

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa



Alterações Cardiovasculares associadas ao SARS-CoV-2

Catarina Isabel Raposo Freire

Relatório de Estágio orientado pela Prof.^a Dr.^a Maria João Monteiro
dos Santos Ferreira da Silva

Mestrado em Análises Clínicas

Lisboa, 2022

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa



**Alterações Cardiovasculares associadas ao
SARS-CoV-2**

Catarina Isabel Raposo Freire

Relatório de Estágio orientado pela Prof.^a Dr.^a Maria João Monteiro
dos Santos Ferreira da Silva

Mestrado em Análises Clínicas

Lisboa, 2022

Resumo

Esta tese propõe-se, primeiramente, à descrição do estágio Curricular como parte integrante do plano de estudos do Mestrado em Análises Clínicas (MAC) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa (FFUL). Este foi realizado no Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa em Lisboa (CMLGS). Teve como principal objetivo a minha integração num ambiente profissional laboratorial e a consolidação de conhecimentos adquiridos durante o Mestrado em Análises Clínicas (MAC).

Em seguida, na segunda parte deste documento, foi realizada uma revisão da literatura com o objetivo de compreender as implicações a nível cardiovascular da infeção pela Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus 2 (SARS-CoV-2), um vírus esférico com invólucro pertencente à família *Coronaviridae*. Até à data, os dados disponíveis indicam que a infeção por este vírus causa o desenvolvimento de manifestações cardiovasculares. Pensa-se que os mecanismos principais que levam à lesão do sistema são: i) lesão direta do tecido cardíaco e cardiomiócitos, por entrada direta do vírus nas células, através da Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ACE2), ii) libertação exuberada de biomarcadores pró-inflamatórios conhecida como “Tempestade de Citocinas” podendo levar a alterações de coagulação e iii) comprometimento do sistema respiratório, que pode levar à hipoxia do tecido cardíaco.

De modo a compreender as várias alterações e implicações no sistema cardiovascular devido a infeção pelo vírus SARS-CoV-2 foram analisadas as alterações de biomarcadores cardíacos, inflamatórios e de coagulação. Os biomarcadores cardíacos avaliados foram: as Troponinas Cardíacas I (cTnI) e T (cTnT), a Creatinaquinase (CK), a Creatinaquinase-MB de (CK-MB), a Lactato Desidrogenase (LDH) e o N-terminal do Péptido Natriurético tipo B (NT-proBNP). Os biomarcadores pró-inflamatórios foram: a Proteína C Reativa (PCR); as Interleucinas (IL) 6 e 10 e o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF α). Os biomarcadores de coagulação foram: os D-Dímeros, o Tempo de Protrombina (TP) e o Tempo de Tromboplastina Parcialmente Ativado (TTPa). Até à data as infeções pelo vírus SARS-CoV-2 parecem demonstrar ter implicações cardiovasculares durante o estado ativo da infeção, não sendo claras as suas consequências a médio e longo prazo.

Palavras-Chave: SARS-CoV-2, COVID-19; Biomarcadores, Sistema Cardiovascular; Sistema Inflamatório; Coagulação

Abstract

This thesis proposes, firstly, to describe the Curricular internship as an integral part of the study plan for the Master in Clinical Analysis (MAC) of the Faculty of Pharmacy of the University of Lisbon (FFUL). This was carried out at the Germano de Sousa Laboratory Medicine Center in Lisbon (CMLGS). Its main objective was my integration in a professional environment in the laboratory and the consolidation of the knowledge acquired during the Master in Clinical Analysis (MAC).

Then, in the second part of this document, a literature review was carried out in order to understand the cardiovascular implications of Severe Acute Respiratory Syndrome – Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection. SARS-CoV-2 is a spherical enveloped virus belonging to the *Coronaviridae* family. To date, available data indicates that infection with this virus causes the development of cardiovascular manifestations. It is thought that the main mechanisms that lead to the damage of the system are: i) direct damage to the cardiac tissue and cardiomyocytes, by direct entry of the virus into the cells, through the Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2), ii) exuberant release of pro-inflammatory biomarkers known as “Cytokine Storm” which can lead to coagulation alterations, and iii) compromise of the respiratory system which can lead to hypoxia of cardiac tissue.

In order to understand the various changes and implications in the cardiovascular system due to SARS-CoV-2 virus infection, changes in cardiac, inflammatory and coagulation biomarkers were analyzed. Cardiac biomarkers were: Cardiac Troponins I (cTnI) and T (cTnT); Creatinine kinase (CK); Creatinine kinase MB (CK-MB); Lactic Dehydrogenase (LDH) and the N-terminus of Natriuretic Peptide B-type (NT-proBNP). The pro-inflammatory biomarkers were: C-Reactive Protein (CRP); Interleukins (IL) 6 and 10 and Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF α). The coagulation biomarkers were: D-Dimers, Prothrombin Time (PT) and Partially Activated Thromboplastin Time (APTT). To date, SARS-CoV-2 virus infections seem to have cardiovascular implications during the active state of the infection, although its medium and long-term consequences remain unclear.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19; Biomarkers, Cardiovascular System; Inflammatory System; Coagulation

Índice Geral

Resumo.....	iv
Abstract	v
Índice Geral	vi
Índice de Figuras.....	viii
Índice de Tabelas.....	viii
Lista de Abreviaturas.....	ix
Parte A - Relatório de Estágio.....	1
1 Introdução.....	1
2 Grupo Germano de Sousa	2
3 Fase Pré-Analítica.....	3
4 Hematologia Clínica.....	8
4.1 Tubo de vácuo com EDTA.....	8
4.2 Tubo de vácuo com Citrato de Sódio 3,8%.....	13
5 Microbiologia Clínica	15
5.1 Urinas	15
5.2 Fezes.....	17
5.3 Exsudatos.....	19
5.3.1 Vaginal	19
5.3.2 Uretral	20
5.3.3 Faríngeo.....	20
5.3.4 Feridas	21
5.4 Outras amostras	22
5.4.1 Cateter.....	22
5.4.2 Líquidos Nobres e Produtos estéreis anaeróbios.....	22
6 Controlo de Qualidade Laboratorial.....	24
6.1 Hematologia	25
6.2 Microbiologia Clínica	26
7 Conclusão	28
Parte B - Alterações Cardiovasculares associadas ao SARS-CoV-2.....	29
1. Introdução.....	29
1.1 Origem e Descrição do SARS-CoV-2	29
1.2 Possível relação entre a infeção por SARS-CoV-2 e alterações do SCV.....	30

1.3	Estrutura deste trabalho	30
2.	Vírus de Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus 2 (SARS-CoV-2)	32
2.1	Taxonomia e Estrutura do vírus	32
2.2	Transmissão.....	35
2.3	Ciclo replicativo	35
2.5	Formas de manifestações clínicas de infecção viral por SARS-CoV-2	36
3.	Sistema Cardiovascular	38
3.1	Principais biomarcadores para avaliação do Sistema Cardiovascular.....	39
3.1.1	Cardíaco.....	39
3.1.2	Inflamatórios	41
3.1.3	Trombóticos	43
4.	Fisiopatologia do SARS-CoV-2 no Sistema Cardiovascular	44
4.1	Infeção Cardíaca direta do SARS-CoV-2	46
4.2	Tempestade de citocinas.....	47
4.3	Efeitos do comprometimento do Sistema Respiratório no SCV	50
4.4	Outras Causas de lesão do SCV	51
5.	Discussão	52
5.1	Biomarcadores cardíacos	56
5.2	Biomarcadores inflamatórios	60
5.3	Biomarcadores de coagulação	61
5.4	Prognóstico associado à infecção pelo SARS-CoV-2 a nível do Sistema Cardiovascular.....	63
6.	Conclusão	66
	Parte D - Bibliografia	xiv
	Parte E - Anexos.....	xxvii
1	Anexo 1 – Cadeia: Percurso das amostras das áreas de Bioquímica Clínica e Imunologia	xxvii
2	Anexo 2 – Triagem.....	xxviii
3	Anexo 3 – Sequência de trabalho de Tubo de EDTA	xxix
4	Anexo 4 – Esquema dos meios de cultura, caldos de crescimento e lâminas realizadas para cada tipo de amostra biológica em Microbiologia Clínica	xxx

Índice de Figuras

Figura 1 - Fluxo de análises dos tubos de EDTA	8
Figura 2 - Representação Esquemática do SARS-CoV-2; Adaptado de (80)	33
Figura 3 - Fases do ciclo replicativo dos coronavírus; Adaptado de (77)	36
Figura 4 - Efeitos da infecção pelo vírus SARS-CoV-2	46
Figura 5 – Cadeia - Percurso das amostras para as áreas de Bioquímica Clínica e Imunologia	xxvii
Figura 6 – Esquema do percurso das amostras na triagem	xxviii
Figura 7 - Sequência de trabalho de Tubo de EDTA	xxix

