Prevalência da DG em Portugal continental, entre 2010-2016

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016*
Casos totais	3.576	3.809	3.482	3.720	4.327	4.847	5.033
Prevalência da Diabetes Gestacional (DG)	4,4%	4,9%	4,8%	5,8%	6,7%	7,2%	7,5%
Prevalência DG - Partos utentes < 20 anos	0,8%	1,3%	1,4%	1,4%	1,8%	1,9%	1,9%
Prevalência DG - Partos utentes [20-29] anos	2,4%	2,8%	2,9%	3,6%	4,2%	4,6%	4,7%
Prevalência DG - Partos utentes [30-39] anos	5,6%	6,2%	5,9%	6,9%	7,8%	8,4%	8,6%
Prevalência DG - Partos utentes >= 40 anos	10,9%	14,3%	13,5%	15,3%	16,5%	15,9%	16,5%

Nota: * Ano 2016 códigos GDH consultados: V27 (CID 9 MC) e Z37.0,Z37.1,Z37.2, Z37.3,Z37.4,Z37.5,Z37.6,Z37.7,Z37.8,Z37.9 (CID 10MC)
Dados elaborados por DSI/ADGS, 2017

Adaptado de *Programa Nacional para a Diabetes.2017* (109)

9. CONCLUSÃO

A DG, segundo a OMS, é definida como uma intolerância aos hidratos de carbono, de grau variável, que é diagnosticada ou reconhecida pela primeira vez durante a gravidez. Esta patologia, caracterizada pelos níveis elevados de glicemia, tem aumentando a nível mundial, sendo mais prevalente em países de renda média-baixa.

A gravidez é um processo fisiológico que se faz acompanhar por um determinado grau de resistência à insulina e consequente hiperinsulinémia. Esta resistência à insulina tem início, normalmente, a meio da gestação, avançando progressivamente no decorrer da gravidez. A resistência à insulina resulta na combinação de um aumento de adiposidade materna e do efeito da dessensibilização à ação da insulina, devido às hormonas placentárias. No entanto, esta condição fisiológica normal decorrente do processo de gravidez pode evoluir para DG em algumas mulheres.

A DG é uma patologia multifatorial, onde diversos fatores de risco estão implicados no desenvolvimento desta doença. A componente genética é um fator associado à DG, uma vez que vários estudos realizados mostraram evidências entre genes e a patogénese de resistência à insulina durante a gestação, em que estes genes mostraram desempenhar funções importantes na regulação da homeostasia da glicose no organismo.

Fatores nutricionais e consequente estilo de vida, bem como fatores de risco individuais, como a idade materna avançada, histórico de gravidezes anteriores e patologias associadas (Síndrome do Ovário Policístico) determinam, em conjunto, o desenvolvimento da DG

No entanto, embora os fatores de risco sejam vários, a presença de obesidade, definida como IMC, é um fator de risco extremamente impulsionador em direção ao desenvolvimento da DG.

A DG possui uma elevada incidência de complicações fetais e maternas, a curto e a longo prazo. O recém-nascido apresenta uma elevada probabilidade de desenvolver macrossomia e elevado peso à nascença, decorrente do excesso de glicose que atravessa a placenta durante a gestação. Estes aspetos desencadeiam uma diversidade de complicações maternas e complicações fetais. A nível materno acarreta um parto traumático com elevada possibilidade de hemorragia e rutura de tecidos. A nível fetal existe maior probabilidade de ocorrer um parto prematuro, elevada incidência de anomalias congénitas e até mesmo morte perinatal.

A longo prazo verificou-se a elevada incidência de obesidade, DM-2 e síndrome metabólico em crianças cujas mães desenvolveram DG durante a sua gestação. Diversos estudos mostraram evidências de que a exposição fetal a um ambiente uterino adverso

predispõe ao desenvolvimento no futuro de uma série de complicações metabólicas. De igual forma, mulheres possuidoras de DG estão propensas ao desenvolvimento posterior ao parto, de DM-2, síndrome metabólico e doenças cardiovasculares

Uma vez que a DG tem um impacto significativo na saúde materno-fetal, a curto e a longo prazo, o diagnóstico da diabetes gestacional revela-se de extrema importância, a fim de evitar complicações.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moore DJ, Gregory JM, Kumah-Crystal YA, Simmons JH. Mitigating micro- and macro-vascular complications of diabetes beginning in adolescence. *Vasc Health Risk Manag.* 2009;5:1015–31.
2. Zhou B, Lu Y, Hajifathalian K, Bentham J, Di Cesare M, Danaei G, et al. Worldwide trends in diabetes since 1980: A pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet.* 2016;387(10027):1513–30.
3. Direção-Geral da Saúde. Diagnóstico e conduta na Diabetes Gestacional. Norma da DGS. 2011:1–7.
4. American Diabetes Association. Definition and description of diabetes other categories of glucose. Position Statement. 2010;33:562-569.
5. Aune D, Sen A, Henriksen T, Saugstad OD, Tonstad S. Physical activity and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review and dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *Eur J Epidemiol.* 2016;31(10):967–97.
6. Bowers K, Laughon SK, Kiely M, Brite J, Chen Z, Zhang C. Gestational diabetes, pre-pregnancy obesity and pregnancy weight gain in relation to excess fetal growth: Variations by race/ethnicity. *Diabetologia.* 2013;56(6):1263–71.
7. Catalano PM. Obesity and pregnancy - The propagation of a viscous cycle? *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(8):3505–6.
8. Aye ILMH, Rosario FJ, Powell TL, Jansson T. Adiponectin supplementation in pregnant mice prevents the adverse effects of maternal obesity on placental function and fetal growth. *Cross Mark.* 2015;112(41):12858–63.
9. Catalano PM, Presley L, Minium J, Mouzon SH De. Fetuses of obese mothers develop insulin resistance in utero. *Diabetes Care.* 2009;32(6):1076–80.
10. Pantham P, Aye ILMH, Powell TL. Inflammation in maternal obesity and gestational diabetes mellitus. *Elsevier.* 2015;36(7):709–15.
11. Farrar Di, Simmonds M, Bryant M, Lawlor DA, Dunne F, Tuffnell D, et al. Risk factor screening to identify women requiring oral glucose tolerance testing to diagnose gestational diabetes: A systematic review and meta-analysis and analysis of two pregnancy cohorts. *PLoS One.* 2017;12(4):1–17.
12. Yessoufou A, Moutairou K. Maternal diabetes in pregnancy: Early and long-term outcomes on the offspring and the concept of “metabolic memory.” *Exp Diabetes Res.* 2011;1-12.
13. Wood IS, Trayhurn P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Br J Nutr.* 2003;89(1):3.
14. Castillo-Castrejon M, Powell TL. Placental Nutrient Transport in Gestational Diabetic Pregnancies. *Front Endocrinol.* 2017;8:1–9.
15. Myatt L. Placental adaptive responses and fetal programming. *J Physiol.* 2006;572(1):25–30.
16. Gude NM, Roberts CT, Kalionis B, King RG. Growth and function of the normal human placenta. *Thromb Res.* 2004;114:397–407.
17. Redline RW. Placental Pathology: A Systematic Approach with Clinical Correlations. *Placenta.* 2008;29:86–91.
18. Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ. Regulation of human placental development by oxygen tension. *Science.* 1997;277(5332):1669–72.
19. Sultana Z, Maiti K, Aitken J, Morris J, Dedman L, Smith R. Oxidative stress,

- placental ageing-related pathologies and adverse pregnancy outcomes. *Am J Reprod Immunol*. 2017;77(5):1–10.
20. Huppertz B. The anatomy of the normal placenta. *J Clin Pathol*. 2008;61(12):1296–302.
 21. Lager S and Powell TL. Regulation of nutrient transport across the placenta. *Journal of Pregnancy*. 2012;1-14.
 22. Gabory A, Chavatte-Palmer P, Vambergue A, Tarrade A. Impact of maternal obesity and diabetes on placental function. *Médecine Sci M/S*. 2016;32(1):66–73.
 23. Araújo JR, Keating E, Martel F. Impact of gestational diabetes mellitus in the maternal-to-fetal transport of nutrients. *Curr Diab Rep*. 2015;15(2):569.
 24. Jansson N, Pettersson J, Haafiz A, Ericsson A, Palmberg I, Tranberg M, et al. Down-regulation of placental transport of amino acids precedes the development of intrauterine growth restriction in rats fed a low protein diet. *J Physiol*. 2006;576(3):935–46.
 25. Gaccioli F, Lager S, Powell TL, Jansson T. Placental transport in response to altered maternal nutrition. *J Dev Orig Health Dis*. 2013;4(2):101–15.
 26. Serena C, Marchetti G, Rambaldi MP, Ottanelli S, Tommaso M Di, Avagliano L, et al. Stillbirth and fetal growth restriction. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2013;26(1):16–20.
 27. Malkki R, Robinson D, Moren A, Med P, An WR, Measles P, et al. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *The Lancet*. 1993;341:938–41.
 28. Jansson T. Amino Acid Transporters in the Human Placenta. *Pediatr Res*. 2001;49(2):141–7.
 29. Cleal JK, Lewis RM. The Mechanisms and Regulation of Placental Amino Acid Transport to the Human Foetus. *J Neuroendocrinol* . 2008;20(4):419–26.
 30. Gallo LA, Barrett HL, Dekker Nitert M. Review: Placental transport and metabolism of energy substrates in maternal obesity and diabetes. *Placenta*. 2017;54:59–67.
 31. Holm MB, Bastani NE, Holme AM, Zucknick M, Jansson T, Refsum H, et al. Uptake and release of amino acids in the fetal-placental unit in human pregnancies. *PLoS One*. 2017;12(10):1–15.
 32. Lindegaard MLS, Olivecrona G, Christoffersen C, Kratky D, Hannibal J, Petersen BL, et al. Endothelial and lipoprotein lipases in human and mouse placenta. *J Lipid Res*. 2005;46(11):2339–46.
 33. Magnusson AL, Waterman IJ, Wennergren M, Jansson T, Powell TL. Triglyceride hydrolase activities and expression of fatty acid binding proteins in the human placenta in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction and diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(9):4607–14.
 34. Desoye G, Gauster M, Wadsack C. Placental transport in pregnancy pathologies. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(6):1896–902.
 35. Hodson K, Robson S, Taylor R. Gestational diabetes: emerging concepts in pathophysiology. *Obstet Med Med Pregnancy*. 2010;3(4):128–32.
 36. Jansson A, Jansson A, Norkko J, Dupont S, Norkko A. Growth and survival in a changing environment: Combined effects of moderate hypoxia and low pH on juvenile bivalve *Macoma balthica*. *J Sea Res*. 2015;102:41–7.
 37. Baumann MU, Deborde S, Illsley NP. Placental Glucose Transfer and Fetal Growth. 2002;19(1):13–4.
 38. Gaccioli F, Lager S. Placental nutrient transport and intrauterine growth restriction. *Front Physiol*. 2016;7:1–8.

39. Ericsson A, Hamark B, Powell TL, Jansson T. Glucose transporter isoform 4 is expressed in the syncytiotrophoblast of first trimester human placenta. *Hum Reprod.* 2005;20(2):521–30.
40. Lappas M, Hiden U, Desoye G, Froehlich J, Mouzon SH, Jawerbaum A, et al. The Role of Oxidative Stress in the Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15(12): 3061-100.
41. Illsley NP. Glucose Transporters in the Human Placenta. *Placenta.* 2000; 21(1):14–22.
42. Gaither K, Quraishi AN, Illsley NP. Diabetes Alters the Expression and Activity of the Human Placental GLUT1 Glucose Transporter. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;84(2):695-701.
43. Wu S, Li R, Demayo FJ. Progesterone Receptor Regulation of Uterine Adaptation for Pregnancy. *Trends Endocrinol Metab.* 2018;29(7):1–11.
44. Burton GJ, Jauniaux E, Charnock-Jones DS. Human Early Placental Development: Potential Roles of the Endometrial Glands. *Placenta.* 2007;28:64–9.
45. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature.* 2001;414(6865):799–806.
46. Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action : molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106(2):165–9.
47. Alfadhli EM. Gestational diabetes mellitus. *Saudi Med J.* 2015;36(4):399–406.
48. Zhang Y, Shao J, Li F, Xu X. Factors in Gestational Diabetes Mellitus Predicting the Needs for Insulin Therapy. *Int J Endocrinol.* 2016;1-5.
49. Wang C, Guelfi KJ, Yang H-X. Exercise and its role in gestational diabetes mellitus. *Chronic Dis Transl Med.* 2016;2(4):208–14.
50. Ruiz-Palacios M, Ruiz-Alcaraz AJ, Sanchez-Campillo M, Larqué E. Role of Insulin in Placental Transport of Nutrients in Gestational Diabetes Mellitus. *Ann Nutr Metab.* 2017;70(1):16–25.
51. Grindheim AK, Saraste J, Vedeler A. Protein phosphorylation and its role in the regulation of Annexin A2 function. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj.* 2017;1861(11):2515–29.
52. Barbour LA, McCurdy CE, Hernandez TL, Kirwan JP, Catalano PM, Friedman JE. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care.* 2007;30:112-9.
53. Colberg SR. Prescribing physical activity to prevent and manage gestational diabetes. *World J Diabetes.* 2013;4(6):256.
54. Baz B, Riveline JP, Gautier JF. Gestational diabetes mellitus: Definition, aetiological and clinical aspects. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(2):43–51.
55. Masuyama H, Hiramatsu Y. Potential role of estradiol and progesterone in insulin resistance through constitutive androstane receptor. *J Mol Endocrinol.* 2011;47(2):229–39.
56. Hajagos-Tóth J, Ducza E, Samavati R, Vari SG, Gaspar R. Obesity in pregnancy: a novel concept on the roles of adipokines in uterine contractility. *Croat Med J.* 2017;58(2):96–104.
57. Brink HS, van der Lely AJ, van der Linden J. The potential role of biomarkers in predicting gestational diabetes. *Endocr Connect.* 2016;5(5):26–34.
58. Abell SK, De Courten B, Boyle JA, Teede HJ. Inflammatory and other biomarkers: Role in pathophysiology and prediction of gestational diabetes mellitus. *Int J Mol Sci.* 2015;16(6):13442–73.

59. Lihn AS, Richelsen B, Pedersen SB, Haugaard SB, Rathje GS, Madsbad S, et al. Increased expression of TNF- α , IL-6, and IL-8 in HALS: implications for reduced adiponectin expression and plasma levels. *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2003;285(5):1072–80.
60. Cartier A, Lemieux I, Alm  ras N, Tremblay A, Bergeron J, Despr  s JP. Visceral obesity and plasma glucose-insulin homeostasis: Contributions of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(5):1931–8.
61. Grissa O, At  gbo JM, Yessoufou A, Tabka Z, Miled A, Jerbi M, et al. Antioxidant status and circulating lipids are altered in human gestational diabetes and macrosomia. *Transl Res.* 2007;150(3):164–71.
62. Silva-zolezzi I, Samuel TM. Maternal nutrition : opportunities in the prevention of gestational diabetes. 2016;75:32–50.
63. Fern  ndez-Morera JL, Rodr  guez-Rodero S, Men  ndez-Torre E, Fraga MF. The Possible Role of Epigenetics in Gestational Diabetes: Cause, Consequence, or Both. *Obstet Gynecol Int.* 2010:1–7.
64. Kim JY, Cheong HS, Park B-L, Baik SH, Park S, Lee SW, et al. Melatonin receptor 1 B polymorphisms associated with the risk of gestational diabetes mellitus. *BMC Med Genet.* 2011;12(1):82.
65. Mirghani Dirar A, Doupis J. Gestational diabetes from A to Z. *World J Diabetes.* 2017;8(12):489–511.
66. Ratner RE. Prevention of type 2 diabetes in women with previous gestational diabetes. *Diabetes Care.* 2007;30(12):3154.
67. Lenoir-Wijnkoop I, van der Beek EM, Garssen J, Nuijten MJC, Uauy RD. Health economic modeling to assess short-term costs of maternal overweight, gestational diabetes, and related macrosomia - a pilot evaluation. *Front Pharmacol.* 2015;6:1–10.
68. Jayabalan N, Nair S, Nuzhat Z, Rice GE, Zu  niga FA, Sobrevia L, et al. Cross talk between adipose tissue and placenta in obese and gestational diabetes mellitus pregnancies via exosomes. *Front Endocrinol.* 2017;8:239.
69. Nyomba. G., Berard.L. ML. Facilitating access to glucometer reagent increases blood glucose self monitoring frequency and improves glycaemic control: a prospective study in insulin-treated diabetic patients. *Diabet Med.* 2004;21(2):103–13.
70. Daniel A. Dumesic, Mark O. Goodarzil, Gregorio D. Chazenbalk, et al. Intrauterine Environment and PCOS. *HHS Public Access.* 2014;32(3):159-165.
71. Yu H-F, Chen H-S, Rao D-P, Gong J. Association between polycystic ovary syndrome and the risk of pregnancy complications: A prisma-compliant systematic review and meta-analysis. *Medicine.* 2016;95(51):4863.
72. Aris IM, Soh SE, Tint MT, Saw SM, Rajadurai VS, Godfrey KM, et al. Associations of infant milk feed type on early postnatal growth of offspring exposed and unexposed to gestational diabetes in utero. *Eur J Nutr.* 2017;56(1):55–64.
73. Azziz R, Marin C, Hoq L, Badamgarav E, Song P. Health care-related economic burden of the polycystic ovary syndrome during the reproductive life Span. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(8):4650–8.
74. Koivunen RM, Juutinen J, Vauhkonen I, Morin-Papunen LC, Ruokonen A, Tapanainen JS. Metabolic and Steroidogenic Alterations Related to Increased Frequency of Polycystic Ovaries in Women with a History of Gestational Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(6):2591–9.

75. Song C, Lyu Y, Li C, Liu P, Li J, Ma RC, et al. Long-term risk of diabetes in women at varying durations after gestational diabetes: A systematic review and meta-analysis with more than 2 million women. *Obes Rev*. 2018;19(3):421-429.
76. Castorino K, Bradley PK, Truong L, Martinez J. A review of prevention strategies for gestational diabetes: Is there a missing X-factor? *Minerva Endocrinol*. 2016;41(4):433-44.
77. Riise HKR, Sulo G, Tell GS, Igland J, Nygård O, Vollset SE, et al. Incident coronary heart disease after Preeclampsia: Role of reduced fetal growth, preterm delivery, and parity. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(3):1-12.
78. Van Rijn BB, Bruinse HW, Veerbeek JH, Post Uiterweer ED, Koenen S V., Van Der Bom JG, et al. Postpartum Circulating Markers of Inflammation and the Systemic Acute-Phase Response after Early-Onset Preeclampsia. *Hypertension*. 2016;67(2):404-14.
79. Kc K, Shakya S, Zhang H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: A literature review. *Ann Nutr Metab*. 2015;66:14-20.
80. Graziano di Canni, Alessandra Ghio, Verónica Resi, LAura Volpe. Gestational diabetes mellitus: An opportunity to prevent type 2 diabetes and cardiovascular disease in young women. *G Ital di Diabetol e Metab*. 2010;30(1):19-26.
81. Kim C. Maternal outcomes and follow-up after gestational diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2015;31(3):292-301.
82. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, Tong J, Wallace TM, Kodama K, et al. Gestational diabetes mellitus increases the risk of cardiovascular disease in women with a family history of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29(9):2078-83.
83. Banerjee M, Cruickshank JK. Pregnancy as the prodrome to vascular dysfunction and cardiovascular risk. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006;3(11):596-603.
84. Hauspurg A, Ying W, Hubel CA, Michos ED, Ouyang P. Adverse pregnancy outcomes and future maternal cardiovascular disease. *Clin Cardiol*. 2018 ;41(2):239-246.
85. Brewster S, Zinman B, Retnakaran R, Floras JS. Cardiometabolic consequences of gestational dysglycemia. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(8):677-84.
86. Vrachnis N, Antonakopoulos N, Iliodromiti Z, Dafopoulos K, Siristatidis C, Pappa KI, et al. Impact of maternal diabetes on epigenetic modifications leading to diseases in the offspring. *Exp Diabetes Res*. 2012;1-12.
87. Tieu J, Middleton P, Mcphee AJ, Crowther CA. Europe PMC Funders Group Screening and subsequent management for gestational diabetes for improving maternal and infant health. *cochrane Database Syst Rev*. 2014;7(2):30-78.
88. Nicklas JM, Barbour LA. Optimizing Weight for Maternal and Infant Health - Tenable, or Too Late? *Expert Rev Endocrinol Metab*. 2016;10(2):227-42.
89. Dore J, Magalhães Â, Carvalheiro M. Relatório de Consenso Diabetes e Gravidez. *Direção Geral de Saúde*. 2011;21.
90. Harrison AL, Shields N, Taylor NF, Frawley HC. Exercise improves glycaemic control in women diagnosed with gestational diabetes mellitus: a systematic review. *J Physiother*. 2016;62(4):188-96.
91. Almeida M, et al. Consenso "Diabetes Gestacional". *Revista Portuguesa de Diabetes*. 201;12(1):24-38.
92. Hawdon JM. Babies born after diabetes in pregnancy: What are the short- and long-term risks and how can we minimise them? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011;25(1):91-104.