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Valores críticos do hemograma; Adaptado de (9).....	10
Tabela 2 - Frações de eletroforese de hemoglobina; Adaptado de (16).....	11
Tabela 3 - Valores para avaliação da Hemóstase; Adaptado de (27).....	14
Tabela 4 - Proteínas não estruturais do SARS-CoV-2; Adaptado de (73,77,88).....	34
Tabela 5 – Resumo dos biomarcadores selecionados por categorias.....	39
Tabela 6 - Relação de alterações de parâmetros Bioquímicos com pior prognóstico na infecção por SARS-CoV-2; Adaptado de (149).....	53
Tabela 7 - Resumo das alterações dos biomarcadores estudados	54
Tabela 7 - Resumo das alterações dos biomarcadores estudados [Cont.]	55
Tabela 8 - Esquema dos meios de cultura, caldos de crescimento e lâminas realizadas para cada tipo de amostra biológica em Microbiologia Clínica	xxx

Lista de Abreviaturas

- ssRNA – RNA de cadeia simples com sentido negativo (*Single String RNA negative sense*)

+ ssRNA – RNA de cadeia simples com sentido positivo (*Single String RNA positive sense*)

Ac – Anticorpos

ACE – Enzima Conversora da Angiotensina (*Angiotensin-Converting Enzyme*)

ACE2 – Enzima Conversora da Angiotensina 2 (*Angiotensin-Converting Enzyme-2*)

Ag – Antígeno

AgFvW - Antígeno do Fator de von Willebrand

AL – Anticoagulante Lúpico

Ang 1-9 – Angiotensina 1-9

Ang II – Angiotensina 2

Ang1-7 - Angiotensina 1-7

AngI – Angiotensina I

AT-III – Antitrombina III

BHI – Caldo de Crescimento de Infusão de Cérebro e Coração (*Brain Heart Infusion Broth*)

C3 – Complemento 3

CD – Coombs Direto

CEDAP - Centro de Diagnóstico Anátomo-Patológico

CI – Coombs Indireto

CID – Coagulação Intravascular Disseminada

CK – Creatinaquinase

CK-MB – Creatinaquinase-MB

CMLGS – Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa

CNA – Columbia com Colistina e Ácido Nalidíxico com 5% de sangue de carneiro

CO2 – Dióxido de carbono

COS – Gelose de Columbia com 5% sangue de carneiro

CPSE® - *ChromID™ CPS® Elite*

CQ – Controlo de Qualidade

CQE – Controlo de Qualidade Externo

CQI – Controlo de Qualidade Interno

cTn – Troponina Cardíaca

cTnI – Troponina I Cardíaca

cTnT – Troponina T Cardíaca

DCV – Doenças Cardiovasculares

dL – Decilitro

DMVs – Vesícula de Dupla Membrana (*Double-Membrane Vesicles*)

E. coli – *Escherichia coli*

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

FFUL - Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

FvW – Fator de von Willebrand

g – Grama

GGs - Grupo Germano de Sousa

h – Hora

H.pylori – *Helicobacter pylori*

HbA1C – Hemoglobina Glicada

HC – Hematologia Clínica

HCl - Ácido Clorídrico

Hek – Hektoen

hs-cTnI – Troponina cardíaca I ultrasensível (*high sensitivity cardiac troponin I*)

hs-cTnT – Troponina cardíaca T ultrasensível (*high sensitivity cardiac troponin T*)

IFN – Interferão (*Interferon*)

IgG – Imunoglobulina G

IL – Interleucinas

IL-10 – Interleucina - 10

IL-6 – Interleucina - 6

IPST – Instituto Português do Sangue e Transplante

L – Litro

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

LDH – Lactato Desidrogenase (*Lactate Dehydrogenase*)

LE – Lúpus Eritematoso

LinfB – Linfócitos B

LinfTAux – Linfócitos T Auxiliares

LinfT – Linfócitos T

MAC – Mestrado em Análises Clínicas

Mb – Mioglobina

McK – MacConkey

MCP-1 – Proteína Quimioatraente de Monócito 1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*)

MERS-CoV – Síndrome Respiratória do Médio Oriente (*Middle East respiratory Syndrome*)

mRNAs – RNA mensageiro (*Messenger RNA*)

N. gonorrhoeae – *Neisseria gonorrhoeae*

NETs – Armadilhas Extracelulares de Neutrófilos (*Neutrophil Extracellular Traps*)

Nº Plt – Número de plaquetas

nsp – Proteínas não Estruturais (*non structural proteins*)

NT-proBNP – N-terminal do Péptido Natriurético tipo B (*N-terminal pro-brain natriuretic peptide type B*)

O₂ – Oxigénio

OMS – Organização Mundial da Saúde

ORFs – Quadro de Leitura Aberto (*Open Reading Frames*)

PC – Proteína C

Prot E – Proteína do Invólucro (*Protein Envelope*)

Prot M – Proteína Membranar (*Protein Membrane*)

Prot N – Proteína Nucleocápside (*Protein Nucleocapsid*)

Prot S – Glicoproteína Transmembranar Spike (*Spike Protein*)

PVX –Chocolate *PolyViteX*

RNA – Ácido Ribonucleico (*Ribonucleic Acid*)

RPM – Rotações por minuto

RpRd – RNA polimerase RNA dependente

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

Sab – Sabouraud Gentamicina Cloranfenicil

SARS – Síndrome Respiratório Agudo Grave (*Severe Acute Respiratory Syndrome*)

SARS-CoV – Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*)

SARS-CoV-2 – Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus 2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2*)

SCV – Sistema Cardiovascular

sgRNA – Subgenómicas de RNA

SRAA – Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

STC – Síndrome de Tempestade de Citocinas

TMPRSS2 – Protease Transmembranar Serina 2 (*Transmembrane Protease Serine 2 Precursor*)

TNF α – Fator de Necrose Tumoral Alfa (*Tumor Necrosis Factor Alfa*)

TP – Tempo de Protrombina

TRBS&M – Taxa de Relação de alterações de parâmetros Bioquímicos com a Severidade e Mortalidade

TTPa – Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado

UCI – Unidades de Cuidados Intensivos

UFC – Unidades Formadores de Colônias

VCA –Chocolate *PolyViteX VCAT3*

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

VR – Valores de Referências

VS – Velocidade de Sedimentação

Parte A - Relatório de Estágio

1 Introdução

Este documento foi realizado no âmbito da avaliação final do Mestrado de Análises Clínicas (MAC) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa (FFUL). É composto por duas partes, o Relatório de Estágio e a Monografia.

Na primeira parte faz-se a caracterização do local de estágio incluindo a descrição das atividades realizadas nas valências frequentadas e na segunda parte desenvolve-se o tema “Alterações Cardiovasculares associadas ao SARS-CoV-2” integrado na valência de Bioquímica Clínica.

O estágio decorreu entre fevereiro de 2021 e agosto de 2021 e foi realizado no laboratório central do Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa (CMLGS) de Lisboa, localizado na Rua Cupertino de Miranda, 9 - Lote 8, e no posto de colheitas pertencente ao Grupo Germano de Sousa (GGS) na Avenida de Roma, número 45A.

O estágio curricular do MAC tem como objetivos gerais: i) a aplicação das técnicas de colheita adequadas a cada analito a ser determinado, ii) a identificação de problemas e apresentação de soluções, iii) a aplicação dos conhecimentos relacionados com a planificação e organização das atividades diárias do laboratório de Análises Clínicas, iv) a integração dos conhecimentos ministrados ao longo da formação, v) a aquisição de capacidade crítica e de autocrítica no âmbito da atividade profissional das Análises Clínicas, vi) a demonstração de capacidade para exercer a atividade em equipas multidisciplinares, vii) a aquisição de conhecimentos que permitam a compreensão e aplicação dos princípios do controlo e garantia da qualidade, viii) a aquisição de capacidade para desenvolver trabalho autónomo associado ao diagnóstico laboratorial.

Neste trabalho proponho-me a apresentar os vários locais de estágio, a descrever e a salientar a importância da Fase Pré-Analítica, a identificar os produtos biológicos em análise, os métodos analíticos utilizados e os respetivos equipamentos. O estágio foi realizado nas valências de: Fase Pré-Analítica, Bioquímica Clínica, Hematologia e Microbiologia Clínica. Tendo em conta que o tema da monografia será desenvolvido na área de Bioquímica Clínica esta valência não será abordada no Relatório de Estágio.

2 Grupo Germano de Sousa

O Grupo Germano de Sousa (GGS) foi fundado em 1975 pelo Professor Doutor Germano de Sousa como Laboratório de Patologia Clínica. Em 1978 houve a inclusão do Laboratório de Anatomia Patológica e, posteriormente, o Laboratório de Genética & Genómica, em 2009. Em 2018 houve a aquisição do Centro de Diagnóstico Anátomo-Patológico (CEDAP). O laboratório estabelece um sistema de Gestão da Qualidade com base na norma portuguesa NP EN ISO 9001, sendo este um laboratório certificado. O GGS, de momento, abrange todo o território de Portugal continental e a ilha de São Miguel, nos Açores.