93. Dugas C, Perron J, Kearney M, Mercier R, Tchernof A, Marc I, et al. Postnatal Prevention of Childhood Obesity in Offspring Prenatally Exposed to Gestational Diabetes mellitus: Where Are We Now? *Obes Facts*. 2017;10(4):396–406.
94. Rodekamp E, Harder T, Kohlhoff R, Franke K, Dudenhausen JW, Plagemann A. Long-term impact of breast-feeding on body weight and glucose tolerance in children of diabetic mothers: Role of the late neonatal period and early infancy. *Diabetes Care*. 2005;28(6):1457–62.
95. Catarina A, Endocrinologia M, Garcia H. Consenso “Diabetes Gestacional”. 2017;12(1):24–38.
96. Marchetti D, Carrozzino D, Fraticelli F, Fulcheri M, Vitacolonna E. Quality of life in women with gestational diabetes mellitus: A systematic review. *J Diabetes Res*. 2017;1-12.
97. Sullivan JBO, Charles D, Mahan CM, Dandrow R V. Gestational diabetes and perinatal mortality rate. *Am J Obstet Gynecol*. 1973;116(7):901–904.
99. Karagiannis T, Bekiari E, Manolopoulos K, Paletas K, Tsapas A. Gestational diabetes mellitus : why screen and how to diagnose. 2010;151–4.
100. Diabetes N, Group D. Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance. *Diabetes*. 1979;28(12):1039–57.
101. Carpenter MW, Counstan DR. Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*. 1982;144(7):768–73.
102. Manuscript A. NIH Public Access. 2013;205(3):1–14.
103. Nelson S-, Diabetes N, Group D, So- T. Prevalence of Gestational Diabetes Mellitus Detected by the National Diabetes Data Group or the Carpenter and Coustan Plasma Glucose Thresholds. 2002;25(9):1625-30.
104. Y. Chen, J. Claman, J. King. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes. *New england journal of Medicine*. 2008;358(19):1991–2002.
105. Farrar D. Hyperglycemia in pregnancy: Prevalence, impact, and management challenges. *Int J Womens Health*. 2016;8:519–27.
106. Queirós J, Magalhães Â, Medina JL. Diabetes gestacional: uma doença, duas gerações, vários problemas. *Rev Port Endocrinol Diabetes E Metab*. 2006;2:19–24.
107. Clark HD, Graham ID, Karovitch A, Keely EJ. Do postal reminders increase postpartum screening of diabetes mellitus in women with gestational diabetes mellitus? A randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;200(6):634-637.
108. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*, Eighth edition. 2017:1-150.
109. Programa Nacional para a Diabetes. Programa Nacional. 2017.



RELATÓRIO DE ESTÁGIO

**Relatório realizado no Laboratório de Análises Clínicas Dr^a Helena Dias Rodrigues,
sob a orientação da Diretora Técnica Dr^a Helena Rodrigues**

Ana Francisca de Afonso e Rocha

Junho de 2018

É autorizada a reprodução integral deste relatório apenas para efeito de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento à Dr^a Helena Carla Dias Rodrigues, proprietária e Diretora-Técnica do Laboratório de Análises Clínicas Dr^a Helena Rodrigues, por me permitir desenvolver competências profissionais e pessoais. O meu reconhecimento pela disponibilidade concedida para a realização deste Mestrado em Análises Clínicas, de modo a enriquecer os meus conhecimentos como profissional de saúde. Da mesma forma agradeço a sua disponibilidade e conhecimento científico demonstrado durante esta fase.

O meu reconhecimento ao Dr^o Leonardo Araújo, farmacêutico especialista e Diretor-Técnico Adjunto, por todos os conhecimentos académicos e práticos transmitidos durante este período. O seu empenho constante e rigor nas suas tarefas são princípios que retenho para o meu presente e futuro.

E porque *“É na experiência da Vida que o homem evolui”* agradeço a toda a equipa do Laboratório Dr^a Helena Rodrigues, pelas suas partilhas e pela sua simpatia.

ÍNDICE

Índice de Figuras	ix
Índice de Tabelas	x
Lista de Abreviaturas	xi

1. Introdução	1
2. Caracterização do Laboratório	3
3. Registo e Processamento de Amostras	5
3.1 Admissão	
3.2 Identificação de amostras	
3.3 Processamento	
4. Controlo de Qualidade	6

I – QUÍMICA CLÍNICA

1. Equipamentos e Metodologias em Química Clínica	7
1.1 Equipamento COBAS INTEGRA 400	7
1.2 Equipamento SPOTLYTE	8
1.3 Equipamento AUTION 11 AE-4020	10
1.4 Equipamento ADAMS A1c HA-8160	10
1.5 Equipamento VALENT PRO	11
2. Determinações no sangue	13
2.1 Glúcidos	13
2.1.1 Glicose	
2.2 Lípidos	13
2.2.1 Triglicerídeos	
2.2.2 Colesterol Total	
2.2.3 Colesterol LDL	
2.2.4 Colesterol HDL	
2.3 Compostos nitrogenados não-proteicos	15
2.3.1 Ureia	
2.3.2 Creatinina	
2.3.3 Ácido Úrico	
2.4 Compostos nitrogenados proteicos	16
2.4.1 Hemoglobina glicada	

2.4.2	Proteínas Totais	
2.4.3	Albumina	
2.4.4	Electroforese de Proteínas	
2.4.5	Proteína C reactiva e Proteína C reactiva ultrasensível (hsCPR)	
2.4.6	Transferrina	
2.4.7	Imunoglobulinas IgA, IgG e IgM	
2.4.8	Enzimas	
2.5	Iões orgânicos	23
2.6	Outras determinações analíticas	25
2.6.1	Bilirubina Total e Bilirrubina Directa	
2.6.2	Capacidade de Fixação do Ferro (CTFF)	
2.6.3	Percentagem de saturação da Transferrina	
2.6.4	Estreptolisina O	
2.6.5	Bicarbonato	
3.	Determinações na urina	27
3.1	Análise Sumária de urina - tipo II	27
3.1.1	Análise física	
3.1.2	Análise química	
3.1.3	Análise microscópica	
3.2	Determinações quantitativas	31
3.2.1	Proteínas totais	
3.2.2	Microalbumina	
3.2.3	Creatinina	
4.	Determinações em fezes	33
4.1	Pesquisa de sangue oculto	
5.	Determinações em líquido seminal	35
5.1	Espermograma	
6.	Provas bioquímicas funcionais	37
6.1	<i>Clearance</i> da creatinina	
6.2	Índice de depuração da creatinina	
6.3	Prova de tolerância à glicose	

II – HEMATOLOGIA

1.	Equipamentos e Metodologias em Hematologia	39
1.1	Equipamento ADVIA	39
1.2	Equipamento VES-MATIC 20/20 Plus New	40
1.3	Equipamento START MAX	40

2. Hemograma	43
2.1 Eritograma	43
2.2 Leucograma	44
2.3 Linhagem Plaquetária	45
2.4 Alarmes no Hemograma	45
2.4.1 Casos decorridos no Estágio	
3. Velocidade de Sedimentação	51
4. Estudo da Coagulação	51
4.1 Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado	52
4.2 Tempo de Protrombina	52
4.3 INR	52
5. Técnicas Manuais	53
5.1 Esfregaço Sanguíneo	53
5.2 Reticulócitos	53

III – IMUNOLOGIA

1. Equipamentos e Metodologias em Imunologia	55
1.1 Equipamento CENTAUR CP	55
1.2 Equipamento IMMULITE 2000	55
2. Doenças Infeciosas	57
2.1 Doenças Víricas	57
2.1.1 Rubéola	
2.1.2 Hepatite C	
2.1.3 Hepatite B	
2.1.4 HIV	
2.2 Doenças Não Víricas	60
2.2.1 Toxoplasmose	
3. Função Tiroideia e Paratiroideia	61
3.1 TSH	61
3.2 T3 e T4 Total e Livre	62
3.3 Hormona Paratiróide	62
4. Função Prostática	63
5. Hormonas	65
5.1 Hormonas Sexuais	65
5.1.1 Testosterona	
5.1.2 Estradiol	
5.1.3 Progesterona	

5.1.4 LH e FSH	
5.1.5 Prolactina	
5.1.6 DHEA-S	
5.2 Alfa.Fetoproteína	68
5.3 Cortisol	68
5.4 Beta-HCG	69
6. Marcadores Tumorais	71
7. Proteínas	73
8. Ácido Fólico e Vitamina B12	75

IV - MICROBIOLOGIA

1. Exame Bacteriológico de Urina	77
1.1 Identificação das Bactérias	79
1.2 Casos decorridos no estágio	80
2. Exsudado Vaginal/Uretral	83
3. Exame bacteriológico de fezes	85
4. Estudo Estatístico	87
5. Conclusão	89
6. Formações Realizadas	91
7. Referências Bibliográficas	93

ÍNDICE DE FIGURAS

II – Hematologia

Figura 1 – Hemograma 1	46
Figura 2 – Hemograma 2	47
Figura 3 – Hemograma 3	48
Figura 4 - Esfregaço Sanguíneo	48
Figura 5 - Esfregaço sanguíneo canino	49
Figura 6 - Sistema de Coagulação	51

III - Imunologia

Figura 7 - Perfil Serológico de infecção aguda por HCV	57
Figura 8 - Perfil Serológico de infecção crónica por HCV	58
Figura 9 - Perfil Serológico de infecção aguda por HBV	59
Figura 10 - Perfil Serológico de infecção crónica por HBV	59

IV - Microbiologia

Figura 11 – Meio de cultura CPS-E	79
Figura 12 – Prova do Indol	79
Figura 13 – Prova da Catalase	80
Figura 14 – Meio de cultura CLED	81
Figura 15 – Meio de cultura CPS-E	81
Figura 16 – Meio de cultura MH	82
Figura 17 - Prevalência dos agentes bacterianos das ITU no Alto Minho	87
Figura 18 - Prevalência, por sexo, dos agentes bacterianos das ITU no Alto Minho	87
Figura 19 - Prevalência das resistências nas <i>Enterobacteriaceae</i> mais prevalentes	88

ÍNDICE DE TABELAS

I – Química Clínica

Tabela 1 – Imunoglobulinas	20
Tabela 2 – Enzimas	21
Tabela 3 – Iões Orgânicos	23

II – Hematologia

Tabela 4 – Eritograma	43
Tabela 5 – Índices Hematimétricos	44
Tabela 6 – Leucograma	44
Tabela 7 – Linhagem Plaquetária	45
Tabela 8 – Contagem Leucocitária relativa ao Caso 2	47

III - Imunologia

Tabela 9 – Marcadores Serológicos do vírus da Hepatite B	58
Tabela 10 – Testosterona	65
Tabela 11 – Estradiol	66
Tabela 12 – Marcadores Tumoriais	71
Tabela 13 – Proteínas	73

IV - Microbiologia

Tabela 14 – Contagem de Colônias nas amostras de urina	78
--	----

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Ac – anticorpo
ACTH – hormona adrenocorticotrófica
AFP – alfa-fetoproteína
Ag – antigénio
ALT (TGP) - alanina aminotransferase
APTT - tempo de tromboplastina parcial ativado
ASO – estreptolisina O
AST (TGO) - aspartato aminotransferase
Beta-HCG – hormona gonadotrofina coriônica humana
CEA – antigénio carcinoembrionário
CHCM/CHGM – concentração de hemoglobina corpuscular média
CK – creatina cinase
CLED - eletrólito de lactose cistina deficiente
CRH – hormona libertadora de corticotrofina
CRS - síndrome da rubéola congénita
DHEA-S – desidroepiandrosterona
EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético
FSH - hormona estimuladora de folículos
GGT - gama-glutamyl transferase
GnRH – hormona libertadora de gonadotrofina humana
GS – gelose sangue
GV – glóbulos vermelhos
Hb – hemoglobina
HCM/HGM – hemoglobina corpuscular média
HDL – lipoproteínas de alta densidade
HDW – variação da distribuição da hemoglobina
HIV – vírus da imunodeficiência humana
HPB – hiperplasia benigna da próstata
Ht - hematócrito
INR - índice de razão normalizada
ISI - índice de sensibilidade internacional
ITU – infeções do trato urinário
LDH – lactato desidrogenase
LDL – lipoproteínas de baixa densidade
LH- hormona luteinizante

MPL - mieloperoxidase
MSA – manitol salt agar
MH – mueller-hinton
MPV – volume plaquetár medio
NRBC – células vermelhas nucleadas
PCR – proteína C reactiva
PLT - plaquetas
PSA – antigénio específico da próstata
PT - tempo de protrombina
PTH – hormona da paratiroide
RDW – variação de tamanho das células vermelhas
RNA – ácido ribonucléico
RPM – rotação por minuto
SHBG – globulina de ligação às hormonas sexuais
T3 – tri-iodotironina
T4 – tiroxina
TBG – globulina de ligação à tiroxina
TRH – hormona libertador de tirotropina
TSH – hormona estimulante da tiroide
VCM/VGM – volume corpuscular médio
VLDL – lipoproteínas de muita baixa densidade
VS – velocidade de sedimentação

1.INTRODUÇÃO

As análises clínicas são um meio complementar de diagnóstico determinante no auxílio e acompanhamento clínico. As análises clínicas englobam diversas valências, como a área da Química Clínica, Hematologia, Microbiologia e Imunologia.

No âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, lecionado pela Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, exponho o presente relatório referente ao estágio realizado no Laboratório Dr^a Helena Rodrigues, no período de 2 de Janeiro de 2018 a 30 de Março de 2018, com a duração de 450 horas.

Durante o período de estágio supracitado foi-me possível acompanhar e entrar em contacto com as diferentes áreas das análises clínicas. Neste período acompanhei todas as diferentes fases de trabalho no laboratório, desde a receção do utente até à fase de validação final do resultado, procurando aplicar todos os conhecimentos teóricos e práticos desenvolvidos nas aulas, bem como desenvolvendo aptidões com a equipa de trabalho.

O relatório pretende descrever as atividades desenvolvidas durante o período de estágio, sendo dividido por área das análises clínicas, nomeadamente a Química Clínica, Hematologia, Imunologia e Microbiologia. Inerente a cada uma das valências é anunciado o equipamento de trabalho, o respetivo método, o fundamento teórico das análises realizadas no laboratório, bem como alguns exemplos decorridos durante este período.

2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

O Laboratório Dr^a Helena Rodrigues, situado nos Arcos de Valdevez, é uma unidade de saúde privada convencionada com o Serviço Nacional de Saúde e outros subsistemas, exercendo a sua atividade no âmbito da prestação de serviços na área das Análises Clínicas. Dentro desta área, o laboratório possui atualmente as valências de Hematologia, Bioquímica, Microbiologia, Imunologia, Endocrinologia Laboratorial e Estudo Funcional dos Metabolismos, Órgãos e Sistemas.

Possuidor de um Sistema de Gestão da Qualidade implementado de acordo com a Norma ISO 9001:2015 e certificado pela *Bureau Veritas*, o Laboratório Dr^a Helena Rodrigues assegura uma prestação de serviços de qualidade e excelência, bem como garante um serviço de proximidade, quer seja com o utente ou com o próprio clínico. A qualidade do serviço, dos resultados analíticos e da prontidão de resposta estabelece uma relação duradoura e de confiança entre Laboratório-Utente e Laboratório-Clínico.

O Laboratório de Análises Clínicas consta ainda de diversos postos de colheita de produtos biológicos, estando situados no Minho e Alto Minho, como Ponte da Barca, Soajo, Lanheses, Viana do Castelo, Vila Praia de Âncora, Vila Verde, Monção, Melgaço, Valença, Paredes de Coura e Ponte de Lima. Estes postos de colheita encontram-se ligados informaticamente ao laboratório central.

A realização de domicílios é uma prática do Laboratório, estando a aumentar em número em alguns concelhos, nomeadamente nos Arcos de Valdevez e Ponte da Barca. A elevada percentagem de população envelhecida e consequente morbilidade reduzida são os principais fatores apontados para a elevação desta prestação de saúde.

A direção técnica do Laboratório promove a evolução do laboratório enquanto unidade de prestação de serviços, nomeadamente na renovação dos equipamentos, atualização de técnicas e métodos de trabalho, bem como um desenvolvimento contínuo de conhecimentos da equipa, através de formações *online* dirigidas para os colaboradores, bem como formações presenciais para toda a equipa.

De modo a garantir um serviço de qualidade para os utentes, a todos os colaboradores fazem-se cumprir determinados deveres, como a adoção de um comportamento ético enquanto profissionais de saúde, o cumprimento de normas técnicas e funcionais instituídas pelo laboratório, bem como a preservação e cuidado de todo o material e equipamentos disponíveis.

As categorias profissionais da instituição caracterizam-se pela seguinte distribuição:

- Direção Técnica (Especialista em Análises Clínicas);
- Direção Técnica Adjunta (Especialista em Análises Clínicas);
- Técnicos Superiores;
- Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica;
- Técnicos Auxiliares;
- Administrativos;
- Funcionária de Higiene e Limpeza.

O laboratório é dividido em diversas áreas, como a área da receção, fazendo parte desta as casas de banho para os utentes (uma para o sexo feminino, outra para o sexo masculino e uma adaptada para os pacientes portadores de deficiência), uma sala de colheitas de produtos biológicos e uma área de espera dos utentes. Seguidamente encontra-se o armazém do laboratório, o gabinete da direção e um gabinete administrativo. A separação entre esta área e o laboratório é feita por uma porta de vidro devidamente sinalizada, onde é proibida a entrada a pessoas exteriores. A área de trabalho do laboratório é dividida em secções, como a área da triagem, a área da microbiologia, que se encontra separada fisicamente das outras, e as restantes áreas, como a química clínica, a hematologia e imunologia. Estas encontram-se divididas por bancadas. Ainda nesta área encontramos uma casa de banho para uso dos colaboradores do laboratório, bem como uma zona de vestiário.

3. REGISTO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

3.1 ADMISSÃO

O utente quando se dirige ao laboratório possui uma requisição de análises clínicas facultada pelo seu médico. Quando o utente já se encontra registado na nossa rede informática, apenas precisamos do seu cartão do laboratório, onde possui um número único de utente, sendo este válido apenas no nosso sistema informático. Quando se trata de um novo utente é necessário recolher todos os dados referentes à sua identificação (nome completo, morada, data de nascimento, NIF e contacto telefónico).

No momento da análise da requisição são confirmados diversos parâmetros, como o nome do utente, a validade da requisição, a assinatura do médico, bem como verificar que todos os códigos de barras e números se encontrem intactos e não rasurados.

A nível informático é indicado o nome do clínico que requisita as análises, juntamente com o seu número mecanográfico. Caso haja algum subsistema de saúde na posse do utente é acrescentado o respetivo número. No final, é pedido ao utente que assine a credencial, declarando que lhe foram prestadas todas as análises pretendidas.

3.2 IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

Cada requisição de análises possui um número de admissão, sendo utilizado um conjunto de 10 etiquetas autocolantes com o mesmo número e respetivo código de barras. Deste conjunto é destacada uma para colagem na requisição de análises e as outras para os tubos de análises necessários e/ou produtos biológicos (fezes, urinas, exsudados).

3.3 PROCESSAMENTO

Uma vez que cada utente possui um número de admissão, o sistema informático emite listas de trabalho conforme os diferentes equipamentos e divide as análises pedidas do mesmo utente. A identificação do tubo de amostra é feita pela leitura do código de barras inserida (etiqueta autocolante).

O sistema informático guarda todos os resultados pertencentes ao mesmo utente, sendo assim possível reunir o seu histórico. A emissão do boletim analítico leva consigo também os resultados da análise presente bem como da anterior, de modo ao médico possuir na hora uma fácil análise da história do seu utente.

4. CONTROLO DE QUALIDADE

As análises clínicas evoluíram ao longo dos tempos, dispondo atualmente de diversos métodos analíticas, técnicas e instrumentos de análise com elevada especificidade e sensibilidade. As amostras são processadas e analisadas segundo as regras de qualidade, de modo a obter resultados com o máximo rigor e confiança. Este controlo é feito nas diferentes fases do processo analítico, na fase pré-analítica, fase analítica e pós-analítica. A fase pré-analítica engloba o registo das amostras no sistema informático, a colheita da amostra do produto biológico e identificação da amostra/utente com um respetivo número, bem como o seu transporte. Segundo a literatura, esta fase corresponde ao maior número de erros. A fase analítica corresponde à análise da amostra propriamente dita. A fase pós-analítica consiste na validação do resultado.

O controlo de qualidade do Laboratório Dr^a Helena Rodrigues rege-se pela realização de controlos internos e controlos externos. Os controlos internos são efetuados diariamente, provenientes da empresa *Roche e Bio-Rad*, e efetuados antes das análises das amostras dos utentes. São analisados soros de controlos cujos resultados são previamente conhecidos. Assim, uma vez que os limites são pré-estabelecidos é possível corrigirmos e efetuarmos uma calibração caso seja necessário. Os soros utilizados como controlo possuem dois níveis, um com valores normais e outro com valores patológicos. Após efetuar a análise e inserirmos numa plataforma *online* (www.gcnet.com) conseguimos obter um gráfico com os dois níveis (normal e patológico), com o desvio padrão e respetivas médias.

O controlo externo é realizado sob a orientação da AEFA e INSA, sendo realizado mensalmente. Outros laboratórios inscritos no mesmo recebem amostras também para uma avaliação de qualidade externa, onde posteriormente é enviado um relatório para o laboratório onde podemos comparar os nossos resultados com a média de outros laboratórios.

I – QUÍMICA CLÍNICA

A química clínica é uma área das análises clínicas que engloba o estudo de diversas vias metabólicas do organismo humano, como o metabolismo dos lípidos, proteínas, glúcidos, bem como de diversas enzimas. Os parâmetros bioquímicos possíveis e prescritos pelos médicos para auxiliarem no diagnóstico médico são inúmeros, sendo os realizados no laboratório Dr^a Helena Rodrigues apresentados e discutidos seguidamente no presente relatório.

A análise das amostras em bioquímica exige uma centrifugação dos respetivos tubos de colheita, sendo estes os tubos de bioquímica (cor amarela, possuidor do anticoagulante em gel, e cor cinzenta, possuidor do anticoagulante fluoreto de sódio), de modo a analisarmos o soro dos utentes. Para tal, as amostras são centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos.