O laboratório central é composto pelas áreas de Apoio, de Pré-Analítica, de Analítica e de Pós-Analítica. O *design* do laboratório é “*open-concept*”, sendo caracterizado por amplos espaços abertos com um número diminuto de separatórias e espaços fechados. Este *layout* facilita a colaboração entre técnicos e outros profissionais e a transição de amostras entre as várias áreas do laboratório. O laboratório é também caracterizado por um elevado grau de automatização, dado que a maioria dos métodos utilizados para a realização das análises são efetuados com recurso a equipamentos computadorizados. Esta automatização permite diminuir tanto quanto possível a interação direta humana com as amostras, mitigando assim o risco de erro humano e as potenciais consequências de contaminação da amostra e exposição dos técnicos a agentes potencialmente infecciosos.

3 Fase Pré-Analítica

A Fase Pré-Analítica foi a primeira valência frequentada. Tendo inicialmente uma duração prevista de 110 horas (h), estendeu-se, porém, a todo o período de estágio, com um total de 508h. Esta valência foi dividida em 2 partes, na triagem, no CMLGS e no posto de colheitas situado na Avenida de Roma, nº 45ª A, que abrangeu colheitas de âmbito ambulatorio e domiciliário.

A Fase Pré-Analítica abrange todos os procedimentos, começando na prescrição pelo clínico das análises a efetuar ao utente, passando pela colheita e transporte da amostra, até ao processamento da amostra para realização das análises. Esta fase é fundamental, pois é a base de todo o procedimento posterior, contudo é nesta etapa que ocorre a maior percentagem de erros em todo o processo analítico (1).

Com vista a mitigar possíveis fontes de erros, é importante que ocorra uma execução correta da fase Pré-Analítica, que passa por seguir vários passos: i) abertura correta da ficha informática, ii) correta identificação e aquisição de dados do utente, iii) correta inserção na ficha informática do utente, por parte do administrativo, dos parâmetros a serem avaliados, iv) preparação adequada do material ou técnica a aplicar, tendo em conta as particularidades da colheita, v) preparação do utente para a colheita, vi) aplicação correta da técnica de colheita vii) identificação correta das amostras provenientes da colheita, viii) transporte adequado até ao laboratório central tendo em conta as particularidades da amostra e as análises a efetuar, e ix) triagem correta no laboratório central.

O CMLGS recebe amostras biológicas dos seus vários postos de colheita ambulatorios, de domicílios e de outras entidades externas, como por exemplo hospitais e clínicas privadas. As amostras, depois de chegadas ao laboratório central, são rececionadas, triadas e distribuídas pelas várias áreas com o auxílio do *software* Apollo®. Este *software*, através da leitura do código de barras presente na etiqueta do(s) tubo(s) de colheita, permite a fácil consulta de todas as informações essenciais à identificação da amostra, do utente e das análises específicas a realizar, bem como ao procedimento de preparação da amostra para análise.

Para a execução de todas as análises possíveis existem vários tipos de contentores e tubos de colheita, de modo a abranger todas as especificidades que cada um dos parâmetros a determinar exige:

- Tubos de vácuo com gel acelerador de coagulação: Tampa vermelha ou amarela (8,5mL). Amostra recolhida: Sangue total. Amostra processada: Soro. Este tubo é utilizado nas valências de: Bioquímica Clínica, Imunologia, Imunoserologia e Alergologia. O gel no tubo tem como função criar uma separação física e efetiva entre o soro e o coágulo de sangue formado, de modo a evitar o consumo ou produção de analitos pelas células sanguíneas e, assim, alterar o seu teor sérico. Após a colheita de sangue para este tubo, espera-se 10 min para formação do coágulo, sendo os tubos centrifugados a 3500 rotações por minuto (RPM), durante 10min (2).
- Tubos de vácuo com Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA): Tampa roxo-escuro (3,5mL). Amostra recolhida: Sangue total. Amostra processada: Sangue Total para Hematologia e Plasma para Imunohematologia. Este tubo é utilizado nas valências de: Hematologia e Imunohematologia. O EDTA é o anticoagulante de eleição na área da Hematologia por preservar a morfologia das células sanguíneas e impedir a coagulação por quelação do ião de cálcio, fundamental para a cascata de coagulação. Depois da colheita de sangue, deve homogeneizar-se o tubo de modo a proceder à mistura homogénea do sangue com o anticoagulante (2).
- Tubos de vácuo com Citrato de Sódio 3,8%: Tampa azul (3,5mL). Amostra recolhida: Sangue total Amostra processada: Plasma. Este tubo é utilizado na valência de Hematologia, especificamente no estudo da coagulação sanguínea, na proporção de 1 parte de anticoagulante e 9 partes de sangue total. Este é o anticoagulante de eleição, por evitar a formação de coágulos ao combinar-se com o cálcio não ionizado presente no sangue, permitindo, deste modo, a obtenção de plasma apto para os testes da coagulação. Depois da colheita de sangue, deve homogeneizar-se o tubo de modo a proceder à mistura completa do sangue com o anticoagulante e em seguida deve ser centrifugado a 3500 RPM durante 10 min (2).
- Tubos de vácuo com Heparina de Lítio: Tampa verde (3,5mL). Amostra recolhida: Sangue total. Amostra processada: Plasma. Utilizado na valência de Imunologia. Depois da colheita de sangue, deve homogeneizar-se o tubo de modo a proceder à

mistura homogénea do sangue com o anticoagulante; em seguida deve ser centrifugado a 3500 RPM durante 10 min (2).

- tubo Seco: Tampa azul-escuro (5,5mL) Amostra recolhida: Sangue Total. Amostra processada: Soro. Sem anticoagulante. Utilizado na valência de Bioquímica para o estudo de metais pesados. Depois da colheita espera-se 10 min para formação do coágulo e depois o tubo é centrifugado a 3500 RPM durante 10 min (2).
- tubo de Urina tipo II: Amostra recolhida e processada: Urina. Tubo sem aditivos. É utilizado na valência de Bioquímica para análise bioquímica e sedimentar da urina (3).
- Contentor de Urina 24h: Amostra recolhida e processada: Urina. Contentor com tampa de fecho hermético, com capacidade até 2000 mL de modo a poder conter toda a urina excretada pelo utente durante 24h. Poderá conter, ou não, Ácido Clorídrico (HCl) dependendo do analito a detetar. Utilizado nas valências de Bioquímica Clínica e Imunologia (3).
- Contentor Assético de Urina: Amostra recolhida e processada: Urina. Contentor assético com tampa de fecho hermético. Utilizado na valência de Microbiologia (3).
- Contentor Assético de Fezes: Amostra recolhida e processada: Fezes. Contentor assético com tampa de fecho hermético. Utilizado na valência de Microbiologia (3).
- Zaragatoa seca: Amostra recolhida e processada: Exsudatos de origem variada. Zaragatoa com transporte num contentor assético com fecho hermético. Utilizado nas valências de Microbiologia e Genética (3,4).
- Zaragatoa em meio de Stuart: Amostra recolhida e processada: Exsudatos de origem variada, mais comumente de origem do trato vaginal. Zaragatoa com transporte num contentor assético com fecho hermético e em meio de Stuart. Utilizado na valência de Microbiologia (3,4).
- Zaragatoa em meio de Carvão: Amostra recolhida e processada: Exsudatos de origem variada, mais comumente de origem do trato vaginal. Zaragatoa com transporte num contentor assético com fecho hermético e em meio de carvão. Utilizado na valência de Microbiologia (3,4).
- Kit para teste respiratório do *Helicobacter pylori* (*H.pylori*): Amostra recolhida e processada: Ar expirado. O kit é composto por 4 tubos com fecho hermético, uma

palhinha, 1g de ácido cítrico e 75mg de pó de ^{13}C -ureia. Analisado na valência de Potenciometria. Para a utilização deste kit o utente deve estar com um jejum mínimo de 6h e não pode ter lavado os dentes. O utente deve soprar através da palhinha para 2 dos tubos do kit (valor basal), de seguida deve beber o ácido cítrico dissolvido em 200mL de água e, posteriormente, ingerir o pó de ^{13}C -ureia dissolvido em 30mL de água. Espera-se 30 min e volta-se a soprar, através da palhinha para os restantes 2 tubos do kit (valor final). A deteção da bactéria *H.pylori* é realizada através da diferença de ^{13}C -ureia entre o valor basal e o valor final, sendo que o aumento exponencial de ^{13}C -ureia entre os dois valores é sugestivo da presença da bactéria no estômago (5).

- Harmony® Rastreio Pré-Natal: Amostra recolhida: Sangue total. Amostra processada: Células fetais. O kit é composto por dois tubos de EDTA e saco refrigeratório para transporte. Utilizado na Unidade de Diagnóstico Pré-Natal. Este é um teste de rastreio Pré-Natal, não invasivo, por análise de DNA livre fetal em circulação no sangue venoso periférico da mãe a partir das 10 semanas de gestação e desenvolvido pela empresa *Roche*. Este teste permite o despiste das três principais trissomias (21, 18 e 13), o despiste de aneuploidias relacionadas com os cromossomas sexuais (X e Y), identificar o género fetal através da deteção do cromossoma Y e a identificação da Síndrome de microdeleção 22q11.2 (também conhecido pela Síndrome Velocardiofacial), que se manifesta por alterações morfológicas, principalmente a nível craniofaciais, cardíacas e do palato (6).
- Exsudatos citológicos e Biópsias: Amostra recolhida e processada: Origem variada. Colheita realizada por um médico especialista em que a amostra é entregue ao CMLGS e, posteriormente, enviada para a Cedap.

Na triagem, no CMLGS, todos os produtos biológicos, referidos anteriormente, são inspecionados quanto à sua preservação, qualidade e se a colheita foi efetuada para o recipiente correto. Caso as amostras estejam dentro dos critérios referidos serão introduzidas no *software* Apollo® e, assim, darão entrada no laboratório central, sendo, posteriormente, distribuídas pelas várias secções e dando início à fase analítica. Caso alguns dos critérios de qualidade das amostras não sejam cumpridos, o posto responsável pela colheita é informado da necessidade de repetir a colheita. Para além dessa forma de

Controlo de Qualidade (CQ), há ainda auditorias internas e externas nos postos de colheita e no local da triagem. Contudo, outras formas de CQ não são realizadas no CMLGS, como por exemplo, a medição das temperaturas das malas de transporte das amostras à partida do posto e na chegada à triagem.

Na área correspondente à triagem, poderão ser efetuados outros procedimentos, como:

- i) o envio de amostras para laboratórios externos, nomeadamente o *Reference*, em Espanha, para análises específicas que não são realizadas no laboratório do CMLGS, ii) a receção de amostras de outros laboratórios pertencentes ao GGS de outras zonas do país, como Coimbra, Porto e Açores e iii) a eliminação de amostras armazenadas.

O fluxo de trabalho da triagem pode ser observado no anexo 2.

4 Hematologia Clínica

O estágio realizado na valência de Hematologia Clínica (HC) decorreu entre os meses de maio e junho de 2021 cumprindo um total de 185h. No decorrer do estágio tive a oportunidade de efetuar todas as funções pertencentes a esta valência: i) os estudos dos elementos figurados do sangue, nomeadamente a série vermelha, série branca e serie plaquetária, ii) estudos de coagulação, iii) contagem de células sanguíneas em LCR e outros líquidos biológicos e iv) técnicas manuais e automáticas complementares.

Nesta área o volume principal de amostras rececionado corresponde a tubos de sangue total de EDTA e de Citrato de Sódio 3,8%. Quando estes tubos dão entrada na área da HC são repartidos entre os vários equipamentos dependendo dos parâmetros a serem analisados. Os fluxos de trabalho dos tubos de EDTA e de Citrato de Sódio 3,8 % são distintos, pois os anticoagulantes desses tubos, descritos na seção 5 da Fase Pré-Analítica, permitem realizar diferentes análises.

4.1 Tubo de vácuo com EDTA

A amostra colhida em tubo de vácuo com EDTA segue uma sequência que depende dos parâmetros a avaliar. A sequência está descrita na figura 1.

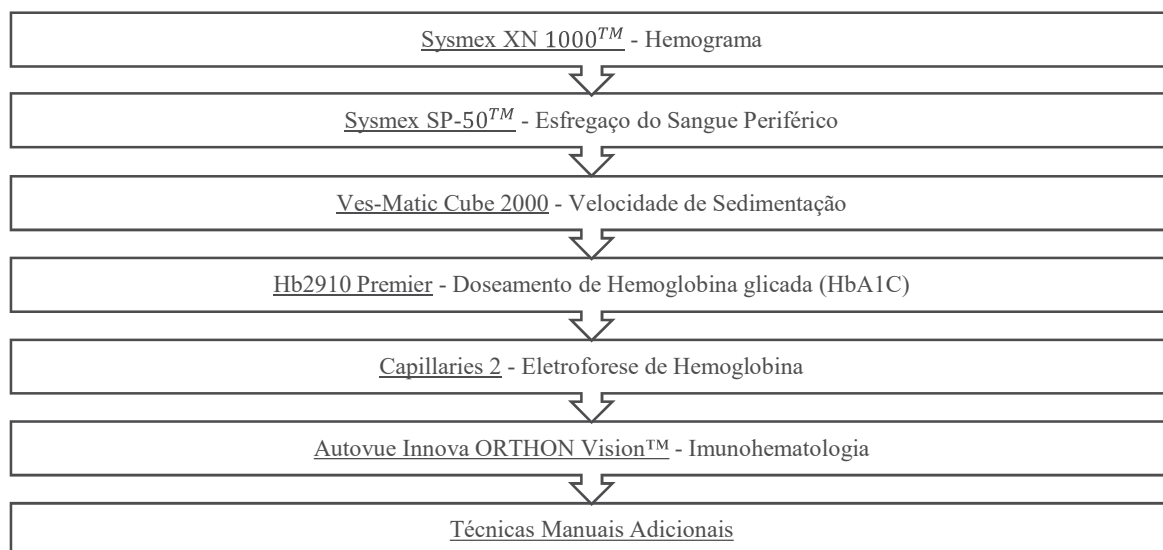


Figura 1 - Fluxo de análises dos tubos de EDTA

Para o estudo das várias células circulantes no sangue periférico são utilizados seis aparelhos automáticos, correspondendo a cinco *Sysmex XN 1000TM* e um aparelho *Sysmex SP-50TM* interligados entre si.

No aparelho *Sysmex XN 1000TM* é detetada a presença de alterações na amostra que possam inviabilizar o resultado, como por exemplo, a presença de coágulos ou má homogeneização da amostra. No caso de ser detetado um coágulo, é pedida uma repetição da colheita, no caso de ser detetada má homogeneização da amostra, esta é homogeneizada manualmente. Este equipamento realiza o estudo dos vários elementos figurados do sangue por citometria de fluxo fluorescente (7). Um método analítico rápido que fornece vários dados sobre as células em análise, podendo categorizá-las por grupos (7). Esta categorização é realizada a partir do estudo individual de cada célula, através da passagem desta por um fluxo unidirecional em meio líquido. Para o estudo da morfologia geral da célula são utilizados três feixes de luz, dois feixes de luz visível e um fluorescente, cada um com a sua função. Um dos feixes de luz visível, o feixe frontal, permite determinar a dimensão da célula pela magnitude da dispersão de luz, sendo que o feixe lateral permite avaliar a complexidade interna da célula (como a granulação), através da reflexão do feixe de luz (8). O feixe de luz fluorescente atinge a célula lateralmente, tendo como objetivo detetar a maturação celular (quantificação do DNA e do RNA), através da medição da fluorescência das histonas (8).

O outro equipamento, o *Sysmex SP-50TM*, é utilizado para a realização, coloração e montagem de lâminas do esfregaço de sangue quando pedido pelo clínico ou quando é detetado algum dos valores apresentados na tabela 1 (9). O aparelho fotografa 10 campos do esfregaço aleatoriamente que são, posteriormente, enviadas ao médico responsável pela valência de Hematologia para serem avaliadas.

Tabela 1 - Valores críticos do hemograma; Adaptado de (9).

Glóbulos Vermelhos			
Parâmetros	Valor Máximo	Valor Mínimo	Unidade de Medida
Hb	> 19,9	<6	g/dL
Hct	>61	<18	%
Glóbulos Brancos			
Parâmetros	Valor Máximo	Valor Mínimo	Unidade de Medida
Nº Leu	>30	<1	$\times 10^9/L$
Nº Neu		<0,5	$\times 10^9/L$
Plaquetas			
Parâmetros	Valor Máximo	Valor Mínimo	Unidade de Medida
Nº Plt	>1000	<25	$\times 10^9/L$

Legenda: Hemoglobina (Hb); Hematócrito (Hct); População de Leucócitos (Nº Leu); População de Neutrófilos (Nº Neu); População Plaquetária (Nº Plt)

Após a realização do hemograma, caso seja pedido na prescrição, é medida a Velocidade de Sedimentação (VS) com o auxílio do aparelho *Ves-Matic Cube 2000*. Para a leitura da VS, primeiro o equipamento homogeneiza e identifica (pelo código de barras) a amostra, medindo depois a altura dos eritrócitos na mesma. Esta medição é realizada por um feixe de luz que atravessa longitudinalmente o tubo sendo detetado por um recetor (10). Após uma hora, a distância percorrida pelos eritrócitos pela sedimentação é medida. A diferença entre as duas leituras será a VS. Caso haja valores iguais ou inferiores a 2 ou valores iguais ou superiores a 70, o resultado é confirmado pela repetição do ensaio utilizando o equipamento *Ves-Matic Cube 30*. Caso a colheita tenha sido feita num tubo pediátrico esta medição é feita de modo manual (11).

Para a quantificação da hemoglobina glicada (HbA1C), é utilizado o aparelho Hb2910 *Premier*, após o percurso nos aparelhos anteriormente referidos estar finalizado. Este equipamento utiliza o princípio da Cromatografia líquida de elevada *performance* por afinidade ao boronato (12). A formação da HbA1C ocorre pela reação espontânea entre a

Hb e a alta concentração de glucose em circulação (12,13). O método utilizado no aparelho Hb2910 baseia-se na diferença entre a HbA1C e os outros tipos de hemoglobinas, sendo esta diferença a ligação da Hb a um derivado de glucose (13). O radical glucídico da HbA1C liga-se ao boronato havendo primeiro a eluição de todas as outras hemoglobinas e só no final a HbA1C, permitindo a sua medição (12). Na validação dos resultados da HbA1C é necessário ter em atenção resultados superiores ou iguais a 7, pois caso não haja história clínica concordante, implica a repetição do procedimento para confirmar o resultado. É, ainda, necessário confirmar casos onde haja uma discrepância superior ou igual a 1 entre o resultado a analisar e o anterior (14).