Quando nos referimos à análise da hemoglobina glicada, através do tubo roxo (tubo de hemograma), este não é necessário ser centrifugado, sendo analisada a amostra em sangue total no respetivo equipamento.

Em bioquímica temos também outros produtos biológicos para análise, como amostras de fezes e amostras de urina, seja urina de 24 horas, urina amostra (primeira da manhã) ou de outros intervalos de tempo.

O controlo de qualidade interno do Laboratório é realizado todos os dias antes da análise das amostras do dia. Este exige a passagem de dois níveis no equipamento, de modo a verificar se todos os testes a controlar (ex: glicose, ureia, etc) se encontram dentro dos parâmetros definidos. Assim, existe o Nível 1 e Nível 2 que são descongelados todos os dias e colocados no equipamento, onde, posteriormente, após a saída dos resultados, são introduzidos numa plataforma *online* (www.qcnet.com), verificando se os resultados estão dentro dos níveis estabelecidos ou não.

1. Equipamentos e Metodologia em Bioquímica

1.1 Equipamento COBAS INTEGRA 400

O COBAS INTEGRA 400 é constituído por uma unidade analítica e uma unidade de controlo. A unidade analítica consiste no aparelho em si, onde são colocadas e

processadas as amostras, sendo constituído por diversos reagentes auxiliares, pelas cassetes individuais de cada teste, pelas cuvetes, agitadores, sistema de refrigeração, bem como pelo sistema de lavagem. A unidade de controlo é constituída por um computador onde se determinam as ações a fazer, se verificam e imprimem resultados. É através do ecrã que são lançados os avisos de segurança, podendo estes ser devido a erros de amostra (valores superiores ou inferiores ao limite de deteção, deteção de coágulo ou amostra insuficiente) ou erros do sistema [1].

No início do dia de trabalho é necessário efetuar o controlo de qualidade através de amostras controlo, onde se passa o nível normal e o nível patológico. Estes controlos devem produzir resultados que se encontrem dentro dos limites pré-estabelecidos, assegurando que se encontra operacional e capaz de produzir resultados com confiança. Para realizar esta tarefa é necessário descongelar estes dois níveis e colocar numa *rack* específica no aparelho. Após os resultados são inseridos na plataforma, verificando que todos se encontram nos intervalos específicos.

Metodologia

No COBAS INETGRA 400 estão diversos métodos operacionais, de acordo com o tipo de teste a realizar, como:

- ✓ Turbidimetria
- ✓ Nefelometria
- ✓ Espectrofotometria
- ✓ Colorimetria
- ✓ Enzimático

Parâmetros Analisados

- ✓ Ácido úrico
- ✓ Albumina
- ✓ Amílase
- ✓ ASO
- ✓ Bilirrubina Total
- ✓ Bilirrubina Direta
- ✓ Capacidade de Fixação do Ferro

- ✓ Colesterol Total
- ✓ Colesterol HDL
- ✓ Colesterol LDL
- ✓ Cálcio
- ✓ Creatinina
- ✓ CK
- ✓ Ferro
- ✓ Fosfatase Alcalina
- ✓ Fósforo
- ✓ Gama GT
- ✓ Glicose
- ✓ IgA; IgG; IgM
- ✓ Magnésio
- ✓ Microalbumina
- ✓ Proteínas Totais
- ✓ TGO
- ✓ TGP
- ✓ Transferrina
- ✓ Triglicerídeos
- ✓ Ureia

1.2 Equipamento SPOTLYTE

O Spotlyte é um analisador automático com microprocessador capaz de medir eletrólitos através de sangue total, plasma, soro ou urina (24h). A calibração deste, bem como a impressão de resultados, é realizada automaticamente [2].

O controlo de qualidade efetuado todos os dias antes do processamento das amostras é constituído pelas amostras controlo de dois níveis, o nível normal e patológico.

Metodologia

Potenciometria Directa

A análise baseia-se na medida do potencial elétrico numa célula eletroquímica entre dois elétrodos, o eletrodo de referência e o eletrodo indicador

Parâmetros Analisados

- ✓ Cloreto
- ✓ Sódio
- ✓ Potássio
- ✓ Lítio

1.3 Equipamento AUTION 11 AE-4020

O AUTION 11 AE-4020 é um sistema automático de análise de urina. Este analisador permite, através do uso de tiras-teste, avaliar com rapidez e precisão alguns parâmetros bioquímicos como, glicose, proteínas, bilirrubina, urobilinogénio, pH, densidade, sangue, cetonas, nitritos e leucócitos.

Através destes parâmetros é possível termos indicação da função metabólica, da função renal, produtos de excreção, alguma lesão no trato urinário ou distúrbios sistémicos, como a *diabetes mellitus*. A avaliação destes parâmetros bioquímicos na urina é um auxílio ao diagnóstico e monitorização de tratamento [3].

Metodologia

A tira-teste é mergulhada na urina durante alguns segundos, onde os reagentes da tira e a urina entram em contacto, permitindo que a cor da tira se altere. Posteriormente é colocada no equipamento para a realização da sua leitura. A medição das tiras é realizada por reflexão e a densidade da amostra é calculado pelo método do índice de refração. Este índice consiste na medição dos ângulos de refração da luz ao passarem por um prisma triangular, onde se encontra a urina. Este índice de refração varia consoante a densidade da amostra de urina.

Parâmetros Analisados

- ✓ Análise Sumária de urina

1.4 Equipamento ADAMS A1c HA-8160

O ADAMS A1c HA-8160 é um sistema de HPLC que utiliza sangue total como amostra para a determinação da hemoglobina glicada. Este possui a capacidade de efetuar as suas calibrações automáticas e manuais. Incorporado no equipamento está uma impressora capaz de emitir o cromatograma com os resultados da medição, imprimindo automaticamente após as análises das amostras [4].

Metodologia

Cromatografia de troca catiónica em fase invertida (HPLC)

A cromatografia líquida é um método de separação de compostos químicos em solução, sendo constituída por uma bomba, por uma fase móvel e por uma coluna de fase estacionária. Uma vez sendo uma cromatografia de fase reversa ou invertida, a fase estacionária é hidrofóbica, onde as moléculas hidrofóbicas da fase móvel polar vão adsorver à fase estacionária. As moléculas hidrofílicas passarão pela coluna e vão ser eluídas primeiro.

Parâmetros Analisados

- ✓ Hemoglobina glicada

1.5 Equipamento VALENT PRO

O Valent Pro é um aparelho de bancada, semi-automatizado, capaz de realizar eletroforeses de proteínas. Este é constituído por uma unidade analítica, por um computador com sistema operativo, uma impressora, uma placa de comunicação e um *software* de manuseamento, onde se encontram os programas e menus com diversas definições [5].

Metodologia

Eletroforese

A eletroforese de proteínas consiste na separação das proteínas nas suas frações pela análise do soro. Esta análise consiste na migração de partículas carregadas eletricamente, estando expostas a uma corrente elétrica. As moléculas migram distâncias diferentes de acordo com o seu peso molecular e carga elétrica. As frações das proteínas são quantificadas por densitometria, onde posteriormente é gerado um gráfico com a representação das bandas [5].

Parâmetros Analisados

- ✓ Eletroforese de proteínas

2. DETERMINAÇÕES NO SANGUE

2.1 Glúcidos

2.1.1 Glicose

A glicose é a principal fonte de energia do organismo, sendo obtida pela alimentação, pelo glicogénio, a unidade de reserva, bem como pela síntese endógena.

Os níveis de glicose no sangue são mantidos no organismo dentro de um intervalo estreito, sendo regulada por diversas enzimas, como a insulina e glucagon. Assim, existe uma homeostasia de forma a evitar que não ocorra níveis demasiadamente baixos, podendo causar inconsciência e até mesmo a morte, bem como evitar níveis demasiadamente elevados, podendo provocar a *diabetes mellitus*, a causa mais frequente de hiperglicemia.

As determinações da glicose são utilizadas no diagnóstico das patologias do metabolismo dos hidratos de carbono, como a *diabetes mellitus*, a hipoglicémia neonatal e idiopática [1].

2.2 Lípidos

As desordens associadas aos lípidos, as dislipidémias, englobam anomalias de cariz quantitativo e qualitativo destes constituintes no sangue. Estas anomalias podem-se apresentar de diversas formas, como um aumento dos níveis de triglicerídeos, pelo aumento do colesterol ou ainda pela combinação destes dois fatores (dislipidémia mista). Associado a esta anomalia pode ocorrer ainda um défice dos níveis de HDL, o chamado “bom colesterol”.

A dislipidémia é dos principais fatores desencadeantes de aterosclerose, sendo, segundo a Sociedade Portuguesa de Cardiologia, o principal fator de morte nos países desenvolvidos, como Portugal [6].

2.2.1 Triglicerídeos

Os triglicerídeos são ésteres constituídos por glicerol e ácidos gordos, sendo produzidos e armazenados no organismo. A determinação dos triglicerídeos é utilizada no diagnóstico de diversas patologias, como alteração do metabolismo dos lípidos e doenças endócrinas [1].

2.2.2 Colesterol Total

O colesterol é um esteroide proveniente de duas fontes, da dieta alimentar, bem como sintetizado no organismo, principalmente no fígado. Esta molécula é precursora de inúmeras vias metabólicas, nomeadamente da Vitamina D, hormonas do córtex adrenal e das gónadas e alguns constituintes das células, como a parede celular. Associado a este esteroide estão alguns fatores apontados como influenciadores dos níveis de colesterol, como a dieta, o peso corporal, a atividade física, bem como a hereditariedade.

Quando os níveis de colesterol estão demasiadamente elevados, este deposita-se nas artérias, diminuindo o fluxo de sangue e aumentando o risco cardiovascular. Assim, a determinação dos níveis de colesterol são utilizados para despistagem do risco aterogénico, perturbações do metabolismo lipídico e lipoprotéico [1][6][7].

2.2.3 Colesterol LDL

As lipoproteínas são constituídas por lípidos e proteínas de modo a conseguirem transportar os lípidos na corrente sanguínea. Deste modo, o colesterol, sendo um lípido, circula no nosso organismo associado a estas partículas esféricas, sendo uma delas as LDL, lipoproteínas de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein*).

As LDL transportam o colesterol do fígado para células e tecidos do organismo, aumentando assim o desenvolvimento de aterosclerose. Este é conhecido como o “mau colesterol” [1].

O doseamento do colesterol-LDL pode ser calculado laboratorialmente pela fórmula de Friedewald, desde que tenhamos o doseamento do colesterol total, dos triglicéridos, do colesterol-HDL e do colesterol-VLDL. A aplicação desta fórmula é apenas válida quando o doseamento dos triglicéridos é inferior a 400 mg/dL, onde a fórmula é a seguinte [7]:

$$\text{Colesterol-LDL (mg/dL)} = \text{Colesterol total} - \text{Colesterol-HDL} - \text{Colesterol-VLDL}$$

Onde,

$$\text{Colesterol-VLDL} = \frac{\text{triglicéridos}}{5}$$

2.2.4 Colesterol HDL

As lipoproteínas de alta densidade, as HDL (*High Density Lipoprotein*) são responsáveis pelo transporte do colesterol dos tecidos e células periféricas para o fígado. No fígado este colesterol é degradado em ácidos biliares, sendo seguidamente excretado. Este é conhecido como o “bom colesterol”.

As concentrações séricas do colesterol-HDL devem ser monitorizadas, pois existe uma correlação inversa entre as concentrações deste colesterol e o risco de desenvolver doença aterosclerótica. Quando os níveis desta lipoproteína estão elevadas, existe uma certa proteção para o desenvolvimento de doenças coronárias [1].

2.3 COMPOSTOS NITROGENADOS NÃO-PROTEÍCOS

2.3.1 Ureia

A ureia é o principal produto final do metabolismo das proteínas, sendo utilizada para avaliação da função renal. O ideal será fazer-se acompanhar de outros parâmetros bioquímicos, como a creatinina, uma vez que a ureia é afetada por diversos fatores que comprometem o seu valor real, como o facto de ser filtrada pelo glomérulo e reabsorvida pelos túbulos, excretada pela pele e sistema digestivo, bem como o fator dieta e grau de hidratação.

Os valores aumentados de ureia no sangue podem ser observados devido a causas pré-renais, como diminuição do volume de sangue, perfusão inadequada ou aumento da produção de ureia; devido a causas renais, como nefrite crônicas ou necroses tubulares, e como causas pós-renais, apontando a obstrução do aparelho renal como principal razão. A subida transitória pode-se verificar durante períodos de elevada ingestão proteica, sem necessariamente indicar patologia [1][7].

2.3.2 Creatinina

A creatinina é um produto da degradação da creatina, sendo esta última de origem exógena (alimentar) ou sintetizada em diferentes órgãos, como o rim, fígado, pâncreas, cérebro e músculo. A creatina é responsável pelo armazenamento de energia em diversos tecidos, sendo maioritariamente armazenada no músculo e cérebro sob a forma de creatina-fosfato, pela enzima creatina cinase (CK). Posteriormente, a creatina e a creatina fosfato são convertidas em creatinina, sendo este produto excretado a nível renal. A creatina varia também com a idade, sexo e massa muscular do indivíduo. Assim, a quantidade de creatinina endógena produzida é proporcional às variantes do indivíduo.

Logo, a taxa de excreção da creatinina correlaciona-se com a produção endógena, num indivíduo com ausência de doença renal.

Em casos de patologia renal, há um aumento da creatinina e ureia séricas, sendo aumentados em doentes com patologias graves de doença renal, principalmente com filtração glomerular diminuída.

Os níveis de creatinina e de ureia são doseados na pesquisa de patologia renal, sendo a creatinina mais fiável como teste de *screening* da função renal, pois mantém um valor mais constante e não é afetado por fatores exteriores. Contrariamente, a ureia no soro é afetada pela dieta, pelo grau de hidratação e metabolismo proteico [1].

2.3.3 Ácido úrico

As purinas são bases nitrogenadas necessárias para a formação dos nucleótidos e ácidos nucleicos. A degradação destas leva à formação de ácido úrico, sendo este excretado na urina.

O ácido úrico quando se encontra em concentrações demasiadamente elevados precipita em forma de cristais. Consequentemente, a deposição destes cristais provoca o desenvolvimento de diversas patologias, como a gota, uma inflamação dolorosa nas articulações e tecidos moles.

O doseamento do ácido úrico é usado no diagnóstico de perturbações renais, como insuficiência renal, metabólica, e gota [1].

2.4 COMPOSTOS NITROGENADOS PROTEICOS

2.4.1 Hemoglobina glicada

A hemoglobina glicada Hb A1 resulta da reação da glicose que circula no sangue com os grupos amina livres da hemoglobina. A glicação ocorre durante 120 dias, o período de sobrevivência dos glóbulos vermelhos, refletindo assim a glicemia nas últimas 8 a 12 semanas.

É possível isolar diferentes frações da Hb A1, como a Hb A1a, Hb A1b e Hb A1c. No entanto, apenas a Hb A1c reflete o grau de glicação da hemoglobina, pois é a mais abundante e ocorre num processo irreversível, tornando-se mais estável para a monitorização.

A hemoglobina glicada é determinada em todos os indivíduos com *diabetes mellitus* para avaliar o controlo glicémico. Esta análise deve ser considerada de 6 em 6

meses ou de 3 em 3 meses, nos casos de pacientes com alteração da terapêutica ou que não consigam atingir os objetivos terapêuticos [4][8].

2.4.2 Proteínas Totais

O plasma é constituído por inúmeras proteínas, sendo estas produzidas no fígado, células plasmáticas, gânglios linfáticos, medula óssea e baço. A concentração de proteínas totais, bem como a fração de proteínas individuais, podem apresentar desvios significativos dos valores normais.

Uma baixa concentração de proteínas, chamada de hipoproteinemia, pode estar associado ao desenvolvimento do síndrome nefrótico, onde o excesso de permeabilidade glomerular leva a um excesso de proteínas excretadas na urina e por consequente um défice destas no soro. Pode estar também associado a perdas de sangue, bem como queimaduras extremamente graves. Os casos de hiperproteinemia verificam-se em indivíduos em estado de desidratação grave.

O doseamento das proteínas totais é utilizado no diagnóstico de diversas patologias hepáticas, renais e da medula óssea, bem como doenças metabólicas e nutricionais [1].

2.4.3 Albumina

A albumina é a proteína plasmática que se encontra em maior percentagem, correspondendo a 55-65% das proteínas totais. Esta é sintetizada no fígado, possuindo um tempo de semivida no plasma de 20 dias. A albumina exerce diversas funções no organismo, como a manutenção da pressão osmótica do plasma, possui a capacidade de transporte e armazenamento de iões tóxicos, alguns fármacos, bem como solubiliza alguns compostos, como a bilirrubina, o cálcio e ácidos gordos de cadeia longa.

A concentração de albumina quando se encontra em níveis baixos pode apresentar, como principais causas, uma síntese diminuída (característico de uma má nutrição), mal absorção (doença de Crohn), patologia hepática crónica, de uma distribuição anormal ou hemodiluição e por uma excreção aumentada, incluindo o síndrome nefrótico, queimaduras graves, hemorragias ou estados catabólicos aumentados.

A hiperalbuminemia verifica-se em casos de desidratação, onde ocorre um aumento da concentração no plasma desta proteína [1].

2.4.4 Eletroforese de Proteínas

As proteínas plasmáticas podem ser separadas por eletroforese, chamado de proteinograma. Estas são constituídas por diversos aminoácidos que exercem diversas funções no organismo, onde um excesso ou um déficit pode trazer consigo complicações. As 5 bandas observadas num proteinograma normal são a albumina, α_1 , α_2 , β e δ . As proteínas associadas a cada banda são as seguintes:

α_1 -Globulinas: α_1 -antitripsina

α_1 -glicoproteína ácida

α_1 -fetoproteína

α_1 -lipoproteína (HDL)

α_2 -Globulina: haptoglobina

α_2 -macroglobulina

ceruplasmina

β -Globulinas: pré- β lipoproteína (VLDL)

β -lipoproteína (LDL)

transferrina

hemopexina

complemento

fibrinogénio

proteína C reativa

δ -Globulinas: imunoglobulinas G, A, D, M, E

Relativamente a todas estas proteínas plasmáticas, algumas delas são proteínas de fase aguda, sendo produzidas pelo fígado independentemente da origem da inflamação. Estas surgem devido a inúmeras causas, desde infeções, lesões, queimaduras, entre outros estados diversos. Estas proteínas são a α_1 -antitripsina, α_1 -glicoproteína ácida, haptoglobina, ceruplasmina, fibrinogénio e proteína C reativa.

A alteração das concentrações relativas das proteínas leva a alguns perfis característicos, como a reação de fase aguda, que é provocada pelo aumento da banda α_1 e α_2 com a diminuição da albumina. O síndrome nefrótico é característico pela baixa de albumina e de δ e aumento da banda α_2 e/ou β . O aumento da banda β sugere anemia por deficiência em ferro (aumento da transferrina) ou por altos níveis de estrogénio. O aumento da banda δ sugere uma reação imune, doença inflamatória

crónica ou doença hepática, já a ausência ou diminuição significativa desta banda indica uma imunodeficiência congénita ou adquirida. A fusão da banda β e da banda δ é sugestivo de uma cirrose, infeção das vias respiratórias, infeção da pele ou artrite reumatoide [9].

2.4.5 Proteína C reativa e Proteína C reativa ultrasensível (hsCRP)

A resposta de fase aguda refere-se à resposta inflamatória do hospedeiro, desenvolvendo uma resposta local e uma resposta sistémica. Esta resposta sistémica é assim caracterizada pelo aumento de proteínas de fase aguda sintetizadas pelo fígado, independentemente da origem da inflamação.

A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda, onde diversos fatores são responsáveis pelo seu aumento, como lesão tecidual, cirurgia, infeções, trauma, doenças oncológicas e imunológicas. Esta proteína antecede muitas vezes os sintomas clínicos, aumentado extensivamente após uma resposta de fase aguda.

Segundo a *American Heart Association* recomendam que a hsCRP deve ser utilizada como marcador para prever o risco de doença cardíaca coronária em pessoas saudáveis e avaliar o prognóstico de eventos recorrentes. No entanto, faz parte da recomendação nunca abandonar a história clínica, resultados anteriores e avaliações dos fatores de risco cardiovasculares tradicionais [1].

O doseamento desta proteína é requerido para monitorização clínica (como por exemplo no pós-operatório) e diagnóstico da gravidade de uma doença [1].

2.4.6 Transferrina

A transferrina é uma proteína plasmática com capacidade de transportar o ferro. Esta proteína é capaz de transportar outros elementos, assim como o cobre, zinco, cobalto e cálcio. No entanto, é apenas a ligação ao ferro e ao cobre que apresenta significado fisiológico.

O ferro encontra-se essencialmente ligado à transferrina, sendo o seu nível circulante muito baixo. Os níveis elevados de transferrina encontram-se em anemia ferripriva, onde o nível de ferro no soro é baixo e a % de saturação da transferrina também está igualmente baixa. Os níveis baixos de transferrina devem-se a condições inflamatórias, onde o ferro no soro se encontra baixo e a % de saturação da transferrina encontra-se em níveis normais.

O doseamento da transferrina, juntamente com a ferritina e a % de saturação da mesma, são importantes no diagnóstico e monitorização de diversas patologias, como de anemia, hemocromatose e inflamação [1].

2.4.7 Imunoglobulinas IgA, IgG e IgM

As imunoglobulinas (Tabela 1) são glicoproteínas produzidas nos plasmócitos com capacidade de atacar proteínas estranhas ao organismo, os antigénios. Estas são responsáveis pelo sistema imunitário onde exercem diversas funções, como opsonização de antigénios, destruição celular e fagocitose pelo sistema de complemento.

Existem 5 classes de imunoglobulinas, IgA, IgE, IgM, IgG e IgD, sendo a sua localização e funcionalidade a principal diferença entre as classes. Em resposta a infeções existe um aumento das imunoglobulinas de todas as classes no soro. No entanto, pode existir proliferação de uma célula maligna de apenas uma célula produtora de imunoglobulinas, provocando o aumento sérico de apenas uma imunoglobulina, o plasmocitoma. As deficiências de imunoglobulinas podem dever-se a deficiência de proteínas, deficiências hereditárias ou consequência de doenças malignas linfoides.

Tabela 1 - Imunoglobulinas

IgA	O aumento da IgA está inerente a: -infeções cutâneas, -infeções respiratórias, -infeções renais
IgM	O aumento da IgM está inerente a: -doenças hepáticas (cirroses e hepatites), -doenças autoimunes -doenças virais agudas e crónicas
IgG	O aumento da IgG está inerente a: -doenças autoimunes, -hepatites crónicas

Adaptado de Roche. 2007 [1].

2.4.8 Enzimas

As diferentes enzimas realizadas no Laboratório Dr^a Helena Rodrigues são mencionadas na seguinte tabela.

Tabela 2 - Enzimas

Enzima	Morfologia /Função	Interpretação
ALT (TGP)	Responsável por catalisar a conversão de α -cetoácidos em aminoácidos.	Elevação em casos de: -cirrose hepática, -hepatites, -icterícia obstrutiva, -carcinoma do fígado, -abuso excessivo de álcool.
AST (TGO)	Existem duas isoenzimas: - citoplasmática (doseada no soro) -mitocondrial Responsável por catalisar a conversão de α -cetoácidos em aminoácidos.	Elevação em casos de: -lesão do músculo cardíaco e esquelético, -lesão do parênquima hepático, -hepatite virais, -doenças hepatobiliares, -infarto do miocárdio.
GGT (enzima transmembrana)	Responsável por catalisar a transferência de grupos gama-glutamil entre moléculas	Elevação em casos de: -doenças hepatobiliares, como hepatites e cirroses hepáticas
LDH (enzima intracelular)	Existem diversas isoformas, como: -LDH-1 no coração, -LDH-5 na musculatura. Encontra-se amplamente distribuída no nosso organismo: fígado, coração, rins, glóbulos vermelhos e músculo. Responsável pela formação de energia.	Elevação em casos de: -infarto do miocárdio, -infarto pulmonar, -anemia hemolítica, -transtornos hepáticos.

FA	É produzida em diversos órgãos, como ossos, fígado, intestino e placenta. Responsável por remover grupos fosfato.	Elevação em casos de: -colestase, -doenças do sistema esquelético, -fraturas, -tumores malignos, -em adolescentes devido ao seu crescimento.
Amilase	Duas isoformas: -alfa-amilase tipo P (Pancrática), -alfa-amilase tipo S (salivar), tendo várias origens, como saliva, lágrimas, suor, leite materno, líquido amniótico, pulmão e trompas de falópio. Responsável pela degradação dos hidratos de carbono.	Elevação em casos de: -pancreatite aguda, -pancreatite crônica, -insuficiência renal - alguns tumores
Lipase	Responsável por converter os triglicerídeos para diglicerídeos e consequentemente em monoglicéridos e ácidos gordos.	Elevação em casos de: -pancreatite aguda
CK	Existem três isoformas: -CK-MM (encontrada no músculo esquelético), -CK-MB (encontrada no miocárdio) - CK-BB (encontrada no cérebro). Responsável pela formação de energia.	Elevação em casos de: -isquemia cerebral, -doença vascular cerebral aguda, -traumatismo craniano

Adaptado de Roche. 2007 [1].

2.5 Iões orgânicos

Tabela 3 – Iões Orgânicos

Ião Orgânico	Desordem
Cálcio	Níveis baixos: devem-se a diversos fatores, como hipoparatiroidismo, deficiência de Vitamina D, má absorção ou alimentação e doença renal que leva à síntese diminuída de 1,25-DHCC. Níveis superiores: pode dever-se a hipertiroidismo ou a patologias diversas, uma vez que se trata de um sintoma não específico [1][9].
Sódio	Níveis baixos: perda de água de diferentes formas, como excreção, ingestão diminuída ou sudorese. Pode dever-se também pelo aumento do sódio, pela ingestão ou retenção deste ião, pela insuficiência renal com a incapacidade de excretar o sódio. Níveis superiores: retenção de água, diluindo o sódio do compartimento extracelular, bem como pela perda de sódio [1][9].
Potássio	Níveis baixos: as suas causas podem ser perdas gastrointestinais, como vômito, diarreia ou fístulas, por patologia renal, bem como uso de diuréticos e corticosteroides ou produção aumentada de aldosterona [1][9]. Níveis superiores: pode-se dever a diversas causas, como insuficiência renal, pela libertação de potássio das células lesadas, deficiência de mineralocorticoides (doença de Addison) ou provocada por fármacos [1][9].
Cloreto	Níveis baixos: redução da ingestão de alimentos e perda de água, como vômitos, diarreias prolongadas e redução da absorção. Níveis superiores: desidratação ou insuficiência renal [9].

Fósforo	Níveis baixos: o hiperparatireoidismo, deficiências congênitas na reabsorção de fosfato, dietas pobres e tratamento com anti-ácidos [1]. Níveis superiores: pode resultar de diversas situações, como uma insuficiência renal, estando a sua excreção diminuída, o hipoparatiroidismo, onde a concentração baixa de PTH leva à diminuição de excreção pelos rins e hemólise intravascular [1].
Magnésio	Níveis baixos: verifica-se em situações de má alimentação ou má absorção, diarreias, sucção nasogástrica prolongada, terapêuticas diuréticas e citotóxicas, problemas crónicos relacionados com o álcool, pancreatite aguda e patologias do foro renal. Níveis superiores: ocorre em diversas situações, como na insuficiência renal e na desidratação [1].
Lítio	Administrado como tratamento de desordens psíquicas e maníacos, sendo considerado um estabilizador de humor. O seu doseamento é utilizado para monitorização da adesão à terapêutica, avaliar a janela terapêutica, bem como impedir estados de intoxicação. Os sintomas de intoxicação levam a um desenvolvimento de tremuras, fraqueza muscular, náuseas, dor abdominal e vômitos. O envenenamento pode desenvolver distúrbios renais.
Ferro	Níveis baixos: situações, como diminuição da ingestão de proteínas animais, patologias de absorção, hemorragias devido a cirurgias, determinadas condições fisiológicas como a gravidez e anemia por deficiência de ferro. Níveis superiores: são encontrados em patologias como a hemocromatose [1][9].

Adaptado de Roche. 2007 [1].

Observação:

Durante o meu período de estágio visualizei algumas amostras hemolisadas. Estas podem elevar falsamente os níveis de potássio, uma vez que existe uma libertação

do ião pelo eritrócito. Quanto à realização da punção existem alguns fatores a ter em atenção, como a colocação do garrote, devendo este estar posicionado alguns centímetros acima do local da punção, bem como não deve ser mantido durante um tempo prolongado.

Quanto aos anticoagulantes, é necessário evitar o EDTA, amónia-heparina e NaF, devido às suas propriedades quelantes.

2.6 Outras determinações analíticas

2.6.1 Bilirrubina Total e Bilirrubina Direta

A bilirrubina resulta da degradação do grupo heme da hemoglobina presente nos eritrócitos envelhecidos e com deficiência. A bilirrubina é transportada para o fígado através da albumina, chamada de bilirrubina indireta ou bilirrubina não conjugada. Depois de chegar ao fígado, esta sofre conjugação com o ácido glucurónico, de modo a se tornar solúvel. Esta bilirrubina é chamada de bilirrubina conjugada ou direta. Após este processo, a bilirrubina é direcionada para a bÍlis, sendo depois eliminada.

Diversas patologias levam a que processos hemolíticos produzam bilirrubina muito mais rapidamente do que a capacidade do fígado excretar, fazendo com que os níveis de bilirrubina não conjugada aumentem no soro [1].

2.6.2 Capacidade de Fixação do Ferro (CTFF)

O ferro total do organismo representa cerca de 3.5 g, onde a sua maioria se encontra nos eritrócitos. Este ião no plasma circula ligado à proteína apotransferrina, formando o complexo transferrina. No entanto, apenas alguns locais de ligação do ferro na transferrina estão ocupados com este ião. Assim, a quantidade restante de ferro que pode ser ligada é a capacidade de ligação do ferro sérico. A soma do ferro sérico e desta capacidade de ligação é designada pela capacidade de fixação do ferro total. Esta é a medição da concentração máxima de ferro que pode ser ligada pela transferrina.

Em casos de anemia por deficiência de ferro, a capacidade de fixação do ferro total encontra-se elevada e a saturação da transferrina baixa. Valores baixos de capacidade de fixação do ferro total estão relacionados com tumores, malignos e infeções [1].

2.6.3 Percentagem de saturação da Transferrina

A percentagem de saturação da transferrina é calculada através da expressão:

$$\%ST = \frac{\text{ferro sérico}}{CTFF}$$

2.6.4 Estreptolisina O

Os *estreptococcus* do grupo A, na classificação de Lancefield, são responsáveis por causar diversas patologias, como doenças de pele ou amigdalites, podendo evoluir para glomerulonefrite, endocardite aguda e febre reumática. A estreptolisina O é uma exotoxina hemolítica estreptocócica, sendo detetada por anticorpos antiestreptolisina O (ASO). A determinação dos níveis de anticorpo é vastamente utilizado para diagnóstico e monitorização, podendo avaliar se o tratamento foi bem sucedido ou não. Em 85% dos doentes com febre reumática verificou-se uma elevação do título ASO, daí que esta elevada correlação leva ao uso frequente deste parâmetro para diagnóstico e consequente monitorização [1].

2.6.5 Bicarbonato

O bicarbonato corresponde a uma fração dos iões bicarbonato, carbonato e compostos carbamino. No entanto, no sangue, o carbonato corresponde a uma fração ínfima, cerca de 1/1000 de bicarbonato e o composto carbamino corresponde a uma fração pequena que não costuma ser especificada. O bicarbonato atua como um sistema tampão, de modo a evitar oscilações de pH no sangue [1].

3. DETERMINAÇÕES NA URINA

3.1 Análise Sumária de urina- tipo II

A análise sumária de urina engloba a realização de diferentes técnicas, como a análise física, química e análise microscópica do sedimento.

3.1.1 Análise física

✓ **Aspetto**

O aspeto da urina de um indivíduo normal caracteriza-se por ser aparentemente límpida. No entanto, pode ocorrer uma ligeira turvação da urina devido a diversos fatores, podendo estes não ser necessariamente patológicos, como a precipitação de cristais e de sais amorfos não patológicos. A presença de elevada quantidade células epiteliais, de bactérias, cristais, leucócitos e hemácia são indicativos de uma turvação patológica.

É necessário que a urina seja bem colhida em termos de horário fisiológico, como sendo a primeira da manhã e rejeitando o primeiro jacto. Esta deve ser colhida corretamente em termos de higienização, de modo a evitar artefactos e contaminações, como a presença de material fecal, antissépticos, matéria gorda ou talcos.

✓ **Cor**

A cor natural da urina caracteriza-se por ser amarela, podendo esta variar de tom, sendo mais escura ou clara de acordo com diversos fatores, como a alimentação, medicação, hidratação ou estado patológico dos indivíduos.

A cor vermelha na urina pode ser indicativo de hemoglobina, hemácias ou devido a alguns fármacos. Já uma cor muito escura se deve à presença de bilirrubina.

✓ **Odor**

A urina normal apresenta um aroma característico, ligeiramente aromático. No entanto, este pode se tornar mais intenso e mais amoniacal devido ao seu repouso prolongado ou quando exposto à temperatura ambiente, devido à decomposição pelas bactérias presentes. No entanto, a medicação e alimentação influenciam a variação do seu odor.

3.1.2 Análise química

✓ Glicose

A glicose é filtrada no glomérulo, mas é posteriormente reabsorvida no túbulo proximal. No entanto, quando o nível de glicose excede o seu limite, entre 180 e 200 mg/dL, a glicose aparecerá na urina, não sendo reabsorvida para o sangue. Estes casos são encontrados em indivíduos com *diabetes mellitus*, onde a glicosúria é frequente.

✓ Proteínas

As proteínas não costumam passar para o glomérulo, uma vez que não são filtradas e ficam no sangue. Assim, quando as proteínas aparecem na urina são indicativo de uma lesão renal.

Interferências: Pode ser detetada algumas proteínas na urina em indivíduos saudáveis devido a alterações fisiológicas, como o excesso de exercício, o *stress*, a alimentação, bem como a fase pré-menstrual [11].

✓ Bilirrubina

A bilirrubina resulta da degradação da hemoglobina quando há lise das hemácias. A presença de bilirrubina urinária é indicativa de processos patológicos que aumentam a bilirrubina conjugada. Estes aumentos podem ser indicativos de problemas hepáticos.

✓ Urobilinogénio

O urobilinogénio resulta da degradação da bilirrubina, um produto reduzido pela ação das bactérias do trato gastrointestinal, sendo a sua maioria excretado nas fezes. A presença deste produto na urina indica a presença de processos hemolíticos ou disfunção hepática no organismo.

Interferências: O excesso de exercício ou determinadas bebidas podem provocar deteção de urobilinogénio na urina [11].

✓ **pH urinário**

O pH urinário é normalmente ácido, uma vez que é pelo rim que é excretado os ácidos do corpo, metabolitos e toxinas. No entanto, o pH da urina pode se tornar mais alcalino devido à presença de bactérias que alcalinizam a urina, bem como a sua alimentação, medicação ou vômito. Amostras de urina com pH mais ácido podem dever-se a diversas situações também, como a dieta rica em proteínas e alguns fármacos.

✓ **Densidade**

A densidade da urina avalia a concentração de substâncias sólidas diluídas na urina. Este parâmetro reflete a avaliação renal, uma vez que o rim possui a capacidade de eliminar os resíduos e toxinas do corpo, concentrando-a na urina. Assim, valores entre 1,000 e 1.030 são normalmente observado, onde dependendo da concentração urinária este valor se aproxima mais de 1.030, já para urinas diluídas valores mais aproximados de 1.000 são os esperados.

✓ **Sangue**

A presença elevada de hemoglobina ou hemácias na urina, designando respectivamente por hemoglobinúria e hematúria, indicam a possibilidade de sangramento em algum local do aparelho urinário. É possível, em determinadas situações, a hematúria apenas ser visível microscopicamente e não macroscopicamente pela observação da cor típica avermelhada.

✓ **Cetonas**

Os corpos cetônicos são formados pela quebra dos ácidos gordos, originando uma acidose metabólica quando estes se encontram em quantidades elevadas, baixando o pH para níveis extremamente baixos. Estas situações ocorrem frequentemente em indivíduos com a *diabetes mellitus* não controlada em período de jejum prolongado ou desnutrição, onde o organismo não utiliza os hidratos de carbono para a formação de energia mas sim os lípidos, levando à formação de cetonas.

✓ **Nitritos**

A presença de nitritos na urina indica que estamos perante uma infecção urinária causada por microrganismos capazes de reduzir os nitratos a nitritos, por exemplo, as enterobactérias. No entanto, caso este parâmetro seja negativo para a obtenção de

nitritos, não exclui uma infeção urinária, uma vez que pode ser causada por outras bactérias.

✓ **Leucócitos**

A presença de leucócitos na urina, células brancas responsáveis pela defesa no organismo, é indicativo de infeção nas vias urinárias. No entanto, podem estar presentes devido a outras situações que não sejam uma infeção urinária.

3.1.3 Análise microscópica

A análise microscópica do sedimento urinário consiste numa ferramenta semi-quantitativa para observação dos elementos celulares presentes, como células epiteliais, leucócitos, hemácias, bactérias, cilindros, cristais, leveduras e outros elementos possíveis.

Através da análise ao microscópio vemos se a amostra reflete uma boa colheita ou não, pela análise da quantidade de células descamativas presentes. No entanto, sabemos que na mulher é mais frequente o aparecimento de um maior número de células.

No sedimento urinário é observado e registado os seguintes elementos:

- ✓ Células epiteliais
- ✓ Leucócitos
- ✓ Hemácias
- ✓ Cilindros (hialinos, hialino-granulosos e cerosos)
- ✓ Cristais (patológicos e não-patológicos)
- ✓ Presença ou não de bactérias
- ✓ *Trichomonas vaginalis*
- ✓ Espermatozoides
- ✓ Artefactos e Contaminações

Método

A amostra de urina é homogeneizada previamente e colocada num tubo cónico, enchendo-o aproximadamente com 10 ml de urina. Seguidamente é centrifugado a 1500

rpm durante 5 minutos, onde posteriormente é rejeitado o sobrenadante de modo a que fiquemos com apenas 1 ml de amostra no tubo. É colocado uma gota sobre uma lâmina com uma lamela e é observado ao microscópio com uma ampliação de 40X.

3.2 Contagem minutada

A contagem minutada consiste na avaliação quantitativa de células epiteliais, leucócitos, eritrócitos e cilindros numa amostra de urina recolhida em intervalos de tempo variados, podendo ser específico de 1h, 2h, 3h, 12h, ou outro intervalo de tempo. Esta contagem é realizada em câmara de Neubauer.

Para a realização da amostra a analisar, segue-se o mesmo procedimento que é feito para a avaliação ao microscópio do sedimento urinário.

3.3 Determinações quantitativas

3.3.1 Proteínas totais

A urina é formada por ultrafiltração do plasma na rede capilar do glomérulo. As proteínas com peso molecular superior a 40.000 Da são retidas, ao contrário daquelas que possuem um tamanho inferior e passam facilmente na filtração glomerular. Assim, o doseamento de proteínas na urina é usado como diagnóstico da função renal, cardíaca e tiroideia [1].

3.3.2 Microalbumina

A albumina é uma proteína responsável pela manutenção da pressão osmótica do plasma, transporta e armazena diversas moléculas, como fármacos e compostos não polares, bem como funciona como fonte de aminoácidos.

Esta proteína é excretada pelo rim, sendo possível encontrar na urina pequenas quantidades em indivíduos saudáveis. No entanto, esta excreção aumenta em patologias glomerulares e tubulares [1].

A microalbumina é determinada em amostra de urina (primeira urina da manhã) ou urina de 24 horas. Esta última é calculada tendo em conta o volume de urina durante o período de 24 horas, sendo calculada segundo a fórmula:

$$\text{microalbumina} = \text{urina amostra} \times \text{volume (L)}$$

3.3.3 Creatinina

A creatinina sérica é um produto da degradação da creatina. A taxa de formação da creatinina é relativamente constante, onde cerca de 1% a 2% da creatina do organismo é convertida em creatinina. Em doente com patologias renais, este valor está consideravelmente elevado, em especial naqueles que possuem uma diminuição da capacidade de filtração [1].

A creatinina calculada por dia, numa urina de 24 horas, é calculada segundo a fórmula:

$$Creatinina\ (g/dia) = \frac{creatinina\ urina\ \left(\frac{mg}{dL}\right) \times volume\ 24h(dL)}{1000}$$

4. DETERMINAÇÕES EM FEZES

4.1 Pesquisa de sangue oculto

A pesquisa de sangue oculto nas fezes é usado para detecção de lesões a nível gastrointestinal que provocam hemorragias não visíveis a olho nu. As causas para as hemorragias detetadas nas fezes são diversas, como úlceras gástricas ou duodenais, gastrites e neoplasias do estômago ou intestino. Assim, o teste de sangue oculto é usado como teste de rastreio, tendo em conta que um resultado negativo não significa ausência de alguma patologia, bem como um exame positivo requer continuação da avaliação do indivíduo.

Método

Método qualitativo para detecção de hemoglobina humana em amostras fecais

Este método consiste numa interpretação visual no desenvolvimento das cores na tira. Os anticorpos anti-hemoglobina humana estão imobilizados na tira de teste, onde posteriormente a amostra reage com estes anticorpos. A mistura passa pela membrana através da ação capilar, onde caso seja um teste positivo aparecerá uma linha de teste na área de teste. Paralelamente a esta linha existe outra na área de controlo, funcionando como controlo procedimental.

Para a avaliação do teste de sangue oculto é recomendado recolher três amostras de fezes em dias diferentes. Um período de tempo maior aumenta a probabilidade de detecção de sangue oculto nas fezes, caso exista.

Para a realização deste teste não é necessário cuidados especiais na dieta [12].

Interferências

Existem inúmeras situações que podem provocar o sangramento detetado nas fezes sem ser necessariamente patológico, como alguns fármacos, por exemplo os anti-inflamatórios não esteroides, bem como todos os outros possíveis de afetar a mucosa gastrointestinal. Algumas situações fisiológicas também podem por em causa o resultado, o caso de menstruação ou hemorroidas [12].

5. DETERMINAÇÕES EM LÍQUIDO SEMINAL

5.1 Espermograma

A infertilidade, segundo a OMS, é “uma doença do sistema reprodutivo traduzida na incapacidade de obter uma gravidez após 12 meses ou mais de relações sexuais regulares e sem uso de contraceção”. Após este tempo é iniciado um estudo de avaliação de eventuais fatores envolvidos. As causas de infertilidade são múltiplas e podem, ou não, estar associadas a anomalias do sistema reprodutor masculino ou feminino. No entanto, ao estudo do homem está inerente a avaliação do espermograma. Esta é uma análise requerida pelos clínicos onde consiste numa avaliação direta e microscópica do esperma.

A análise do esperma consiste numa avaliação macroscópica e microscópica.