Para a eletroforese de hemoglobinas é utilizado o aparelho *Capillarys 2 Flex Piercing*, que utiliza o princípio de que as diferentes frações de hemoglobina são separadas através da circulação em capilares de sílica (15). Esta separação acontece devido às diferenças de mobilidade das várias frações de hemoglobina em tampão alcalino. Estando separadas, é possível a identificação das diversas frações de hemoglobina, apresentando-se na tabela 2 as correspondentes a um adulto saudável (15).

Tabela 2 - Frações de eletroforese de hemoglobina; Adaptado de (16)

Frações de hemoglobina	Percentagem (%)	Observações
Hemoglobina A	95-98	Hemoglobina mais comum num adulto saudável (17)
Hemoglobina A2	2-3	Fração de hemoglobina normal em pequenas quantidades (17)
Hemoglobina F	0,8-2	Normalmente em quantidades significativas em fetos e recém-nascidos. Substituída por Hemoglobina A logo a partir do parto. Existe em pequena concentração no adulto (17)

No caso da deteção de uma hemoglobina não identificável a amostra é enviada para o instituto Ricardo Jorge para sua identificação (16). Quando há a deteção de hemoglobina S é realizado o teste de solubilidade para confirmação do resultado (16,18). O teste de solubilidade advém do princípio que em situações de hipoxia os eritrócitos, contendo Hb

S, passam de uma forma bicôncava para uma forma de foice tornando a solução turva, impedindo a visualização através da mesma (18).

Nesta área do laboratório são, também, realizados testes de Imunohematologia como: o Coombs Direto (CD), o Coombs Indireto (CI) e o Grupo Sanguíneo, que inclui a detecção do sistema ABO e o sistema Rh. Através do teste de CD são detetadas, na membrana dos eritrócitos do utente, a presença de autoanticorpos, Imunoglobulina G (IgG) ou o complemento 3 (C3). Um resultado positivo deve ser sempre confirmado com duplo ensaio (19). De seguida, é detetada a presença de Anticorpos (Ac) anti-D, em que no caso do resultado ser positivo, a amostra é enviada para o Instituto Português do Sangue e Transplante (IPST) para deteção da variante (19).

O teste de CI é utilizado para detetar a presença de IgG anti-eritrocitárias em circulação. Quando o resultado é positivo é confirmado por duplo ensaio e são estudados os tipos de eritrócitos aos quais o utente reage imunologicamente. Este estudo é conduzido através da observação de reação do soro do utente com o sistema ABO e com o sistema Rh (19). No caso de o utente possuir o Ac anti-D é necessário fazer uma titulação seriada. Se o utente tiver qualquer outro tipo de Ac a amostra é enviada para o IPST (19). O equipamento utilizado na avaliação destes parâmetros é o *Autovue Innova ORTHON Vision™*. O sistema utiliza o método de aglutinação com microesferas de vidro numa coluna. Após a adição dos eritrócitos, ou do soro, do utente à coluna esta é centrifugada. Caso haja aglutinação dos eritrócitos (formação de uma banda no topo do tubo) considera-se um resultado positivo (20). A ausência de aglutinação dos eritrócitos (eritrócitos depositados no fundo da coluna) é considerada resultado negativo (20).

Para além de todos os parâmetros determinados através dos equipamentos acima enumerados, a valência de hematologia ainda realiza metodologias manuais adicionais quando são pedidas pelo médico prescriptor:

- Teste de osmolaridade globular: realizado quando o médico suspeita de comprometimento da membrana do eritrócito tanto por esferocitose hereditária ou por outra patologia. O controlo do método é realizado por comparação do resultado das células do utente com células sem comprometimento da parede globular (21,22).

- Titulação de Crioglobulinas: teste de diluição seriada do soro do utente para detetar a presença de Ig insolúveis a baixas temperaturas. O controlo da técnica é realizado com um controlo negativo (21,23).
- Fenómeno LE (Lúpus Eritematoso) ou Pesquisa de células LE: é realizado na suspeita da doença autoimune “Lúpus Eritematoso Sistémico”. O teste de células LE é um teste de aglutinação em que partículas de látex com Antígenos (Ag) antinucleares são misturadas com o soro do utente. A formação de aglutinação é indicativa de que o utente possui Ac antinucleares. Esta técnica é realizada com um controlo negativo e positivo para comparação visual (21,24).

Todo o fluxo de trabalho a que os tubos de vácuo de EDTA estão sujeitos encontra-se esquematizado no Anexo 3.

4.2 Tubo de vácuo com Citrato de Sódio 3,8%

Para o estudo da coagulação são utilizados dois aparelhos, o *Siemens CS-5100* para o estudo de coagulação de rotina e o *Siemens CS-2100i* para coagulação especial. Os parâmetros analisados em cada tipo de coagulação são detalhados abaixo. Em ambos os aparelhos são utilizados três tipos de métodos: cromogénicos, de imunoensaio e de aglutinação. Todos estes métodos são detetados por fotometria, sendo importante a avaliação da amostra no que se refere a hemólise, lipemia e icterícia antes da realização do(s) ensaio(s) (25,26).

No *Siemens CS-5100* são analisados os seguintes parâmetros (para o estudo de coagulação de rotina): Tempo de Protrombina (TP), Tempo de Tromboplastina Parcialmente Ativado (TTPa), Anticoagulante Lúpico (AL); Antitrombina III (AT-III); Proteína C (PC) e Fibrinogénio ou Factor I. A validação de resultados obtidos por este equipamento é realizada pelo técnico responsável pelo aparelho no dia em questão, sendo necessária a confirmação do resultado por duplo ensaio sempre que os resultados obtidos se encontrem num dos intervalos de valores descritos na tabela 3 (27):

Tabela 3 - Valores para avaliação da Hemóstase; Adaptado de (27)

TP	>4 (>5 é preciso avisar o utente)
TTPa	<20 ou >34
AL	>43
AT-III	<70%
PC	<70%
Factor I	<180

Legenda: Tempo de Protrombina (TP), Tempo de Tromboplastina Parcialmente Ativado (TTPa), Anticoagulante Lúpico (AL); Antitrombina III (AT-III); Proteína C (PC) e Factor I.

O aparelho *Siemens CS-2100i* é utilizado semanalmente (à segunda-feira) e a conservação das amostras ocorre por congelação a -20°C do plasma com citrato. Posteriormente, e para que a amostra possa ser utilizada, o plasma é descongelado e aquecido até à temperatura de 37°C , sendo depois centrifugado antes de ser colocado no aparelho. O *Siemens CS-2100i* é utilizado para a análise dos seguintes parâmetros (no estudo de coagulação especial): Proteína S; Fator V; Fator VIII e Resistência do Fator V à Proteína C. A validação dos resultados é realizada pelos Farmacêuticos com Especialidade em Análises Clínicas responsáveis pela área da hematologia.

5 Microbiologia Clínica

O estágio na área de Microbiologia Clínica decorreu entre os meses de junho e julho perfazendo um total de 228h. A Microbiologia estuda os microrganismos unicelulares, multicelulares e acelulares e envolve várias subdisciplinas como a virologia, parasitologia, bacteriologia e micologia. Neste estágio só serão descritas as últimas três subdisciplinas e as suas implicações a nível clínico. O laboratório de microbiologia tem como atividades principais a identificação de bactérias, fungos e parasitas através de, entre outros métodos, identificação das características das colónias através da utilização de meios seletivos e/ou cromogénicos, isolamento de colónias e antibiogramas. Nesta área do laboratório recebem-se várias tipologias de amostras como urina, fezes e exsudatos vaginais. Na sua maioria os meios de cultura, caldos de enriquecimento, consumíveis de aparelhos e kits utilizados nesta valência do laboratório são da casa comercial *BioMérieux*. Apesar do laboratório proceder à análise de outros produtos biológicos, só serão apresentados os procedimentos daqueles que foram observados e realizados no local de estágio. O resumo de todos os meios, caldos de crescimento e lâminas realizadas para cada tipo de amostra biológica está esquematizado no Anexo 4.