A avaliação macroscópica engloba:

- ✓ Volume
- ✓ pH
- ✓ Viscosidade
- ✓ Cor
- ✓ Aspeto
- ✓ Cheiro
- ✓ Liquefação
- ✓ Aglutinação

A avaliação microscópica engloba:

- ✓ Contagem de espermatozoides
- ✓ Morfologia:
 - normais
 - anomalias da cabeça
 - anomalias da peça e colo
 - anomalias da cauda
 - restos e restos citoplasmáticos
- ✓ Mobilidade:
 - progressiva rápida;
 - progressiva lento
 - in situ*
 - imóvel

Método

A realização da análise ao líquido seminal envolve, numa fase pré-analítica, várias condições para a sua colheita, como a abstinência sexual de 3 dias, mas não mais que 5, uma correta higienização dos genitais, não utilizar pomadas horas antes da colheita, bem como não perder nenhuma quantidade de líquido seminal, por mais ínfima que seja. A amostra, caso seja realizada no domicílio, é necessária ser entregue no laboratório num curto período de tempo (inferior a 30 minutos), assegurando as condições de temperatura necessárias, cerca de 37°C. Este fator possui elevada importância, uma vez que temperaturas inferiores podem causar a inviabilização dos espermatozoides. O utente é informado que qualquer incumprimento das instruções fornecidas poderá falsear os resultados, recomendado seguir as devidas instruções de colheita.

A análise do esperma consiste numa avaliação de diversos parâmetros, como o seu volume, pH, viscosidade, contagem de espermatozoides e de leucócitos, a sua cor, aspeto, cheiro, liquefação e aglutinação. O estudo do esperma engloba ainda um estudo quanto à morfologia e mobilidade dos espermatozoides.

A contagem dos espermatozoides é realizada em câmara de Neubauer, após uma prévia diluição. Relativamente à avaliação da sua mobilidade, é depositado numa lâmina um volume fixo de líquido seminal, cerca de 10 µl a 15 µl, coberto de seguida com uma lamela, de modo a contar e efetuar a referida classificação. Quanto à morfologia destes, é necessário efetuar uma coloração de Giemsa da amostra fresca.

O índice de vitalidade é realizado quando a percentagem de espermatozoides móveis é inferior a 40%. Este é quantificado pela visualização ao microscópio dos espermatozoides usando os corantes eosina e nigrosina. Esta mistura rosa penetra nos espermatozoides com membrana danificada, tornando-os inviáveis [13].

6. PROVAS BIOQUÍMICAS FUNCIONAIS

6.1 *Clearance* da creatinina

Para a avaliação da capacidade renal é utilizada a *clearance* da creatinina em urina de 24 horas. Este parâmetro é requisitado pelos clínicos quando pretendem determinar a capacidade de filtração dos rins.

Quando a filtração dos rins está deficiente, o valor de creatinina no sangue aumenta, sendo um indicativo de patologia renal. No entanto, o diagnóstico não deve ser apenas considerado com o valor sanguíneo da creatinina, mas também com base na sua *clearance*.

Para o cálculo é usado a seguinte expressão:

$$Clearance (mL/min) = \frac{creatinina \text{ na urina (mg/dL)} \times volume (dL)}{1000}$$

6.2 Índice de depuração da creatinina

O índice de depuração da creatinina permite comparar a concentração de creatinina no sangue com a concentração existente na urina. Este valor de *clearance* é calculado a partir do valor da creatinina no sangue, do seu valor na urina recolhida em 24 horas, bem como do volume urinário.

Para o cálculo é usado a seguinte expressão:

$$I_D(mL/min) = \frac{creatinina \text{ na urina (mg/dL)} \times volume (mL)}{1440 \times creatinina \text{ no soro (mg/dL)}}$$

6.3 Prova de tolerância à glicose

A prova de tolerância à glicose é realizada para o estudo dos glícidos. Esta é realizada para diagnóstico de *diabetes mellitus* e diabetes gestacional. A *diabetes mellitus* é classificada em dois tipos, o tipo 1 e o tipo 2, ambas com características próprias.

A *diabetes mellitus* tipo 1 é característica da idade juvenil, apresentando-se como uma patologia crónica e autoimune, uma vez que os indivíduos são insulino-dependentes, pois neste tipo de diabetes não ocorre formação de insulina por parte do pâncreas, sendo necessário a sua administração.

A *diabetes mellitus* tipo 2 é associada às pessoas não insulino-dependentes, atingindo uma grande percentagem da população. Nesta patologia, embora haja produção de insulina, os seus recetores não permitem a sua entrada nas células, elevando o valor da glicose no sangue. Assim, é por vezes necessário recorrer a tratamentos com antidiabéticos orais.

Atualmente, para além do diagnóstico da *diabetes mellitus*, existem dois estados intermédios da homeostasia da glicose, a anomalia de glicémia em jejum e a tolerância diminuída à glicose, determinada pela prova de tolerância com sobrecarga de 75g de glicose. A análise requer duas punções, uma em jejum e outra 2h após.

A diabetes gestacional é reconhecida pela primeira vez na gravidez, tendo um impacto significativo em vários aspetos da saúde materno-infantil e na saúde futura da mulher. A diabetes gestacional leva a um aumento da mortalidade e morbilidade perinatal, sendo mais perigosa quanto mais tarde for diagnosticada. A mulher grávida, uma vez tendo diabetes gestacional, apresenta uma maior probabilidade de desenvolver diabetes tipo 2 no futuro, bem como diabetes gestacional numa futura gravidez. Esta apresenta inúmeros fatores de risco que a predispõe ao desenvolvimento da diabetes gestacional, como idade superior a 35 anos, obesidade (IMC>30), história familiar de *diabetes mellitus*, antecedentes de diabetes gestacional, bem como o síndrome do ovário poliquístico. Quanto ao filho, a possibilidade de este ser prematuro e desenvolver icterícia, bem como desenvolver obesidade e diabetes tipo 2 em fases tardia da sua vida, tem-se mostrado em crianças com mães diabéticas durante a gestação.

Para um melhor diagnóstico da diabetes gestacional, a mulher realiza uma glicose plasmática em jejum na primeira consulta. Caso o seu valor seja superior a 92 mg/dL, a mulher grávida é direcionada para tratamento da diabetes gestacional ou diabetes prévia. Caso em jejum a glicémia seja inferior a 92 mg/dL, realiza a prova de tolerância à glicose com 75g às 24-28 semanas. O diagnóstico de diabetes gestacional faz-se quando um dos seus valores é igual ou superior aos valores de referência [15].

Para a realização desta prova é necessário efetuar três colheitas de sangue. A primeira colheita é realizada em jejum, onde posteriormente é administrado uma dose oral de glucose a 75g. Após o período de 60 minutos é feita uma nova colheita e ao fim de 120 minutos é realizada a terceira e última colheita de sangue.

II – HEMATOLOGIA

A Hematologia estuda todos os elementos figurados do sangue, como leucócitos, eritrócitos e plaquetas. Associado a esta ciência está também a avaliação das funções de determinados órgãos com funções importantes para a vida do Homem, bem como determinadas patologias associadas.

Nesta área, os exames mais solicitados durante o meu período de estágio foram o hemograma e a velocidade de sedimentação.

Associadas às análises hematológicas estão diferentes tubos de colheita de sangue, como o tubo de hemograma (cor roxa, possuidor do anticoagulante EDTA), tubo de coagulação (cor azul claro, possuidores do anticoagulante citrato de sódio 1:9) e tubo de VS (cor preta, contendo anticoagulante citrato de sódio 1:4).

1. Equipamentos e Metodologias em Hematologia

1.1 Equipamento ADVIA 120

O ADVIA 120 consiste num citómetro de fluxo, sendo possível a análise do hemograma por três métodos de aspiração, o *Autosampler* tubo fechado, manual com tubo fechado e manual com tubo aberto. O equipamento possui 5 câmaras de reação (canais) distintas:

- ✓ Hemoglobina (Hb);
- ✓ GV/Plaquetas;
- ✓ Reticulócitos;
- ✓ Perox
- ✓ Baso.

Todas elas possuem reações e métodos diferentes, possibilitando a contagem e identificação dos diferentes constituintes celulares.

O canal da Hb consiste na lise do GV, permitindo a saída da hemoglobina do seu interior. Posteriormente, o ferro do grupo heme da hemoglobina é oxidado, passando do estado ferroso a férrico, onde juntamente com um reagente forma um produto que irá ser lido no equipamento. O canal dos GV consiste na fixação destes e das plaquetas, onde os seus reagentes permitem uma esferificação isovolumétrica do eritrócito, onde o fator de variação de interpretação é eliminado. Neste canal, as plaquetas e os GV são fixados.

Este canal permite, para além dos parâmetros que lhe são associados, a identificação de alguns alarmes morfológicos dos GV, como os fragmentos de GV e suspeita de fantasmas de GV.

O canal Reticulócitos não está disponível no Laboratório. A contagem destes é efetuada manualmente.

O canal Perox baseia-se na determinação dos leucócitos, onde estes são fixados e os GV são lisados. O peróxido de hidrogénio permite a formação de um precipitado negro no interior dos grânulos dos leucócitos com atividade peroxidásica.

O canal Baso possui um reagente capaz de lisar os GV, plaquetas e citoplasma de todos os leucócitos, exceto os basófilos [16].

1.2 Equipamento VES-MATIC 20/20 Plus New

O VES-MATIC é um analisador de bancada concebido para a determinação da velocidade de sedimentação globular de 20 amostras, realizada em tubos concebidos para esse fim.

O sangue é cuidadosamente homogeneizado pelo equipamento, deixando-o sedimentar por um determinado tempo. Posteriormente, os sensores óticos eletrónicos realizam a leitura automática do nível de sedimentação, onde os seus resultados são possíveis de ser visualizados no ecrã, bem como impressos automaticamente [17].

Metodologia

O VES-MATIC produz resultados comparáveis ao método de Westergren [17].

Parâmetros Analisados

- ✓ Velocidade de Sedimentação

1.3 Equipamento START MAX

O STart Max é um coagulómetro de quatro canais que se destina a ser utilizado para efetuar testes *in vitro* para diagnóstico e controlo de patologias ligadas à homeostasia. Este permite a realização de testes de cronometria (medição de tempo de coagulação) em amostras de plasma. Este equipamento permite a visualização dos resultados no ecrã e a sua impressão é gerada automaticamente [18].

Metodologia

O SStart Max consiste num sistema de detecção único baseado em sensores eletromagnéticos, permitindo a detecção de coágulos, mesmo os mais ligeiros. Cada análise corresponde a uma cuvete, sendo esta munida por uma esfera administrada pelo operador. O princípio deste teste consiste na medição das variações de amplitude de oscilações pela esfera na cuvete. O movimento pendular realizado pela mesma esfera é obtido devido às calhas curvas da cuvete, bem como pelo campo eletromagnético alternativo criado pelas duas bobinas. Este campo magnético varia consoante o tipo de análise (PT, APTT, etc.).

A amplitude da esfera apresenta uma oscilação constante quando o meio possui uma viscosidade constante. Caso a viscosidade do meio aumente, a amplitude da esfera vai diminuir [18].

Parâmetros Analisados

- ✓ Tempo de Protrombina
- ✓ Tempo de Tromboplastina parcial Ativada
- ✓ INR

2. Hemograma

A colheita de sangue venoso para a realização do hemograma é realizada com anticoagulante EDTA, uma vez que este anticoagulante permite a contagem das células sanguíneas, preservando a morfologia dos GV e dos leucócitos.

O hemograma reúne o estudo quantitativo e qualitativo das células sanguíneas, permitindo compreender alterações morfológicas ou alterações na concentração das suas células, os leucócitos, eritrócitos e plaquetas. Assim, esta análise clínica hematológica compreende o leucograma, eritograma e plaquetas.

Os parâmetros referentes às três linhas celulares avaliados no hemograma apresentam variações conforme a idade do Homem, bem como em determinados estados de saúde, como a gravidez ou outras patologias.

2.1 Eritograma

O eritograma inclui uma análise quantitativa representada pela contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht) e índices hematimétricos. Estes últimos são essenciais na classificação de anemias, caso seja necessário.

A análise qualitativa corresponde à morfologia eritrocitária, analisando a respetiva forma, tamanho e cor.

Tabela 4 - Eritograma

Eritrócitos ($10^{12}/L$)	
Hb (g/dL)	
Ht (%)	O Ht corresponde ao volume de sangue ocupado pelos eritrócitos.
RDW (%)	O RDW avalia a diferença de tamanho dos eritrócitos. Quando este índice se encontra elevado resulta de um número de eritrócitos circulantes com diferentes tamanhos.
HDW (g/dL)	O HDW avalia a variação da distribuição da hemoglobina no eritrócito. Este parâmetro avalia a concentração de hemoglobina e correspondente cor.

Tabela 5 - Índices Hematimétricos

VCM (VGM) (fL)	O VCM fornece o volume médio dos GV, indicativo do tamanho do eritrócito. Este é calculado como: $VCM = \frac{Ht}{n^{\circ}GV}$ VGM diminuído: microcitose VGM aumentado: macrocitose
HCM (HGM) (pg)	O HCM corresponde ao peso da hemoglobina do eritrócito. Este é calculado como: $HCM = \frac{Hb}{n^{\circ}GV}$
CHCM (CHGM) (g/dL)	O CHCM corresponde à concentração da hemoglobina no eritrócito, indicativo do seu estado de hemoglobinizacão. Este é calculado como: $CHCM = \frac{Hb}{Ht}$ CHCM diminuído: hipocromia CHCM aumentado: hipercromia

Os índices hematimétricos não são determinados automaticamente pelo equipamento, são calculados por ele tendo em conta os parâmetros determinados automaticamente.

2.2 Leucograma

Tabela 6 - Leucograma

Leucócitos ($10^9/L$)	
Fórmula Leucocitária (%) ($10^9/L$)	É diferenciado o tipo de leucócitos: -neutrófilos; -monócitos; -eosinófilos; -linfócitos; -basófilos.

2.3 Linhagem Plaquetária

Tabela 7 – Linhagem Plaquetária

Plaquetas ($10^9/L$)	
MPV (fL)	O MPV reflete o volume plaquetar médio, apresentando um índice elevado caso existam plaquetas macrocíticas.

2.4 Alarmes no Hemograma

O hemograma pode apresentar sinalização de alguns alarmes, “*Morphology Flags*”, onde, de acordo com determinados alarmes, é realizado um esfregaço sanguíneo para confirmação. Estes podem pertencer à linhagem eritroide, leucocitária ou plaquetária, sendo representados por uma sinalética de cruzes, conforme o grau de severidade.

Estes alarmes são:

- ✓ Micro
- ✓ Macro
- ✓ Hipo
- ✓ Hiper
- ✓ Anisocitose
- ✓ Anisocromia

- ✓ Desvio à esquerda
- ✓ Blastos
- ✓ Atípicos
- ✓ Células vermelhas nucleadas (NRBC)
- ✓ Granulócitos Imaturos

- ✓ Plaquetas Grandes
- ✓ Aglomerados de Plaquetas

- ✓ Deficiência MPL
- ✓ Fragmentos GV
- ✓ Fantasmas de GV

2.4.1 Casos decorridos no Estágio

Caso 1

Utente com realização de um hemograma na requisição de análises (Figura 1).

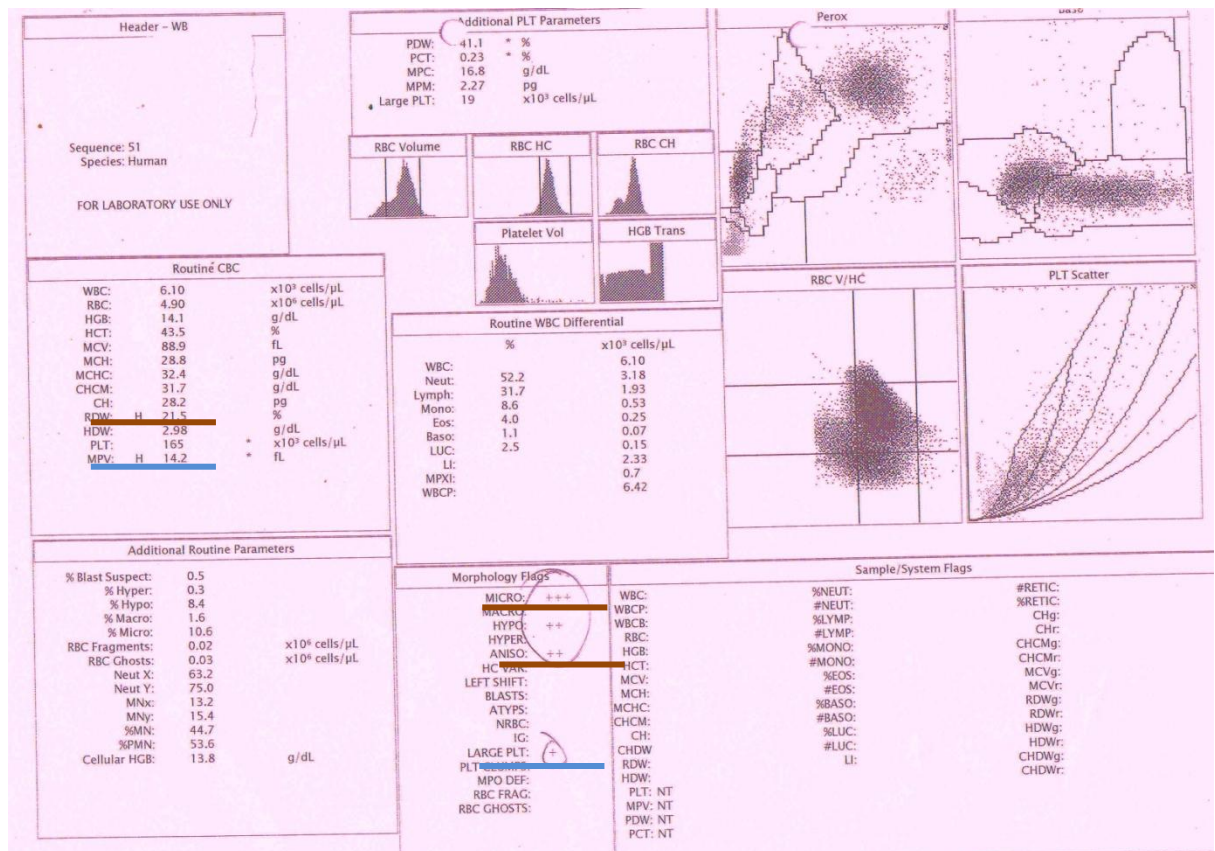


Figura 1 – Hemograma 1

Comentário: A linha plaquetária (representada em azul) apresenta um MPV superior a 14 fL, indicando um volume plaquetar médio elevado, bem como uma cruz em "Morphology Flags" referente a "Large PLT". Estas condições são indicativas de plaquetas macrocíticas.

A linha eritroide (representada em castanho) apresenta uma anisocitose, microcitose e hipocromia. O RDW de 21.5% indica-nos que estamos perante uma população eritrocitária com diferentes tamanhos, uma vez que são encontrados eritrócitos microcíticos.

Caso 2

Utente com realização de um hemograma na requisição de análises (Figura 2).

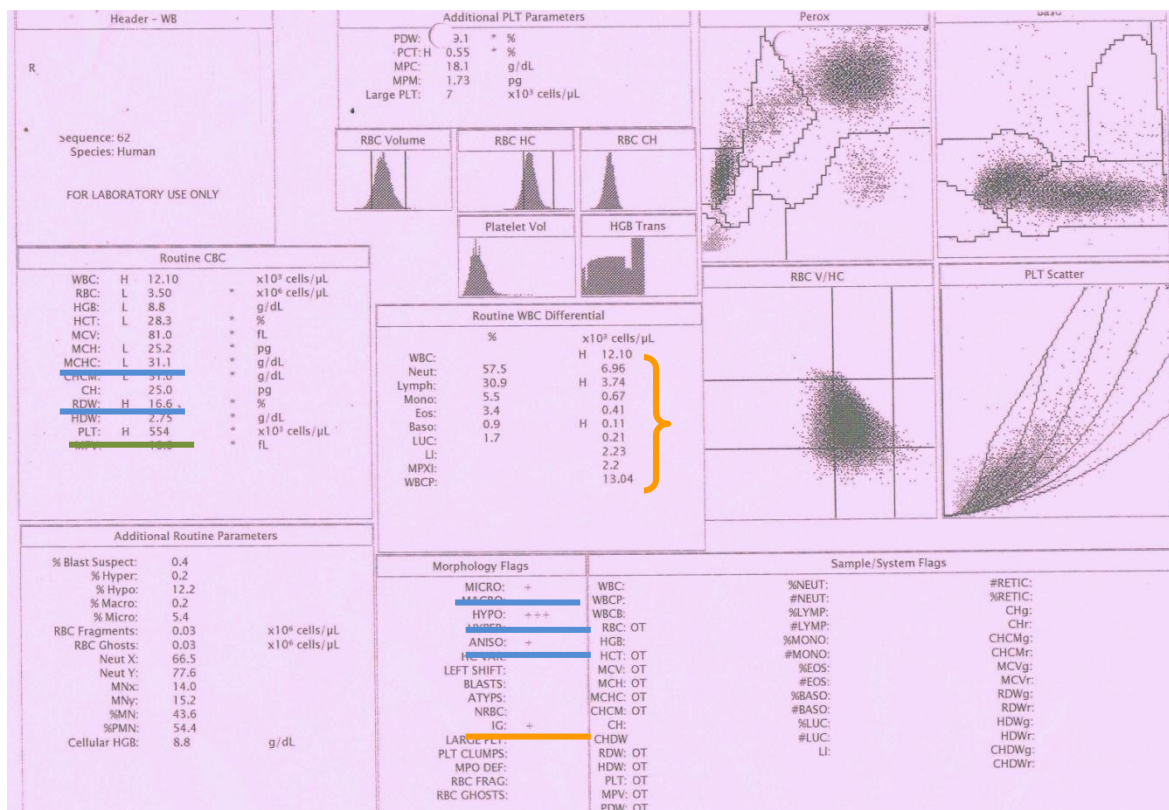


Figura 2 – Hemograma 2

Comentário: Na linha eritroide (representada em azul), verificamos que possui um RDW superior a 16%, corroborando com a sinalética de cruzeiros em anisocitose e microcitose. O MCHC de 31.1 g/dL indica-nos uma hipocromia marcada, estando perante 3 cruzeiros em “Morphology Flags”.