5.1 Urinas

Este é o produto biológico recebido em maior número na área da Microbiologia Clínica, sendo a categoria de amostra mais rececionada a urina assética para deteção de infeção do trato urinário e identificação do respetivo agente patogénico. A urina assética é primeiramente triada e de seguida encaminhada para a área de Microbiologia Clínica, onde é semeada num meio sólido, o *ChromID™ CPS® Elite* (CPSE®)(28). Este meio de cultura é um meio sólido, seletivo para bactérias Gram negativo e de diferencial cromogénico (29). Este é o meio de eleição para esta amostra porque permite a identificação direta do principal agente patogénico de uma infeção urinária, a *Escherichia coli* (*E. coli*) (30). Depois do meio CPSE® estar semeado com a amostra de urina, este é colocado na estufa a 37°C durante 24 horas. Esta incubação possibilita o crescimento de colónias potencialmente patogénicas. Após a incubação, os meios de CPSE® são avaliados visualmente para dois indicativos de infeção urinária: i) o crescimento de

unidades formadoras de colónias (UFC) de bactérias potencialmente patogénicas; e ii) a presença de uma quantidade significativa (superior ou igual a 10 UFC) de uma espécie de bactéria específica (28).

Caso seja observada uma colónia de *E. coli*, esta é caracterizada como o agente patogénico sendo realizado o antibiograma. Uma colónia de *E. coli* no meio CPSE® tem características muito específicas que facilitam a identificação deste patogénico: colónias roxas, pequenas, mucoides e com bordos bem delimitados (28,29).

Caso seja identificada uma UFC com características patogénicas, ou uma bactéria com mais de 10 UFC, é realizada a identificação da bactéria e depois um antibiograma (28). Duas bactérias regularmente observadas em casos de infeções urinárias são a *Klebsiella spp.* e a *Pseudomonas spp.*, (tratam-se dos dois patogénicos mais comuns em infeções urinárias a seguir à *E.coli* (30)). Outras bactérias observadas com regularidade no laboratório são a *Morganella morganii* e *Providencia spp.*, que estão, normalmente, associadas a utentes internados.

Em todas as amostras com infeção por *E. coli* o antibiograma é realizado no equipamento *MicroScan WalkAway plus System*. Neste aparelho é realizado o teste de contração inibitória mínima, de forma a saber quais são os antibióticos a que a *E. coli* é mais suscetível. Este teste deteta a concentração mínima de um antibiótico que é necessária para inibir o crescimento bacteriano (31).

No caso de infeções urinárias cuja etiologia não é a *E. coli*, apesar da possibilidade da identificação presuntiva pelo meio de CPSE®, é necessário confirmar a identidade da bactéria e fazer o antibiograma. Esta confirmação e antibiograma são feitos através do aparelho *Vitek® MS*, que utiliza a metodologia de espectrometria de massa associada a tecnologia de Ionização e Absorção Assistida por Matriz (32). Neste aparelho é introduzida uma colónia pura da bactéria suspeita numa placa metálica. A amostra é incidida por impulsos de laser de modo a ser ionizada. A amostra ionizada liberta várias proteínas, presentes na bactéria potencialmente patogénica, que são analisadas por espectrometria de massa (32,33). A análise das proteínas presentes permite a identificação da bactéria (33). O antibiograma realizado no mesmo aparelho utiliza o mesmo princípio descrito acima para identificar as proteínas de resistência a antibióticos que as bactérias possuem (33).

Numa amostra de urina também pode ser pesquisada a presença de micoplasmas urogenitais o *Ureaplasma spp.* e o *Mycoplasma hominis*. Para a análise destes agentes patogénicos é utilizado o kit *Mycoplasma IST2*, que utiliza o método enzimático colorimétrico para identificação, contagem presuntiva e determinação de suscetibilidade a 9 antibióticos (34). Para aplicação do *Mycoplasma IST2* é utilizado o sedimento urinário obtido por centrifugação. De seguida, o sedimento urinário é misturado com um caldo seletivo fornecido com este kit. Essa mistura é distribuída pela galeria do kit sendo sujeita a várias reações enzimáticas. O *Mycoplasma IST2* é também utilizado para outras amostras biológicas como exsudatos vaginais, uretrais e esperma (34).

5.2 Fezes

No estudo das fezes podem ser analisados vários parâmetros diferentes consoante o pedido do médico prescritor. Este produto biológico é o segundo mais recebido no laboratório de microbiologia e a análise mais realizada é a pesquisa de sangue oculto nas fezes. Para além deste parâmetro são também realizadas pesquisas de parasitas, de *H.pylori*, e de *Campylobacter spp.* Finalmente, são ainda realizadas coproculturas.

A pesquisa de sangue oculto nas fezes é realizada com o intuito de detetar precocemente o cancro colorretal, pois este tende a criar lesões nas mucosas, libertando sangue (35). Com este objetivo é utilizado um teste rápido imunocromatográfico que deteta a hemoglobina humana. Este procedimento implica a ligação da hemoglobina humana a Ac de hemoglobina humana fixados numa membrana (36). Para realizar a pesquisa de sangue oculto nas fezes é utilizado o kit *NADAL® FOB Test* que possui um controlo interno de modo a indicar se o volume da amostra aplicado foi correto e se ocorreu a sua absorção na membrana (36). Todos os resultados são analisados visualmente e têm de ser colocados manualmente no *software Apollo®*.

Relativamente à pesquisa de parasitas, é utilizado o kit de Concentração de Ovos/Parasitas Fecais da casa comercial *Epitope Diagnostics*. Este kit é utilizado como forma de concentrar, por sedimentação, os ovos e parasitas nas suas várias formas. Essa concentração da amostra serve para aumentar a probabilidade de detetar parasitas na amostra sem alterar a morfologia dos mesmos. Este kit permite a sedimentação desejada e, ao mesmo tempo, retirar grande parte dos materiais orgânicos fecais por filtração, para

ser mais fácil a visualização dos parasitas em lâmina (37). A visualização e a identificação dos ovos, quistos, trofozoítos ou larvas é feita pelos médicos responsáveis pela secção, através da observação ao microscópio ótico de preparações entre lâmina e lamela. É adicionada uma solução de lugol à preparação de modo a evidenciar as estruturas dos parasitas nas suas diversas formas (38).

Para a pesquisa de *H.pylori* é utilizado um teste imunocromatográfico rápido com controlo interno para a quantidade de amostra colocada, para avaliar a extensão da amostra ao longo da tira e para o controlo do reagente (39). Neste kit o Ac de *H.pylori* é detetado na seção final da membrana tampão que contém o conjugado de ouro coloidal. A amostra de fezes é dissolvida num líquido fornecido pela casa comercial. Caso esteja presente Ag de *H.pylori* na amostra, esta liga-se ao Ac monoclonal de *H.pylori* e ao ouro coloidal, criando um complexo Ac-Ag que, fixando-se numa zona específica, forma uma linha visível (39).

A coprocultura é realizada no caso de uma suspeita, pelo médico prescriptor, de infeção a nível gastrointestinal (normalmente, *Salmonella spp.* ou *Shigela spp.*). Neste procedimento a amostra é diluída em soro fisiológico estéril e semeada, simultaneamente, em dois meios e num caldo de enriquecimento. Um destes meios é o meio sólido *MacConkey* (McK), um meio seletivo diferencial cromogénico para isolamento de bactérias Gram negativas (40). O outro é o meio sólido *Hektoen* (Hek), que corresponde a um meio seletivo diferencial para isolamento de *Salmonella spp.* ou de *Shigela spp.* (41). O caldo é o caldo *Selenito-F* (caldo de enriquecimento para facilitar o crescimento de *Salmonella spp.*(42)). No caso de uma amostra diarreica, para além das sementeiras descritas em cima, a amostra é, também, semeada em meio sólido CASA™ (meio seletivo diferencial cromogénico para deteção de *Campylobacter spp.* (43)) e é realizado um teste rápido com o kit *RIDA®QUICK Campylobacter* (44). O kit *RIDA®QUICK Campylobacter* é um teste imunocromatográfico que deteta a presença de *Campylobacter spp.*, ao ligar-se com os Ac. de *Campylobacter spp.*, fixados na membrana. O kit possui um controlo interno para indicar se o volume da amostra aplicado foi correto e se ocorreu a absorção da amostra na membrana (45).

Todos os meios semeados e o caldo de enriquecimento utilizados na coprocultura são colocados na estufa a 37°C durante 24h. Posteriormente, os meios sólidos são avaliados quanto à presença de UFC potencialmente patogénicas, enquanto o caldo *Selenito-F* é semeado num meio sólido Hek e colocado na estufa a 37°C durante 24h. A incubação da

amostra de fezes no caldo de enriquecimento antes de ser semeada no meio de Hek tem o objetivo de aumentar a probabilidade de detecção da presença de *Salmonella spp.*. Todos os meios, após a incubação, são avaliados visualmente para a identificação de potenciais UFC patogênicas. Todas as UFC suspeitas são identificadas e sujeitas a antibiograma no aparelho *Vitek® MS* (32,44).

5.3 Exsudatos

5.3.1 Vaginal

Num exsudato vaginal, normalmente, é pesquisada a presença de bactérias ou fungos potencialmente patogênicos. Um exemplo comum é a pesquisa de *Streptococcus* do Grupo B (também conhecido por *Streptococcus agalactiae*) em grávidas perto da data de parto, para evitar a infecção no recém-nascido (46). Na área da Microbiologia Clínica do CMLGS são processados três tipos de exsudatos vaginais: o geral, os de pesquisa específica para *Streptococcus* do Grupo B e os de pesquisa específica para *Neisseria spp.* e *Haemophilus influenzae*.