A linha plaquetária (representada em verde) evidencia um quadro de trombocitose.

Referente à linha leucocitária (representada em laranja), existe um alerta de granulócitos imaturos. Com este aviso é necessário recorrer à realização do esfregaço sanguíneo, onde se realiza uma nova contagem e identificação dos mesmos (Tabela 8).

Tabela 8 – Contagem leucocitária relativa ao Caso 2

Neutrófilos – 56%
Linfócitos – 30%
Eosinófilos – 7%
Basófilos – 1%
Monócitos – 3%
Mielócitos – 2%
Metamielócitos – 1%

Caso 3

Utente com realização de um hemograma na requisição de análises (Figura 3).

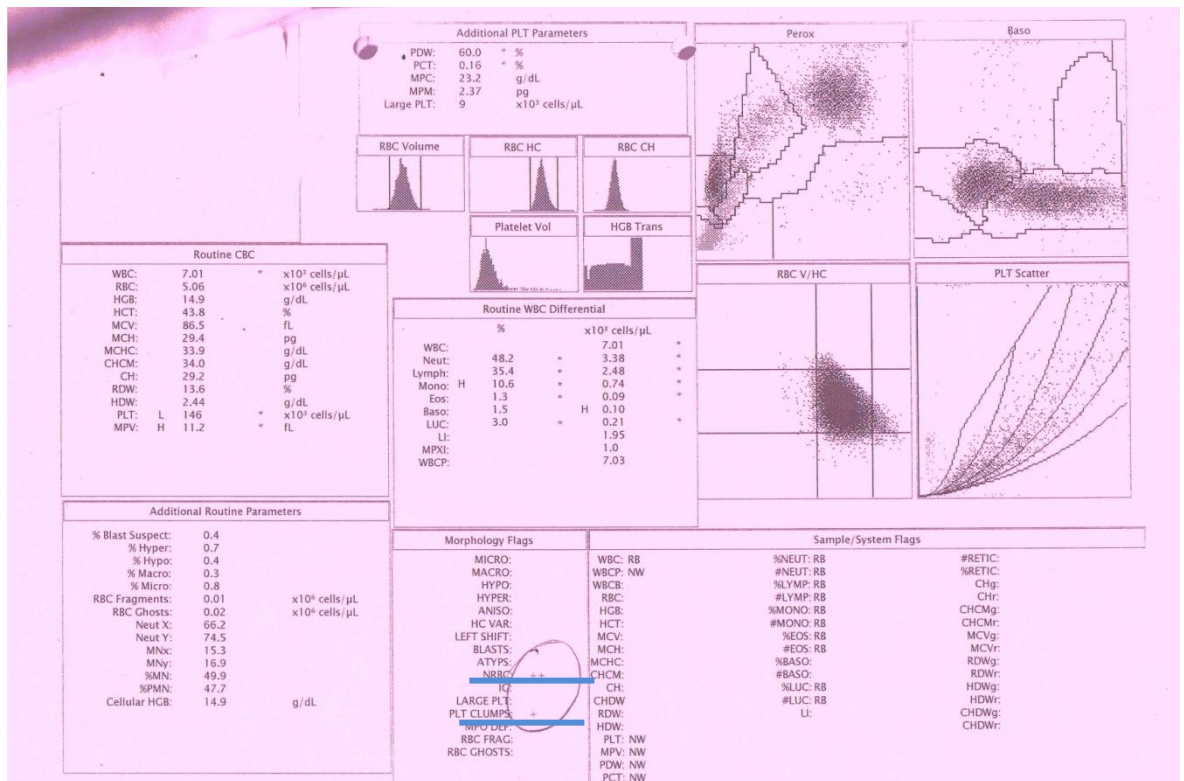


Figura 3 – Hemograma 3

Comentário: Pela análise do hemograma verificamos que existe um “Morphology Flags” nos NRBC (Nucleated Red Blood Cells) e em “PLT Clumps”. Deste modo, é necessário a realização de um esfregaço sanguíneo (Figura 4) para identificação dos referidos eritoblastos, bem como visualização de agregados plaquetários.



Figura 4 – Esfregaço Sanguíneo
Legenda: 1- Agregado plaquetário

Com a análise do esfregaço sanguíneo é possível analisar que não existem eritoblastos (NRBC), mas sim alguns agregados plaquetários. Este exemplo demonstra que, por vezes, os alarmes detetados pelo equipamento não correspondem à realidade da amostra sanguínea, sendo sempre necessário confirmar pela observação do esfregaço sanguíneo.

Caso 4

Na realização de um esfregaço de sangue canino para contagem leucocitária, observou-se a presença de um hemoparasita, a microfilária (Figura 5).

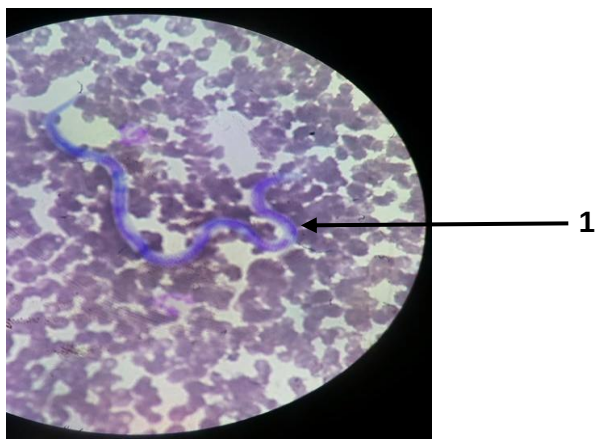


Figura 5 – Esfregaço sanguíneo canino

Legenda: 1- microfilária

3. Velocidade de Sedimentação

A velocidade de Sedimentação (VS) consiste na medição da velocidade dos glóbulos vermelhos num determinado tempo. Este parâmetro hematológico consiste numa medição não específica do estado da inflamação, sendo um dos primeiros fatores primordiais a acontecer, muito antes de outros sinais e sintomas. A VS é influenciada pela concentração de algumas proteínas, cuja concentração plasmática varia na presença de processos inflamatórios ou determinados estados patológicos [17].

4. Estudo da Coagulação

A coagulação sanguínea reúne uma série de reações químicas determinantes para a reparação da parede de um vaso sanguíneo danificado. A homeostasia sanguínea tem como objetivo deter a hemorragia e confinar a resposta hemostática ao local de lesão, envolvendo a parede vascular, as plaquetas circulantes, os fatores de coagulação e a fibrinólise.

Desordens na coagulação sanguínea trazem consigo diversos problemas associados, potenciando o risco de hemorragia, trombose e embolismo [19].

A coagulação é um processo complexo, surgindo a hipótese da cascata de coagulação, onde possui uma via intrínseca, uma via extrínseca e uma via comum (Figura 6) [19].

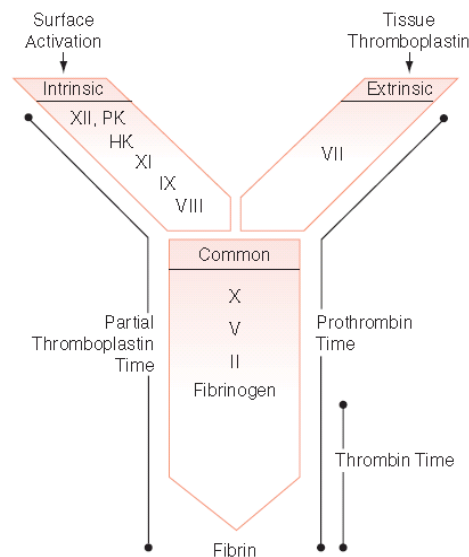


Figura 6 - Sistema de Coagulação

Adaptado de Richard A. McPherson e Matthew R. Pincus. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 2011 [19].

4.1 Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado

O tempo de tromboplastina parcial ativado (APTT) avalia as proteínas do sistema intrínseco e via comum.

A APTT é requerida, normalmente, em simultâneo com a PT, com o objetivo de realizar um estudo pré-cirúrgico ou pré-exame médico, de modo a prevenir fenómenos hemorrágicos [19].

4.2 Tempo de Protrombina

O tempo de protrombina (PT) avalia as proteínas de coagulação do sistema extrínseco e também da via comum.

A PT é realizada fundamentalmente em utentes com propensão a estados trombóticos, estando a realizar terapêutica anticoagulante. Estes fármacos anticoagulantes orais, antagonistas da Vitamina K, dispõem o doente a um aumento do PT e consequente aumento do tempo de formação do coágulo [19].

4.3 INR

O INR, Razão Internacional Normalizada, surgiu de forma a reduzir as variáveis inerentes à determinação do PT, como os diferentes equipamentos, reagentes, e protocolos. Assim, o INR veio uniformizar o resultado e permitir uma zona terapêutica comum utilizável em todo o mundo.

O INR tem como base o PT, consistindo no quociente entre o PT do utente e o PT controlo, elevado ao Índice de Sensibilidade Internacional (ISI).

O ISI é determinado por todos os fabricantes de tromboplastina (reagente), procedendo à comparação da sua tromboplastina com uma tromboplastina de referência internacional. Definindo a sensibilidade do reagente é possível determinar o respetivo INR, segundo a seguinte fórmula [19]:

$$INR = \left(\frac{PT_{utente}}{PT_{controlo}} \right)^{ISI}$$

5. Técnicas Manuais

5.1 Esfregaço Sanguíneo

O esfregaço sanguíneo é uma análise realizada mediante requisição do médico ou como técnica confirmatória de resultados obtidos de forma automática.

O esfregaço sanguíneo consiste na preparação de células sanguíneas sobre uma lâmina, onde posteriormente a lâmina é corada e analisada ao microscópio. O objetivo desta preparação assenta na identificação morfológica das células, bem como numa contagem da forma leucocitária. Perante esta análise é tido em conta as três diferentes linhas, a eritrocitária, onde é necessário referir alterações dos eritrócitos relativamente à forma, ao tamanho e à cor; a linha leucocitária, nomeadamente no grau de maturação ou alterações morfológicas que se desviam da normalidade, e a linha plaquetária, onde é de referir alterações numéricas, bem como estados de agregação, caso existam.

Metodologia

O esfregaço sanguíneo deve ser realizado após a colheita, utilizando sangue total. Este deve-se apresentar na lâmina como sendo homogéneo, fino, regular e com as três características que o definem especificamente, como a cabeça, corpo e cauda. O esfregaço deve diminuir a sua espessura à medida que nos aproximamos da cauda. Após deixar secar o esfregaço e identifica-lo com lápis sobre o sangue seco na zona da cabeça, uma vez que esta zona não é necessária para a visualização ao microscópio, procedemos à coloração, pelo corante de Giemsa.

A coloração de Giemsa consiste na deposição na lâmina de 20 gotas deste corante, aguardando cerca de 1 minuto. Posteriormente colocámos 20 gotas de água e deixamos atuar 4 minutos, agitando levemente a lâmina de modo a homogeneizar o corante e a água. Posto isto, retiramos o conteúdo líquido da lâmina e lavamos com água corrente. Por fim, deixamo-la secar para que seja possível visualizar ao microscópio [21].

5.2 Reticulócitos

Os reticulócitos ou eritrócitos imaturos são precursores dos eritrócitos, encontrando-se no sangue periférico. Estes não apresentam núcleo e contêm granulações de RNA. Os reticulócitos são indicativos do grau de maturação da medula óssea, onde, caso estes existam em grande número, podemos dizer que se trata de uma

hiperregeneração. Caso sejam em quantidades pequenas, estamos perante um quadro hiporegenerativo.

A análise de reticulócitos é normalmente pedida perante algumas situações diversas, como quadros de quimioterapias, transplantes de medula ou situações de anemias, onde é possível avaliar a capacidade de resposta medular.

Metodologia

A preparação dos reticulócitos não exige uma prévia fixação. Para tal é necessário colocar 3 gotas de sangue total num *ependorf* portador do corante Azul de Metileno Novo, já fornecido pelas casas comerciais. É necessário esperar cerca de 20 minutos de modo a que os eritrócitos tenham um máximo contacto com o corante, levando à precipitação do RNA. Após uma breve agitação do *ependorf* e realização do esfregaço, a lâmina pode ser vista ao microscópio. Os grânulos ou filamentos mais escuros depositados no eritrócito é o RNA precipitado, sendo assim identificados os reticulócitos. A contagem ao microscópio dos reticulócitos juntamente com os eritrócitos tem de atingir 1000 células. Posteriormente o seu resultado é apresentado em percentagem.

Durante o meu período de estágio realizei diversas contagens de reticulócitos, uma vez que recebemos amostras de doentes em hemodiálise, cujo protocolo clínico possui este parâmetro hematológico.

III – IMUNOLOGIA

A imunologia é a área das análises clínicas que estuda o sistema imunitário e as diferentes patologias associadas. Inerente a esta valência está a endocrinologia, avaliação dos marcadores tumorais, serologia infecciosa e alergologia.

Durante o meu período de estágio foi recorrente o pedido de análises referente ao estudo das infeções víricas (hepatite B, hepatite C e HIV), bem como o estudo da função tiroideia.

Associadas às análises imunológicas estão os tubos em gel (tubos de bioquímica), previamente centrifugados durante 10 minutos a 3500 rpm.

O controlo de qualidade interno realizado no Laboratório é efetuado todos os dias de manhã antes da análise das amostras do dia. Estes controlos possuem três níveis (Nível 1, 2 e 3), ambos passados no equipamento CENTAUR CP e no IMMULITE 2000. Após os resultados, estes são colocados na mesma plataforma *online* onde são colocados os resultados do sector da bioquímica, de modo a confirmar se os testes se encontram dentro dos intervalos estabelecidos.

1. Equipamentos e Metodologias em Imunologia

1.1 Equipamento CENTAUR CP

O CENTAUR CP é um equipamento de bancada destinada ao processamento de análises imunológicas. Este equipamento possui uma unidade de trabalho, onde são colocados os reagentes primários, os reagentes auxiliares e as amostras para análise; e por uma unidade controlo, um ecrã onde é possível programar e visualizar os testes em curso [22].

Parâmetros Analisados

- ✓ Vitamina B12
- ✓ Ácido Fólico
- ✓ Rubéola IgM e IgG
- ✓ HIV
- ✓ Ac. HCV
- ✓ PTH
- ✓ Beta-HCG

- ✓ Testosterona
- ✓ Progesterona
- ✓ DHEA-S
- ✓ Cortisol
- ✓ Alfa-fetoproteína

- ✓ Digoxina
- ✓ Ácido Valpróico

1.2 Equipamento IMMULITE 2000

O sistema de imunoensaio IMMULITE 2000 é um equipamento de grande volume destinado a se encontrar no chão, devido às suas dimensões e ao seu peso. Este possui duas unidades de controlo, uma destinada às amostras e aos reagentes, e outra destinada ao operador, onde através de um ecrã é possível programar e visualizar os testes [23].

Parâmetros Analisados

- ✓ Toxoplasmose IgM e IgG
- ✓ Ac. Hbs
- ✓ Ag. Hbs
- ✓ IgE Total (e específicas)
- ✓ Ferritina
- ✓ Estradiol
- ✓ Prolactina
- ✓ LH
- ✓ FSH
- ✓ TSH
- ✓ T3 total
- ✓ T4 livre
- ✓ T4 total
- ✓ PSA
- ✓ CEA
- ✓ Ca 19.9
- ✓ Ca 125

2. Doenças Infecciosas

2.1 Doenças Víricas

2.1.1 Rubéola

O vírus da rubéola, pertencente à família dos *Togaviridae*, é um vírus com genoma RNA. As infeções causadas por este vírus apresentam sintomas semelhantes com outras infeções, como um exantema ligeiro, febre baixa e linfadenopatia. No entanto, na mulher grávida, as infeções causadas durante esse período transportam riscos acrescidos, uma vez que este vírus atravessa a placenta e atingem o feto durante a gestação. Consecutivamente poderá ocorrer morte fetal ou desenvolver o Síndrome da Rubéola Congénita (CRS), sendo maior o risco durante o primeiro trimestre. O facto de encontrarmos apenas um serotipo deste vírus permite que a vacinação, já introduzida na década de 1960, tenha levado a um decréscimo drástico de CRS. Esta avaliação é analisada tendo em conta os títulos de IgM e IgG, sendo preferível que os títulos de IgG sejam elevados, indicando níveis de imunidade. No entanto, ao longo dos anos, estes títulos vão descendo, embora seja conferida imunidade para toda a vida [22][23].

2.1.2 Hepatite C

O vírus da hepatite C é transmitido, principalmente, de forma parental, como transfusões sanguíneas, seringas infetadas e pela passagem da mãe para o filho, apenas no momento do nascimento. Outros meios de transmissão possíveis, embora menos eficientes de propagar o vírus, são através de relações sexuais, troca de produtos de higiene contaminados com sangue infetado, bem como por procedimentos cirúrgicos invasivos. O perfil serológico de uma infeção aguda por HCV está representado na seguinte figura [22].

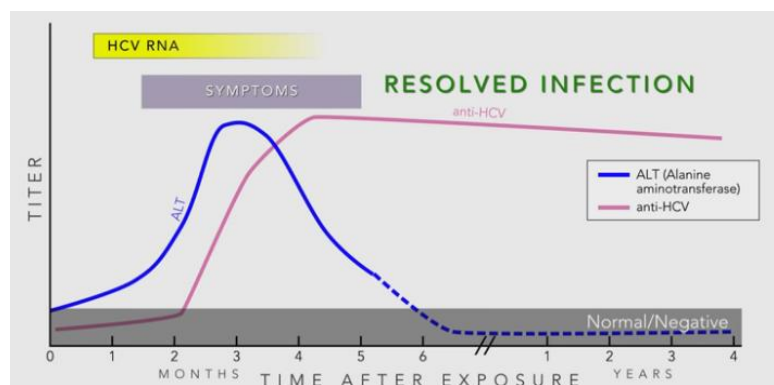


Figura 7 – Perfil Serológico de infeção aguda por HCV

Adaptado de www.cdc.gov/hepatitis/resources/professionals/training/serology/training.htm[25].

Em indivíduos crónicos, o HCV RNA permanece constante ao longo da sua vida, bem como a ALT se encontra com uma variação de nível (Figura 8).

Em ambos os casos, o contacto com o vírus faz com que a presença de anticorpos- anti HCV seja positiva.



Figura 8 – Perfil Serológico de infecção crónica por HCV

Adaptado de www.cdc.gov/hepatitis/resources/professionals/training/serology/training.htm[25].

2.1.3 Hepatite B

O Vírus da hepatite B é transmitido de forma sexual, perinatal e parenteral. Este vírus, quando evolui para uma infecção crónica, é um dos principais causadores de carcinoma hepatocelular.

No Laboratório, os marcadores serológicos realizados são (Tabela 9) [22]:

Tabela 9 – Marcadores serológicos do vírus da Hepatite B

Ag.HBs	-Antígeno de superfície; -Surge primeiro, antes dos sintomas; -Indica estado de infeção (por mais de 6 meses é sinónimo de portador crónico).
Ag.HBe	-Antígeno produzido durante a fase de replicação; -Indica estado de contágio (quando permanece após sintomas é sinónimo de portador crónico).
Ac. anti HBs	-Marcador de cura e imunidade; -Quando está presente sem ser vacinado, indica estado prévio em contacto com o vírus.

Ac. anti HBe	-Marcador indicativo de finalização da replicação do vírus.
---------------------	---

Adaptado de Siemens.2000 [23].

O perfil serológico de um individuo com infeção aguda por HBV é:

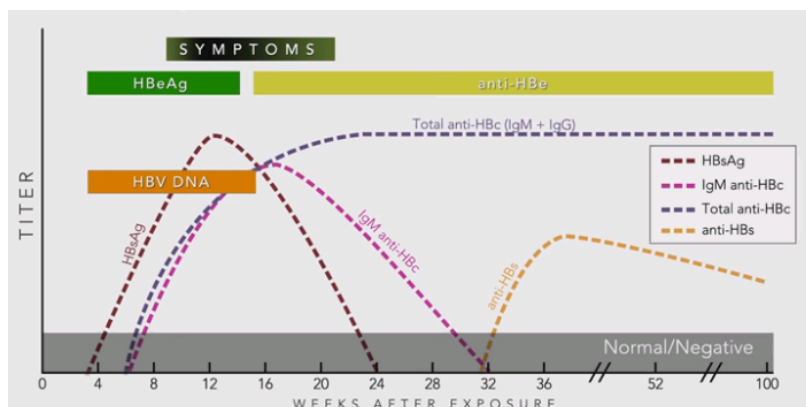


Figura 9 – Perfil Serológico de infeção aguda por HBV

Adaptado de www.cdc.gov/hepatitis/resources/professionals/training/serology/training.htm[25]

O perfil serológico de um individuo com infeção crónica por HBV é:

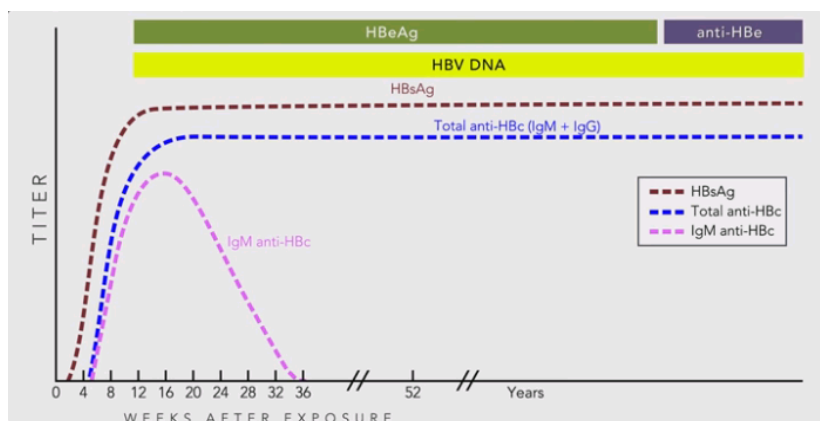


Figura 10 – Perfil Serológico de infeção crónica por HBV

Adaptado de www.cdc.gov/hepatitis/resources/professionals/training/serology/training.htm [25]

2.1.4 HIV

O vírus da imunodeficiência humana é o agente causador da SIDA. Este retrovírus é disseminado de diversas formas, entre as quais o contacto sexual, exposição a sangue ou produtos sanguíneos infetados e transmissão perinatal.