Um exsudato vaginal geral é processado através da sua cultura em dois meios sólidos e de um esfregaço para a coloração de Gram (47). O esfregaço é, posteriormente, avaliado pelos médicos especialistas da valência. Um dos dois meios sólidos utilizados para a sementeira é o meio Gelose de Columbia com 5% sangue de carneiro (COS), um meio não diferencial para a detecção de microrganismos potencialmente patogênicos (48), como por exemplo a *Prevotella spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.* ou *Mycoplasma hominis*. O outro meio sólido utilizado é o *Sabouraud* Gentamicina Cloranfenicol (Sab) (49), que corresponde a um meio seletivo para crescimento de leveduras, como a *Candida spp.* Todas as UFC potencialmente patogênicas são colocadas no equipamento *Vitek® MS* para identificação e realização do antibiograma (32,47).

O exsudato vaginal para pesquisa específica de *Streptococcus* do Grupo B é realizado juntamente com um exsudato anal. De modo a aumentar a probabilidade de detectar a presença de *Streptococcus* do Grupo B ambas as zaragatoas são colocadas no caldo de crescimento Todd Hewitt durante 24h a 37°C (47). Este caldo permite o crescimento seletivo do *Streptococcus* do Grupo B através da utilização de antibióticos (50). De seguida, é retirada uma amostra do caldo de crescimento para ser semeado no meio de Granada (um meio diferencial cromogénico seletivo para Gram positivo (51)) que permite

a identificação direta das colónias de *Streptococcus* do Grupo B, que se apresentam de cor laranja (51). O antibiograma é realizado no *Vitek® MS*.

Para a pesquisa específica de *Neisseria spp* e *Haemophilus influenzae* no exsudato vaginal é preparada uma lâmina sujeita a coloração de Gram para posterior avaliação do médico especialista do laboratório (47). O produto biológico é, ainda, semeado no meio seletivo de Chocolate *PolyViteX* VCAT3 (VCA) específico para o crescimento de *Neisseria gonorrhoeae* e *Neisseria meningitidis* (52) e no meio de Chocolate *PolyViteX* (PVX), específico para crescimento de *Neisseria gonorrhoeae* e *Haemophilus influenzae* (53). Ambos os meios são deixados incubar durante 24h a 37°C, sendo que a incubação do meio PVX ocorre em microfilia, ou seja, com pouco oxigénio. A identificação e antibiograma das UFC potencialmente patogénicas são ambas realizadas no aparelho *Vitek® MS* (32).

Neste produto biológico também pode ser detetada a presença dos micoplasmas *Ureaplasma spp.* e *Mycoplasma hominis* com o kit *Mycoplasma IST2* descrito na seção das urinas (34).

5.3.2 Uretral

No caso de uma infeção no trato uretral com suspeita de origem bacteriana são preparadas duas lâminas, uma para ser observada a fresco e a outra com coloração de Gram e são semeados em dois meios, o PVX e o VCA (54). Tal como no exsudato vaginal, a identificação e o antibiograma das UFC potencialmente patogénicas são ambos realizados no aparelho *Vitek® MS* (32).

Neste produto biológico também pode ser detetada a presença dos micoplasmas *Ureaplasma spp.* e *Mycoplasma hominis* através do kit *Mycoplasma IST2* descrito na seção das urinas (34).

5.3.3 Faríngeo

Um exsudado faríngeo pode ser realizado para dois objetivos diferentes: a deteção da presença do *Streptococcus* do Grupo A e a deteção de infeção por bactérias Gram positivo.

A deteção da presença do *Streptococcus* do Grupo A é feita através do Teste rápido de imunoensaio *BIOSYNEX® Strep A* (55), que deteta a presença de Ag do *Streptococcus*

do Grupo A (também conhecido por *Streptococcus pyogenes*). Este teste é utilizado, principalmente, no caso de crianças com faringites com suspeita de infecção por *Streptococcus pyogenes* (o principal agente patógeno bacteriano em crianças (56)) de modo a iniciar-se, o mais rapidamente possível, o tratamento com antibióticos. Neste procedimento é detetada a presença do Ag do *Streptococcus pyogenes* na amostra pela ligação do Ag ao Ac monoclonal fixado à membrana de migração (57). Este teste contém um controlo interno que indica se o volume de amostra colocado foi o correto, se houve uma difusão de amostra de forma uniforme na membrana de fixação e se a técnica foi realizada corretamente (57).

Numa amostra de um exsudado faríngeo geral é detetada a presença de infecção por bactérias Gram positivo. A pesquisa de infecção é realizada através de cultura em meio sólido de Columbia com 5% de sangue de carneiro (CNA) (55). Este meio é um meio seletivo para Gram positivos (através da utilização dos antibióticos Colistina e Ácido Nalidixico) (58). A incubação ocorre durante 24h a 37°C em ambiente de microfilia. O agente patogénico principal de uma faringite é o *Streptococcus* do Grupo A (59). Num exsudado faríngeo geral é necessário ter em atenção as duas características do patogénico principal (59): i) verificação das características da família *Streptococcus spp.* na UFC e ii) existência de hemólise nessas UFC.

A confirmação do agente patogénico e o antibiograma são realizados no equipamento *Vitek® MS* (32).

5.3.4 Feridas

A colheita de exsudato de ferida é requerida, normalmente, quando há indícios de infecção em feridas. O agente patogénico mais comum é o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), seguido por outras bactérias da família do *Staphylococcus spp.* ou do *Streptococcus spp.*. Todas estas bactérias são Gram positivas, pelo que este tipo de amostra é semeada em CNA e Mck, ocorrendo a sua incubação a 37°C durante 24h (60). Posteriormente, os meios são analisados visualmente, sendo a confirmação do agente patogénico e o antibiograma realizados no *Vitek® MS* (32).

5.4 Outras amostras

5.4.1 Cateter

No caso do estudo bacteriológico de um cateter, o utente está normalmente num estado debilitado. Para análise do cateter, este é esfregado num meio de COS, que fomenta o crescimento de qualquer bactéria potencialmente patogénica (61). Caso haja crescimento de mais do que cinco UFC da mesma espécie, esta é considerada patogénica e é reportada (62). A identificação do agente patogénico e o antibiograma são realizados no *Vitek® MS* (32).

5.4.2 Líquidos Nobres e Produtos estéreis anaeróbios

Estes produtos correspondem a todas as amostras que se apresentam estéreis numa situação fisiológica normal. Devido à localização anatómica destas amostras, não se esperaria a identificação de qualquer agente patogénico aeróbico, pelo que qualquer agente patogénico identificado será indicativo de uma infeção por uma bactéria anaeróbica. À luz disto, diversos tipos de meios são semeados com estas amostras e deixados a incubar num ambiente de microfilia. Vale a pena notar, no entanto, que existem situações excecionais, descritas abaixo, em que estes meios são deixados a incubar num ambiente aeróbico.

Em qualquer meio de crescimento para estas amostras é, apenas, necessário o desenvolvimento de uma UFC para que esta seja considerada patogénica. A identificação do agente patogénico e o antibiograma são realizados no *Vitek® MS* (32). Todas as lâminas preparadas com estes produtos biológicos são analisadas pelos médicos da secção.

Relativamente ao pus, líquido pleural e LCR, são colocados num caldo de crescimento de infusão de cérebro e coração (BHI – *Brain Heart Infusion Broth*) durante 24h para potenciar o crescimento de possíveis agentes patogénicos antes de serem semeados.

- **Pus:** semeado em Mck, PVX e CNA. A incubação dos meios de PVX e de CNA é realizada num ambiente de microfilia. São preparadas duas lâminas, uma para coloração de Gram e outra para coloração de ZN (63).

- **Líquido Pleural:** semeado em Mck, PVX e COS. Os meios de PVX e de COS são incubados num ambiente de microfilia. São realizadas duas lâminas, uma para coloração de Gram e outra para coloração de ZN (64).
- **LCR:** semeado em PVX e COS, sendo estes meios incubados num ambiente de microfilia. São realizadas duas lâminas, uma para coloração de Gram e outra para coloração de ZN (65).
- **Hemocultura:** semeado em COS, sendo preparada uma lâmina para ser observada com coloração Gram (66).
- **Biopsia:** semeado em COS, sendo preparadas duas lâminas, uma para ser observada a fresco e outra para fazer coloração de Gram (67).
- **Esperma:** semeado em PVX. São preparadas duas lâminas, uma para ser observada com coloração de Gram e outra para ser observada com coloração de ZN (68). Outras análises realizadas numa amostra de esperma, na área da Microbiologia, incluem a deteção da presença de micoplasmas, como o *Ureaplasma spp.* ou o *Mycoplasma hominis.*, sendo para isto utilizado o kit *Mycoplasma IST2* descrito na secção das Urinas. Numa amostra de esperma pode também ser realizado o espermograma, que permite avaliar o pH, morfologia, mobilidade e concentração, bem como a viabilidade dos espermatozoides. O equipamento utilizado é o *LensHooke™ CS0 Semen Test Cassete*, sendo os resultados confirmados, pelos médicos da secção, através da observação da lâmina em microscópio ótico.