O vírus apresenta-se classificado em dois tipos, o HIV-1 e HIV-2. A comparação dos ácidos nucleicos entre os dois tipos de HIV mostram cerca de 60% de homologia nos genes conservados. No entanto, o HIV-2 mostrou taxas de transmissão e de replicação mais baixas que no HIV-1, evidenciando uma progressão mais lenta da doença, declínio das células T CD4 e uma virémia mais reduzida [22].

2.2 Doenças Não Víricas

2.2.1 Toxoplasmose

O *Toxoplasma gondii* é um parasita intracelular que afeta aves e diversos mamíferos, sendo o gato o seu hospedeiro principal. A infeção é disseminada, principalmente, pela ingestão de carne crua ou mal cozinhada que contenha cistos, bem como pelo contacto com fezes de gato infetadas com oocistos.

Em indivíduos saudáveis, a infeção é geralmente assintomática. No entanto, nas mulheres grávidas, a infeção por *T. gondii* é uma ameaça para o feto, uma vez que este poderá vir a desenvolver diversos sintomas desencadeados pela toxoplasmose congénita, como linfadenopatias, coriorretinite, microcefalia e calcificações cerebrais.

Em populações imunossuprimidas, como doentes submetidos a quimioterapias e doentes com SIDA, o *T. gondii* surge como um patógeno oportunista, podendo ser fatal para os indivíduos.

A avaliação de IgM e IgG é requerida para monitorização da grávida. A presença de IgG mostra-se importante para avaliar a imunidade, mostrando, nestes casos, que o indivíduo esteve em contacto com o parasita [22].

3. Função Tiroideia e Paratiroideia

A glândula tiroideia é regulada pelo hipotálamo, sendo este produtor de TRH, e pela hipófise, sendo esta produtora de TSH. O TRH estimula a libertação da TSH pela hipófise, onde esta glândula origina posteriormente as hormonas tri-iodotironina (T3) e tiroxina (T4). A T3 e T4 são libertadas na corrente sanguínea, circulando ligadas a uma hormona de transporte, a globulina de ligação à tiroxina (TBG).

A circulação de níveis reduzidos de T3 e T4 desencadeiam a libertação de TRH pelo hipotálamo e consequente libertação de TSH pela hipófise, fazendo com que os níveis destas hormonas se elevem na corrente sanguínea. No entanto, caso estas se encontrem em níveis demasiadamente elevados, ocorre um suprimento de TRH e TSH. Esta relação entre a glândula tiroideia, o hipotálamo e a hipófise segue um mecanismo de *feedback negativo* [22][24].

3.1 TSH

A TSH é uma glicoproteína com duas subunidades, a subunidade alfa, semelhante a outras hormonas, como a FSH, beta HCG e LH, e a subunidade beta, sendo específica da hormona e possuidora de propriedades bioquímicas e imunológicas específicas.

Esta hormona é segregada pela hipófise, interagindo com recetores da tiróide, estimulando a produção de T3 e T4 pela glândula da tiróide.

Esta hormona é especialmente utilizada para o diagnóstico dos diferentes estados de hipotiroidismo, onde:

- Hipotiroidismo primário (tiróide): TSH elevado
- Hipotiroidismo secundário (hipófise): TSH baixo
- Hipotiroidismo terciário (hipotálamo): TSH baixo

E hipertiroidismo, onde:

- Hipertiroidismo primário (tiróide): TSH baixo
- Hipertiroidismo secundário (hipófise): TSH elevado
- Hipertiroidismo terciário (hipotálamo): TSH elevado

Mediante a estimulação de TRH e avaliação dos níveis de TSH, é possível diferenciar entre os estados secundário e terciário [22].

3.2 T3 e T4 Total e Livre

A T3 e T4 são hormonas segregadas para a circulação, participando na regulação do metabolismo. A T3, para além de se formar na tiróide, é pela conversão periférica da T4 em T3 que representa a sua maior origem. Ambas as hormonas tiroideias apresentam uma fração não ligada, sendo metabolicamente inativas e agindo como reserva.

A T3 e a T4 encontram-se maioritariamente ligadas a proteínas de transporte, sobretudo à globulina de ligação à tiroxina (TBG). Nos indivíduos saudáveis, as concentrações de TBG mantêm-se constantes. No entanto, em determinadas condições, como a gravidez, terapia com esteroides e glucocorticoides, os níveis de TBG são alterados, podendo resultar em valores falseados de hormonas. Assim, os níveis de T3 livre e T4 livre são aconselhados para estas ocasiões, refletindo um melhor resultado [22].

3.3 Hormona Paratiróide

A hormona paratiroide (PTH) é produzida pela glândula da paratiroide, sendo o principal fator em circulação responsável pela regulação da concentração de cálcio extracelular. Em concentrações demasiadamente baixas de cálcio, é desencadeada a secreção de PTH, iniciando uma sequenciação de reações que finalizam com o aumento das concentrações extracelulares de cálcio.

Esta hormona aumenta a taxa de metabolismo ósseo, estimulando a ressorção óssea osteoclástica, a ressorção de cálcio dos tubos renais, bem como estimula o rim a produzir Vitamina D, que por sua vez esta vitamina atua sobre os intestinos para aumentar a ressorção de cálcio. Uma vez restabelecidos os níveis de cálcio na corrente sanguínea, ocorre o suprimento da PTH, mecanismo regulado por um *feedback negativo*.

Os níveis da PTH contribuem para o diagnóstico diferencial de hipercalcemia e hipocalcemia [22].

4. Função Prostática

A próstata é uma glândula exócrina, fazendo parte do sistema reprodutor masculino.

O PSA é uma protease responsável pela lise dos coágulos seminais. Esta glicoproteína, uma vez sendo exclusiva do tecido prostático, torna-a um marcador amplamente reconhecido pelos clínicos para a avaliação do estado de saúde prostático. No entanto, níveis de PSA são detetados no cancro da próstata, Hiperplasia Benigna da Próstata (HBP) e tecido normal. Assim, a avaliação do toque rectal continua a ser um enorme auxílio de diagnóstico de cancro prostático.

Os níveis de PSA são usados para o diagnóstico de cancro da próstata, monitorização da terapêutica, avaliação da eficácia cirúrgica e possível aparecimento de metástases, bem como eventuais recaídas. Estes valores apresentam-se elevados em homens com cancro da próstata e possuem níveis inferiores após prostatectomia [22][24].

5. Hormonas

5.1 Hormonas Sexuais

5.1.1 Testosterona

A testosterona (Tabela 10) é uma hormona esteroide e é o androgénio principal nos homens, sendo controlada pela hormona luteinizante (LH) e produzida nos testículos. A testosterona estimula a maturação dos órgãos sexuais primários (órgãos sexuais externos) e os órgãos sexuais secundários (como o crescimento de pêlos púbicos, pêlos nas axilas e barba). Esta hormona tem um efeito anabolizante, provocando um desenvolvimento muscular acrescido e uma maior retenção de azoto.

Na mulher, os níveis de testosterona são muito inferiores, em comparação com os homens. A sua principal fonte de testosterona são os ovários, as glândulas supra-renais e a conversão periférica de precursores em testosterona. Níveis normais de androgénios podem proporcionar substrato para a produção de estrogénios.

A testosterona possui uma elevada capacidade de ligação a proteínas do plasma, ligando-se principalmente à globulina de ligação às hormonas sexuais (SHBG) [22].

Tabela 10 – Testosterona

Homens	Mulheres
- A redução de testosterona inclui hipogonadismo hipogonadotrófico, insuficiência testicular, hiperprolactinemia e hipopituitarismo.	- O aumento de testosterona pode ser indicativo de síndrome ovárico policístico e hiperplasia supra-renal; - Pode desenvolver infertilidade, hirsutismo, amenorreia e obesidade.

Adaptada de *Siemens*. [22].

5.1.2 Estradiol

O estradiol (Tabela 11) é responsável por estimular os órgãos sexuais primários e secundários femininos. Os níveis desta hormona exercem funções importantes ao nível do funcionamento dos ovários e monitorização da reprodução assistida.

Em mulheres não grávidas, o estradiol é segregado principalmente pelas células teca e pelo corpo lúteo. Em mulheres grávidas, a placenta passa a ser a principal secretora desta hormona.

Esta hormona encontra-se na circulação sanguínea maioritariamente ligada à SHBG e à albumina [22].

Tabela 11 - Estradiol

Mulheres	Homens
- Níveis elevados devem-se a hiperfunção dos ovários e indução da gravidez (gravidez ou reprodução assistida); -Níveis baixos resultam de hipofunção dos ovários (falta de síntese e menopausa) e lesão no eixo hipotálamo-hipófise.	- Níveis elevados podem dever-se à acrescida aromatização química dos esteroides androgéneos, levando à ginecomastia.

Adaptada de *Siemens*. [23].

5.1.3 Progesterona

A progesterona é importante para regular as funções do sistema reprodutivo. Esta é essencial na preparação do endométrio para a implantação do blastocisto e manutenção da gravidez.

Na mulher, as principais fontes desta hormona são o corpo lúteo e a placenta. No homem, esta hormona não apresenta uma fonte significativa, apresentado quantidade vestigiais produzidas pela glândula supra-renal e pelos testículos.

Durante a menstruação, os níveis de progesterona encontram-se reduzidos. Quando estamos perante um quadro de gravidez, os níveis da progesterona aumentam de forma estável e atingem os seus níveis mais elevados no terceiro trimestre [22].

5.1.4 LH e FSH

A hormona luteinizante (LH) e a hormona foliculoestimulante (FSH) possuem iguais subunidades alfa e diferente subunidade beta. A subunidade beta é responsável pelas suas diferentes especificidades.

A LH e a FSH são libertadas pela hipófise em resposta à hormona libertadora de gonadotropina (GnRH) libertada pelo hipotálamo.

Tanto em homens como em mulheres, a regulação destas duas hormonas é regulada por mecanismos de resposta positiva e negativa, envolvendo os órgãos reprodutivos e esteroides sexuais. A LH e FSH são importantes na manutenção normal do funcionamento dos sistemas reprodutores masculino e feminino.

Níveis elevados de LH e FSH estão associados à menopausa [22].

5.1.5 Prolactina

A prolactina é uma hormona polipeptídica segregada pela hipófise e sintetizada na placenta. No homem e na mulher, esta hormona desempenha uma função gonadal, existindo em circulação em concentrações baixas. Nas mulheres, esta hormona inicia e mantém a lactação.

Esta atinge concentrações elevadas em gravidezes e lactação pós parto, bem como pode existir elevações momentâneas da prolactina durante o sono, *stress* ou exercício físico.

Quando possui concentrações elevadas persistentes sem o individuo se enquadrar nas opções supracitadas, é indicativo de hiperprolactinemia, resultando em galactorreia, amenorreia, infertilidade nas mulheres e impotência no homem [22].

5.1.6 DHEA-S

O DHEA-S é um esteroide supra-renal, sendo produzido maioritariamente pelas glândulas supra-renais, embora no homem uma pequena parte possa provir dos testículos. O DHEA-S é ligeiramente androgénico, sendo possível metabolizar-se em androgénios mais potentes, como a androstenediona e testosterona.

Os níveis deste androgénio aumentam gradualmente a partir do 7 ano de vida, declinando gradualmente a partir da terceira década de vida. A medição destes níveis é importante para pesquisas de crescimento, hirsutismo e alopecia.

O DHEA-S é segregado para a corrente sanguínea sem variação diurna significativa, bem como circula sem ligação às globulinas de ligação a hormonas sexuais, tornando-o assim um excelente indicador de produção supra-renal [22].

5.2 Alfa-feto proteína

A alfa-feto proteína (AFP) é uma glicoproteína produzida no fígado. Esta proteína, quando produzida pelo feto, é segregada para o soro fetal, onde atinge um máximo às 13 semanas. No adulto, a AFP encontram-se em níveis relativamente baixos, estando aumentados em doenças hepáticas, algumas patologias oncológicas e durante a gravidez.

Os rastreios pré-natais envolvem a monitorização da AFP, uma vez que níveis alterados desta glicoproteína, durante o segundo trimestre, são sugestivos de malformações congénitas. Estes rastreios não são realizados no Laboratório, são enviados para um Laboratório exterior. Esta proteína é também utilizada para monitorização de tratamentos oncológicos, nomeadamente do hepatócito, testículo e ovário [22].

A realização dos Rastreio bioquímicos Pré-Natais requer a identificação dos períodos de gestação da grávida, uma vez que as análises são diferentes conforma a grávida se encontra no 1º ou no 2º trimestre. No primeiro são analisadas a beta-HCG livre e a PAPPa, sendo estas enviadas para um Laboratório externo. As análises dos segundo trimestre são a alfa-fetoproteína e a beta-HCG, sendo estas realizadas no Laboratório.

5.3 Cortisol

O cortisol é uma hormona glucocorticoide sintetizada e segregada pelo córtex supra-renal. Esta hormona participa no metabolismo dos hidratos de carbono, proteínas e lípidos, bem como mantém a pressão arterial normal e inibe reações alérgicas e inflamatórias.

O cortisol é regulado pela CRH, proveniente do hipotálamo, onde posteriormente vai estimular a hipófise a produzir ACTH, mecanismo controlado por um *feedback negativo*.

Em indivíduos saudáveis, o nível de cortisol em circulação rege-se por um padrão diurno, sendo mais elevado de manhã ao acordar e mais baixo ao fim do dia.

A avaliação dos níveis de cortisol são frequentemente medidos numa combinação de horas, de manhã e à tarde, devido ao padrão diurno desta hormona. Níveis elevados são sugestivos de Síndrome de Cushing, ao contrário da doença de Addison, provocada pela insuficiência supra-renal primária [22].

5.4 Beta-HCG

A beta-HCG é uma glicoproteína com duas subunidades, onde a subunidade alfa é semelhante a outras hormonas, como a TSH, FSH e LH, e a subunidade beta, sendo específica desta glicoproteína, resulta nas suas propriedades bioquímicas e imunológicas específicas.

Os níveis de beta-HCG estão elevados na gravidez, aumentando exponencialmente. No entanto, esta glicoproteína é avaliada em outros contextos, como marcador tumoral [22].

Durante este período realizei o controlo dos testes da imunologia, onde teria de ter em conta que existiam, para determinados testes, controlos específicos. Estes mesmos testes eram, maioritariamente, marcadores víricos, onde cada um possuía diferentes níveis de controlo. No entanto, a PTH também possuía um controlo específico.

6. Marcadores Tumorais

Os marcadores tumorais realizados no Laboratório Dr^a Helena Rodrigues (Tabela 12) são o CEA, Ca 19.9, Ca 125 e PSA. Os níveis destes marcadores tumorais são úteis para avaliar o prognóstico do estado da doença, bem como na avaliação da possível recorrência do tumor após remoção cirúrgica e respetiva eficácia terapêutica.

Não existindo um marcador com uma certeza absoluta sobre o local da neoplasia, é necessário, para além da determinação destes marcadores serológicos, a realização de outros exames médicos que complementem o seu diagnóstico.

Tabela 12 – Marcadores Tumorais

Marcador Tumoral	
CEA	-antigénio associado a cancro colonretal, mamã, pulmão, ovários, próstata, fígado e pâncreas; -níveis elevados em doenças não malignas (fumadores e idade avançada).
Ca 19.9	-antigénio associado a neoplasia pancreática e do cólon.
Ca 125	-antigénio de superfície associado ao cancro do ovário epitelial.
PSA	-glicoproteína associada ao cancro prostático.

Adaptada de *Siemens*. [23].

7. Proteínas

No Laboratório Dr^a Helena Rodrigues realiza-se a medição dos níveis de determinadas proteínas (Tabela 13), representadas na seguinte tabela.

Tabela 13 - Proteínas

IgE Imunoglobulina com capacidade de medição de Resposta alérgica	Níveis elevados em: asma alérgica, rinite alérgica dermatite atópica, bem como em quadros não relacionados com alergias, como doenças auto-imunes, estados de imunodeficiência, infeções parasitárias, mieloma IgE e alguns linfomas [22].
Ferritina Responsável pelo armazenamento de Ferro	Níveis em concentrações proporcionais às reservas de ferro. A ferritina absorve e armazena o ferro da dieta alimentar, apesar de este ser de fraca absorção, bem como aquele que é libertado pela degradação dos GV.

Adaptada de *Siemens*. [23].

8. Ácido Fólico e Vitamina B12

A vitamina B12, chamada de cianocobalamina, é essencial para a síntese do DNA, maturação normal dos GV, formação e manutenção da bainha de mielina. O Homem obtém a vitamina B12 a partir de alimentos animais, como carne, ovos e leite. No entanto, para que esta seja absorvida, necessita de um fator intrínseco.

Níveis baixos da vitamina B12 estão na origem de anemias macrocíticas e anormalidades neurológicas [22].

O ácido fólico funciona como coenzima nas reações metabólicas, sendo necessário também, como a vitamina B12, para a síntese do DNA e maturação dos GV. O Homem ingere folato através da alimentação, pela ingestão de vegetais, frutas e carne.

Um nível demasiadamente baixo de folato pode dever-se a uma má absorção, gravidez, administração de alguns fármacos (fenitoína) ou alcoolismo crónico. Igualmente como a vitamina B12, a deficiência do folato origina anemias macrocíticas [22].

IV- MICROBIOLOGIA

A microbiologia é a área das análises clínicas que estuda os micro-organismos e suas patologias, estando inerente a bacteriologia, micologia e parasitologia. Este setor engloba o estudo de diversos produtos biológicos, como por exemplo, urina, exsudados (vaginais, uretrais, orofaríngeo), fezes, expetoração e líquido seminal.

As amostras biológicas são semeadas em meios de cultura distintos e apropriados para cada produto. Transversalmente a todas estas análises, no momento da interpretação das placas semeadas, é tido em consideração a possibilidade de surgir a flora microbiana residente, sendo necessário saber o que se deve ou não valorizar como possível agente patogénico.

Embora os produtos biológicos sejam vários, a urina continua a ser a análise mais frequente no laboratório.

1. Exame bacteriológico de Urina

As infeções do trato urinário (ITU) são muito frequentes no Homem, sendo mais prevalentes no sexo feminino, devido à sua anatomia. Estas infeções podem ser de diferentes origens, sendo de forma ascendente, através da uretra, descendente (ou hematológica), de origem comensal ou exógena (introdução de cateteres, algaliações, etc) [26].

Os agentes etiológicos causadores de ITU decorridas na comunidade são geralmente diferentes dos agentes causadores em meio hospitalar. As ITU não complicadas adquiridas na comunidade devem-se, essencialmente, a bactérias pertencentes à família das *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcaceae* e *Enterococci*, sendo a *E.coli* a principal causa de infeções não complicadas na comunidade [27].

As ITU são consideradas complicadas quando decorrem em pessoas com quadros de saúde mais sensíveis, como doentes em imunossupressão, possuidores de deficiências estruturais ou funcionais do aparelho urinário, população mais idosa, bem como alguns fatores externos que potenciam o risco de desenvolver ITU, como os *stents*, cateteres e algaliações [28].

A análise de urina bacteriológica é o meio de avaliação desta condição de saúde, permitindo a identificação do agente patogénico e respetiva antibioterapia.

No momento da colheita de urina, o utente é questionado com algumas perguntas importantes, como o uso de antibióticos no momento da colheita, bem como possíveis sinais e sintomas de infeção urinária. Para a realização desta análise é transmitida informação ao utente quanto aos cuidados de higienização necessários, de modo a garantir que os resultados sejam rigorosos.

As urinas que chegam ao laboratório para análise bacteriológica estão sujeitas a um exame a fresco e a um exame cultural.

O **exame a fresco** consiste na análise microscópica do sedimento urinário, sendo registado a presença de células epiteliais, leucócitos, eritrócitos e bactérias, caso existam.

O **exame cultural** consiste em semear a urina num meio de cultura destinado ao seu isolamento e quantificação, o meio CLED, sendo posteriormente colocadas na estufa durante 24h. No dia seguinte analisa-se a placa e faz-se a contagem de colónias, seguindo uma determinada escala (Tabela 14).

A interpretação do crescimento bacteriano na análise de urina é realizada tendo em conta o resultado cultural e o exame a fresco.

Tabela 14 – Contagem de colónias nas amostras de urina

0	Negativo
$<10^3$	
10^3	Não Valorizável
10^4	Avaliação segundo critérios clínicos
10^5	Positivo
10^6	

Caso seja uma placa positiva, é inoculada num meio diferencial e cromogénico para a sua identificação, o meio CPS-E, e realizado simultaneamente o seu antibiograma.

1.1 Identificação das Bactérias

O meio cromogénico CPS-E, para além de permitir a contagem de colónias, é destinado à identificação da espécie ou géneros de bactérias. A sua interpretação é realizada mediante a observação das cores das colónias, uma vez que determinadas colorações estão associadas a determinadas bactérias (Figura 11) [27].

	Colónias rosas a vermelho escuro	Colónias turquesas	Colónias azuis esverdeadas a azuis acinzentadas	Colónias bege com halo castanho	Revelação do teste indol
<i>E. coli</i>	+	-	-	-	
<i>Enterococcus</i>	-	+	-	-	
Grupo KESC	-	-	+	-	
<i>P. indologene</i> <i>Providencia</i> <i>Morganella</i>	-	-	-	+	+
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	+	-

Figura 11 – Meio de cultura CPS-E

Consoante o agente bacteriano suspeito, por vezes é necessário recorrer a outros meios de cultura. Por exemplo, quando suspeitamos que se trata de uma bactéria Gram Positiva, é necessário semear a amostra em diferentes meios para a sua identificação, como Manitol Salt Agar (MSA) e Gelose Sangue (GS).

A identificação das bactérias por vezes requer a realização de provas bioquímicas para auxiliar na correta identificação da mesma. As provas bioquímicas mais usadas na rotina do laboratório para identificação da bactéria existente na urina, são o teste do indol, a prova da catálase e a prova da oxidase.

A prova do indol (Figura 12) é realizada mediante o reagente de KOVAC, onde se faz reagir, sob um papel de filtro, uma colónia da bactéria suspeita com o referido reagente. A prova é considerada positiva quando surge uma cor roxa/violeta escura.

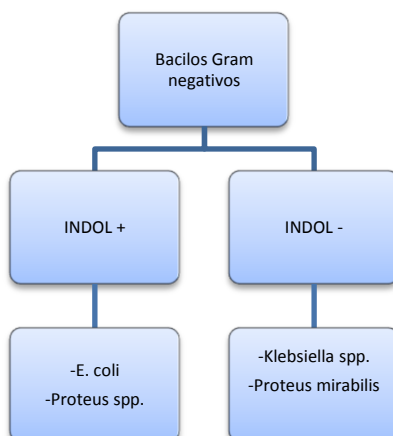


Figura 12 – Prova do Indol

A prova da oxidase é concebida para a distinção entre os bacilos Gram negativos possuidores de metabolismo oxidativo, como a *Pseudomonas*, dos bacilos Gram negativos sem metabolismo oxidativo, como as *Enterobacteriaceae*.

Esta prova é realizada mediante o reagente de oxidase, onde se faz reagir, sob um papel de filtro, uma colónia da bactéria suspeita com o referido reagente. A prova é considerada positiva quando surge uma cor violeta escura.

A prova da catálase (Figura 13) consiste na avaliação da capacidade da bactéria produzir a enzima catalase. Este teste bioquímico é indicado para a distinção entre os *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.*

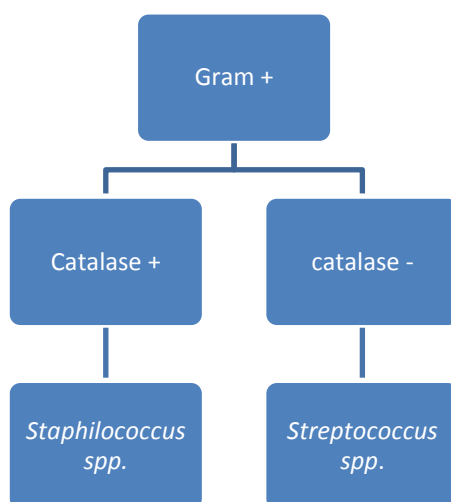


Figura 13 – Prova da catalase

1.2 Casos decorridos no Estágio

As amostras de urina para análise bacteriológica são semeadas em diferentes meios de cultura, de forma a resultar na identificação do agente patogénico. Inicialmente, as amostras de urina são semeadas no meio CLED e colocadas na estufa para incubação, durante um período de 24h.

O meio CLED fornece-nos algumas informações sobre o possível agente patogénico pelas características das colónias, como o seu tamanho, cor e aspeto. No entanto, são necessários meios complementares para a sua correta identificação.

Analisaremos o seguinte exemplo:

A amostra de urina foi semeada num meio de cultura CLED (Figura 14) e posteriormente incubada durante 24h na estufa, a 27°C, para isolamento e quantificação do agente bacteriano.

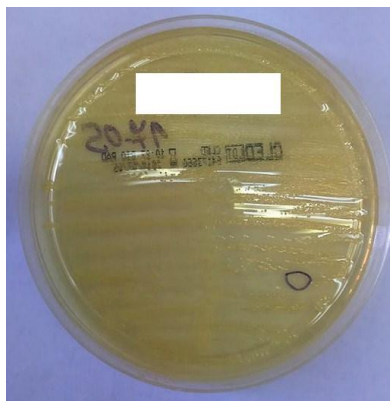


Figura 14 – Meio de cultura CLED

Analisando o meio de cultura CLED verificamos que estamos perante uma infeção bacteriana, uma vez que a contagem de colónias é superior a 10^6 . O meio CLED também nos fornece informação quanto à fermentação da lactose, onde a sua coloração amarela do CLED sinaliza uma fermentação da lactose positiva.

Com este resultado procede-se à inoculação em meio CPS-E (Figura 15), para identificação do agente patogénico, bem como procede-se à realização do antibiograma, no meio MH (Figura 16). A realização do antibiograma é tido em conta consoante a suspeita do agente bacteriano (*Enterobacteriaceae*).

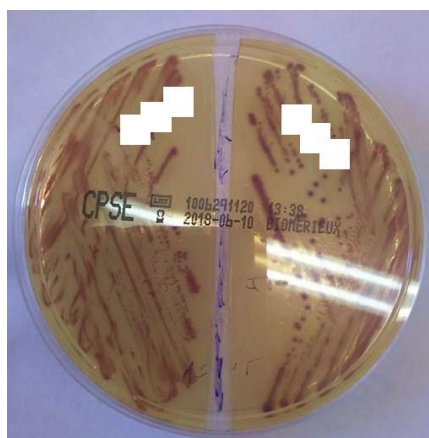


Figura 15 – Meio de cultura CPS-E
(lado direito da figura)

Com a análise deste meio de cultura cromogénico verificamos que se trata de uma *E.coli*.



Figura 16 – Meio de cultura MH

A leitura do meio de cultura MH consiste na leitura dos discos de antibiótico, onde, com o auxílio de uma régua, verificamos o seu halo em comparação com a literatura. É indicado para cada disco de antibiótico se é Sensível, Intermédio ou Resistente.

Na avaliação e interpretação dos meios de cultura é necessário ter em conta a flora microbiana residente do aparelho genital. No sexo feminino, a flora residente varia consoante o pH, concentração de estrogénios, bem como pela idade da mulher. Transversalmente a todas as idades, os lactobacilos estão presentes em mulheres saudáveis. Outras bactérias encontram-se predominantemente estratificadas pela idade da mulher:

- pré-adolescente e pós-menopausa: *Staphylococcaceae* e *Corynebacterium* (flora do epitélio)
- idade reprodutiva: *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcaceae* e *Streptococcus* [28].

2. Exsudado Vaginal/Uretral

As infeções do trato genital masculino e feminino são muito recorrentes e podem ocorrer de diversas formas, quer de forma endógena (sistema imunitário débil, medicação, etc), quer de forma externa (contacto sexual), levando a um desequilíbrio da flora comensal [28].

A flora microbiana do trato genital feminino é constituída, maioritariamente, por *Lactobacillus*, sendo estes responsáveis por manter um pH ótimo de forma a evitar o crescimento das bactérias comensais, bem como de outras bactérias possíveis de causar infeção. No entanto, em determinadas situações fisiológicas e estados de saúde, estas bactérias podem proliferar e se tornarem patogénicas [28].

A análise do exsudado vaginal e uretral consiste numa avaliação direta a fresco, num exame após coloração de Gram e de uma análise cultural.

O **exame direto a fresco** consiste na visualização ao microscópio de diversos parâmetros, como a presença de bactérias, leucócitos, células epiteliais e a presença ou não de *Trichomonas vaginalis*.

O **exame cultural** do exsudado consiste em semear a amostra em diversos meios de cultura, o meio GS, o meio Chocolate e o CandiSelect.

3. Exame bacteriológico de fezes

O trato gastrointestinal possui uma flora bastante diversificada.

A acidificação do estômago previne a colonização de agentes bacterianos causadores de infecções. No entanto, alguns agentes conseguem ultrapassar esta barreira e colonizar o intestino. Relativamente à porção do intestino delgado superior, a flora residente costuma ser *Lactobacillus*, *Streptococcus* e algumas leveduras. Na porção distal do intestino delgado são as *Enterobacteriaceae* e Bacteróides que fazem parte do meio [3].

As amostras analisadas para a detecção de infecções gastrointestinais são as fezes, sendo por vezes a interpretação do exame bacteriológico complexa, devido à flora comensal abundante do trato gastrointestinal [28].

Os principais agentes etiológicos identificados em infecções gastrointestinais são a *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Campylobacter* spp., sendo estes resistentes ao ambiente ácido do estômago [28].

4. Estudo Estatístico

Durante o meu período de estágio no Laboratório Dr^a Helena Rodrigues realizei um estudo estatístico na valência de microbiologia. Este consistiu na determinação dos agentes bacterianos causadores de infeções do trato urinário (ITU) na comunidade do Alto Minho, entre 2012 a 2016.

Durante este período foram identificadas 3971 exames bacteriológicos de urina positivos, de ambos os sexos e de todas as faixas etárias.

A prevalência das ITU na comunidade do Alto Minho mostrou que os agentes bacterianos mais frequentes foram a *E.coli* e a *Klebsiella spp.*. No entanto, embora em menor percentagem, outras bactérias foram identificadas como causadoras de ITU, como o *Proteus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Stafilococcus coagulase negativa*, entre outras (*Pseudomonas spp.*, *Stafilococcus aureus*, *Streptococcus*, *Morganella morganii*, *Enterobacter spp.* e *Citrobacter spp.*) (Figura 17).

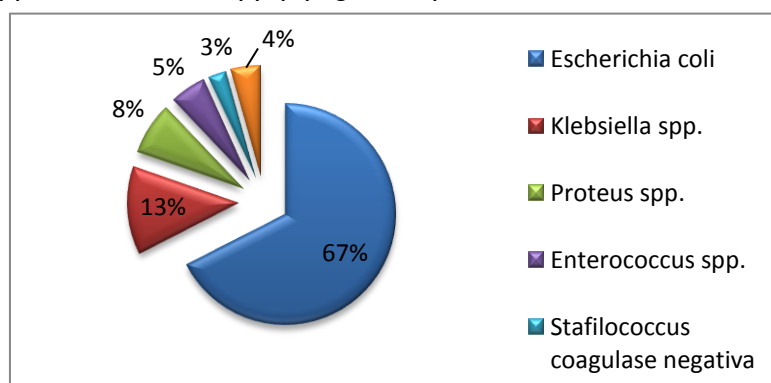


Figura 17 - Prevalência dos agentes bacterianos das ITU no Alto Minho

A prevalência das ITU foi também estatisticamente analisada pelos diferentes sexos, onde a população feminina apresenta-se como a detentora de mais ITU (Figura 18).

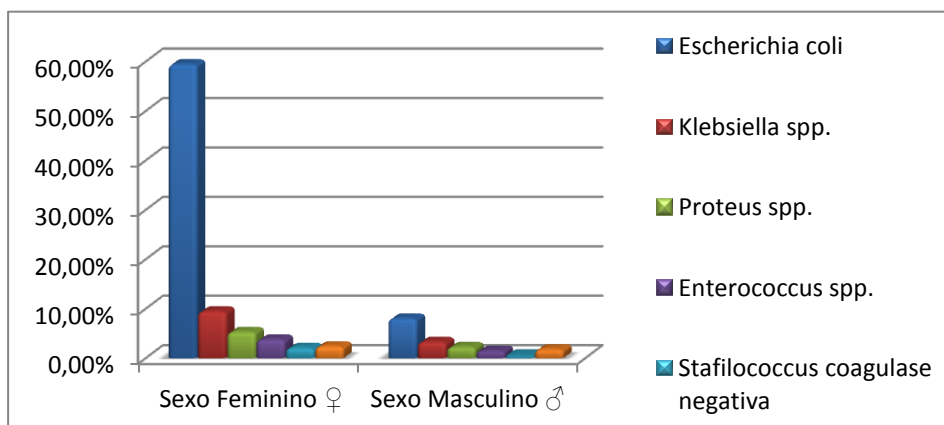


Figura 18 - Prevalência, por sexo, dos agentes bacterianos das ITU no Alto Minho

O perfil de resistências também foi um dos pontos estudados para as duas bactérias mais frequentes. Uma vez que no Laboratório é testado um determinado perfil de antibióticos pré-estabelecido consoante a identificação da bactéria, foi analisado as resistências destas duas bactérias pertencentes às *Enterobacteriaceae* (Figura 19). No entanto, é realizado um painel alargado de antibióticos para quando são evidenciadas demasiadas resistências numa placa face à identificação da bactéria.

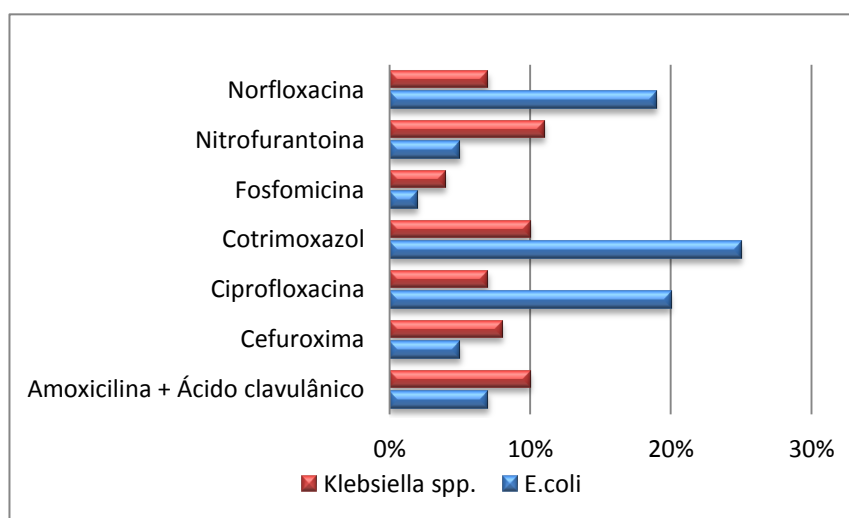


Figura 19 - Prevalência das resistências nas *Enterobacteriaceae* mais prevalentes

O estudo realizado no Laboratório Dr^a Helena Rodrigues, onde foram analisadas amostra de urina bacteriológica e consequente identificação dos agentes patogénicos, corrobora a literatura, onde aponta a *E. coli* como o agente bacteriano causador de ITU mais prevalente na comunidade.

Relativamente à prevalência das ITU, o sexo feminino continua a possuir uma frequência mais elevada do que o sexo masculino, apontando a anatomia da mulher como uma das principais causas.

A utilização de antibióticos e consequente aumento de resistências tem sido, a nível mundial, um assunto crescente de debate clínico.

Face às imensas consequências que o aumento da resistência antimicrobiana pode causar, como sofrimento do indivíduo, aumento dos custos de saúde, etc, o estudo do perfil de resistências também é um dos objetivos de estudo estatístico destes mesmos dados que, embora estando ainda em estudo, irá permitir conhecer a realidade da comunidade do Alto Minho.

5.CONCLUSÃO

A realização do estágio no Laboratório de Análises Clínicas Dr^a Helena Rodrigues permitiu-me desenvolver aptidões práticas e teóricas já previamente adquiridas durante as aulas do Mestrado em Análises Clínicas, bem como desenvolver novas competências.

Este período permitiu-me entrar em contacto com as diferentes valências das análises clínicas, nomeadamente a química clínica, hematologia, imunologia e microbiologia, onde, em cada uma delas, me foi permitido executar o processamento de controlos e de calibrações, bem como o processamento de amostras e respetiva interpretação.

O período de realização do estágio fez-me tomar conhecimento da realidade vivida nos dias de hoje nas análises clínicas, onde a automatização possui um lugar de destaque. Esta permite uma maior eficiência, produtividade, bem como uma menor exposição do profissional de saúde aos líquidos biológicos, tornando todo o processo mais seguro.

A abrangência das análises clínicas exige o domínio de diversas matérias, sendo por isso fundamental uma formação contínua, quer seja do ponto de vista académico, quer seja do ponto de vista prático. Assim, este estágio contribuiu para evidenciar que é necessária uma constante aprendizagem e atualização.

6.FORMAÇÕES REALIZADAS

Durante o meu período de estágio no Laboratório Dr^a Helena Rodrigues, foi-me possibilitada diversas oportunidades de formações, de modo a melhorar a nossa formação contínua.

AEFA

(creditada pela OF)

- ✓ *“Protocolo Diagnóstico Diferencial del Síndrome Anémico”, 2018*
- ✓ *“Marcadores en Tumores Neuroendocrinos”, 2018*
- ✓ *“Evaluación de la proteinuria en niños”, 2018*
- ✓ *“Como interpretar y cumplir los requerimientos de calidad analíticos establecidos por la norma ISO 15189”, 2018*
- ✓ *“Marcadores de Preeclampsia”, 2018*

SIEMENS

- ✓ ADVIA[®] 2120i: Hematology System: *Online Training*, 2018 – SIEMENS
- ✓ General Laboratory: Pre-Analytical Issues Online Training, 2018
- ✓ General Laboratory: Introduction to Autoverification Online Training, 2018
- ✓ General Laboratory: Clinical Chemistry Basic Overview Online Training, 2018

Laboratório Dr^a Helena Rodrigues

- ✓ *“ci8200”- Abbott, 2018*

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIOQUÍMICA CLÍNICA

- [1] - Roche. Manual Cobas Integra 400/700/800. Edição 4. 2007.
- [2] - Menarini Diagnostics. Manual de Operação Spotlyte. Versão 1.2.Port. 20/2007.
- [3] – Arkray. Manual de Operação Aulion Jet AJ-4040.
- [4] - Arkray. Method Manual ADAMS A1c. HA8160. Ver.9. 07/2008.
- [5] - AELS.r.l. Automatic Electrophoresis Laboratory Valent Pto. Ver.2.1.
- [6] - Sociedade Portuguesa de Cardiologia, consultada a 14 de março de 2018.
- [7] - Smith C, Marks Allan D e Lieberman M. “*Basic Medical Biochemistry: A clinical Approach*”. 4th ed. Wolters Kluwer Health: Lippincott Williams &Wilkins; 2013.
- [8] - Direção-Geral da Saúde. Prescrição e Determinação da Hemoglobina Glicada A1c. Norma da DGS. 2011:1-10.
- [9] - Gaw Allan, Cowan Robert, O`Reilly Denis, Stewart Michael e Shepherd James. “Bioquímica Clínica”. 2nd ed. Guanabara Koogan; 2001.
- [10] – ABX Pentra. “*Reagente de diagnóstico para a determinação quantitativa in-vitro da Alanina Amino Transferase (ALT) no soro ou no plasma*”.
- [11] - Aution Sticks. Arkray. Ver.1/2015.
- [12] - DIMA Gesellschaft für Diagnostika mbH.“*Teste rápido de sangue oculto nas fezes*”.
- [13] - Direção-Geral da Saúde. Conduta em Infertilidade. Norma da DGS. 2011:1-23
- [14] - Direção-Geral da Saúde. Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus. Norma da DGS 2011:1-13
- [15] - Direção-Geral da Saúde. Diagnóstico e conduta na Diabetes Gestacional. Norma da DGS. 2011:1–7.

HEMATOLOGIA

- [16] - Siemens. Manual de Operação Advia 120 Hematology System.
- [17] - Menarini. Manual de Operação Ves-MAstic 20/20 Plus New.Ver.20/06.

[18] - Stago. Manual de Referência STart Max.0932300_PT.

[19] - Richard A. McPherson e Matthew R. Pincus. Henry`s *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22nd ed. Philadelphia: Elsevier;2011.

[20]- Barbara J. Bain, Imelda Bates e Michael A. Laffan. *Practical Haematology*. 12th ed. London: Elsevier;2017.

[21] - Bernadette F. Rodak e Jacqueline H. Carr. *Clinical Hematology Atlas*. 4th ed. Missouri: Elsevier; 2013.

IMUNOLOGIA

[22] - Siemens. Manual de Operação Advia Centaur CP Immunoassay System.

[23] - Siemens. Manual de Operação Immulite 2000 Immunoassay System.

[24] – Vinay Kumar, Abul K. Abbas e Jon C. Aster. Robbins Basic Pathology. 9th ed. Philadelphia: Elsevier; 2013

[25] – Hepatites. Disponível em:

<https://www.cdc.gov/hepatitis/resources/professionals/training/serology/training.htm>

[acedido em 23/03/2017]

MICROBIOLOGIA

[26] – James H. Tabibian, Jeffrey Gornbein, Arash Heidari, Sarah L. Dien, Valerie H. Lau, Puneet Chahal,et al. Uropathogens and Host Characteristics. Journal of Clinical Microbiology. 2008;46:3980–3986.

[27] - Gelose chromID CPS (CPS), bioMérieux.

[28] - Betty A. Forbes, Daniel F. Sahm e Alice S. Weissfeld. Bailey & Scott`s – Diagnostic Microbiology. 12th.Houston – Texas: Elsevier; 2007.