6 Controlo de Qualidade Laboratorial

O controlo de qualidade de um laboratório pode ser definido como a precisão, confiabilidade e reprodutibilidade dos resultados obtidos em cada parâmetro avaliado (69). O controlo de qualidade (CQ) de um laboratório pode ser dividido em Controlo de Qualidade Interno (CQI) e Controlo de Qualidade Externo (CQE). Para tal são seguidas as normas ISO que fornecem orientação, coordenação, simplificação e unificação de critérios para empresas e organizações. No CMLGS é utilizado o NP EN ISO 9001, que tem definido normas de gestão de qualidade, logo este laboratório é certificado.

O CQI está inserido a rotina laboratorial de modo a garantir a consistência, reprodutibilidade e fiabilidades dos resultados ao longo do tempo (70). O CQI avalia a precisão de técnicas manuais tanto como automatizadas. Para tal são utilizados calibradores (solução de concentração conhecida do analito a analisar) fornecidos, normalmente, pela casa comercial e por controlos (amostra com um analito e quantidade conhecida) fornecido pela casa comercial ou interna do laboratório.

O CQE permite avaliar objetivamente o desempenho de um laboratório através da participação em programas de CQ por uma entidade externa (71). A participação em programas de CQE permite: comparar a *performance* e resultados de vários laboratórios; sinalizar problemas sistemáticos associados aos kits ou aos métodos, evidenciar objetivamente a qualidade das análises e indicar áreas que seja necessário melhorar (69,71). O CQE que observei no CMLGS foi realizado através de auditorias ao laboratório por parte de entidades externas e através da avaliação da *performance* das análises do laboratório de amostras providenciadas pelo INSA.

Resultados incorretos do laboratório podem ter consequências para o utente como (69): i) tratamentos não necessários, ii) complicações em tratamentos, iii) não administração do tratamento correto para a condição do utente, iv) atrasar a descoberta do diagnóstico correto e v) realização de análises ou de exames adicionais desnecessários.

Com o objetivo de atingir o nível mais alto de precisão e exatidão nos resultados libertados pelo laboratório são aplicados vários tipos de controlos e calibrações às várias técnicas e aparelhos utilizados (69).

Quanto ao CQ observado na fase Pré-Analítica este só observou auditorias internas tanto no posto de colheitas como na triagem, sendo estas com intervalos irregulares.

Quanto ao transporte de amostras não foi observado nenhum controlo de qualidade nem foi dado a saber nenhum procedimento utilizado durante o decorrer do estágio.

6.1 Hematologia

Nesta área o CQE foi realizado pela análise de amostras provenientes de uma entidade exterior, contudo, não tive a oportunidade de o observar durante o período do estágio.

A manutenção diária na área de Hematologia começa pelos cinco aparelhos *Sysmex XN 1000TM* e pelo aparelho *Sysmex SP-50TM*. A manutenção é realizada de manhã e começa sempre com a lavagem das agulhas e tubos do equipamento com um produto comprado à casa comercial.

Depois da lavagem para manutenção do equipamento *Sysmex XN 1000TM* são introduzidos, para CQI, dois calibradores e, de seguida, dois controlos, ambos da casa comercial do equipamento. Ambos incluem os parâmetros de um hemograma, estando os valores de um deles dentro do intervalo de referência indicados pela casa comercial e o outro fora. De modo a perceber se os resultados dos calibradores e controlos estão dentro dos valores espectáveis, estes são analisados, por um técnico, num gráfico de Levey-Jennings, seguindo as regras de controlo de qualidade de Westgard (72). De forma semelhante, após a lavagem para manutenção do aparelho *Sysmex SP-50TM* é colocada no equipamento, para CQI, uma amostra aleatória com mais de $7 \times 10^9/L$ de leucócitos e sobre a qual o aparelho efetua um esfregaço sanguíneo periférico permitindo a identificação e diferenciação de 100 leucócitos. Os leucócitos identificados e diferenciados pelo aparelho são confirmados visualmente pelo técnico em fotografias que o aparelho captou da lâmina. Este controlo permite verificar se o equipamento consegue realizar uma correta identificação e diferenciação dos leucócitos.

Para CQI dos equipamentos *Ves-Matic Cube 2000* e *Ves-Matic Cube 30*, usados na determinação da velocidade de sedimentação, são utilizados dois controlos fornecidos pela casa comercial. Um destes controlos apresenta valores dentro dos VR para a velocidade de sedimentação (entre 2 e 70, exclusive) e o outro valor fora dos VR (inferior ou igual a 2, ou superior ou igual a 70). Os resultados dos controlos são depois confirmados através da sua comparação com o intervalo de resultados espectável fornecidos pela casa comercial.

No Hb2910 *Premier*, que determina o teor de HbA1C, o controlo de qualidade é feito três vezes por dia, de manhã, no início e no final da tarde. Neste equipamento utilizam-se dois calibradores e dois controlos fornecidos pela casa comercial. Um dos controlos tem um valor inferior a 6,5% para HbA1C e o outro controlo um valor superior a 6,5%. A avaliação dos resultados é realizada pelo técnico utilizando como referência o valor espectável como respetivo desvio padrão fornecidos pela casa comercial.

No aparelho de eletroforese de hemoglobinas, *Capillarys 2 Flex Piercing*, o CQI é realizado de manhã utilizando uma amostra cujos parâmetros se encontram dentro dos VR da eletroforese de hemoglobinas (Hb A: 95-98%; Hb A2: 2-3% e Hb F: 0,8-2%)(17). Nesta amostra é detetada e quantificada a hemoglobina A, a hemoglobina A2 e a hemoglobina fetal. O controlo de resultados desta amostra é realizado pelo técnico responsável pelo equipamento no dia segundo o valor espectável com o respetivo desvio padrão fornecidos pela casa comercial e com um gráfico de Levey-Jennings, seguindo as regras de controlo de qualidade de Westgard (72).

No equipamento *ORTHON Vision*TM não se realiza nenhum controlo de qualidade relativo aos métodos, fazendo-se, apenas, controlo dos volumes pipetados pelo aparelho. Por não ser realizado controlo de qualidade dos métodos utilizados, é necessário enviar todos os resultados positivos ou ambíguos para o IPST para confirmação de resultados.

O CQI dos aparelhos *Siemens CS-2100i* e *Siemens CS-5100* apenas é realizado nos dias em que os equipamentos são utilizados. Com esse objetivo, utilizam-se dois calibradores e dois controlos da casa comercial, em que os vários parâmetros de um deles se encontram dentro dos VR e os do outro controlo estão fora dos VR. Os resultados são validados tendo em conta o valor expectável e o desvio padrão fornecidos pela casa comercial. A exceção ao método de controlo descrito anteriormente é o parâmetro INR. Esta determinação é realizada no aparelho *CS-5100*, e a calibração efetua-se com a utilização de 6 amostras com valores de INR diferentes. Esses 6 pontos são utilizados para criar uma curva de calibração que relaciona os valores de INR com o tempo (medido em segundos) de formação de coágulo.

6.2 Microbiologia Clínica

Para proceder ao CQI desta secção utiliza-se uma amostra cuja natureza e agente etiológico é previamente conhecido. Esta amostra será analisada em todos os aparelhos e meios relevantes. Esta análise exaustiva tem como objetivo aferir se a identificação e o antibiograma do microrganismo da amostra ocorreram de forma correta. O CQI é realizado a cada duas semanas. São utilizadas sempre três estirpes conhecidas, normalmente, uma de *Klebsiella aerogenes*; uma de *Candida glabrata* e uma de *Escherichia coli*.

Para o CQI do equipamento *Vitek® 2* são utilizadas bactérias que crescem em condições de aerobiose. Neste aparelho a bactéria é identificada e é realizado um antibiograma. Os resultados, para serem validados, têm de ser concordantes com o esperado. No caso de surgir um resultado indesejado, é realizada uma investigação para perceber a causa de erro. No CQI do *Vitek® MS* é colocada a amostra conhecida para identificação e realização de um antibiograma. Caso os resultados estejam dentro do esperado a técnica é validada, no entanto, caso surjam resultados inesperados, é necessário investigar a causa de erro.

Para o CQI do *MicroScan WalkAway plus System* é sempre colocado, juntamente com a amostra conhecida, um controlo negativo, ou seja, uma amostra que contém, a solução de reação, mas nenhuma estirpe. Este controlo negativo é para certificar que não há contaminação cruzada que inviabilize os resultados. Os resultados de ambos os controlos são avaliados consoante o que é expectável, caso surja resultados indesejados, tanto na amostra conhecida como no controlo negativo, é necessário investigar a causa de erro.

No que se refere ao CQE, é recebida uma amostra que contém vários microrganismos desconhecidos (pelo laboratório) e enviada pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Durante a realização do CQE só é dado a conhecer ao laboratório a natureza da amostra, (por exemplo, se é uma amostra de sangue, se é um exsudato, ou se é outro fluido biológico). Esta amostra deve ser semeada em todos os meios possíveis e colocada em todos os equipamentos possíveis. Todos os resultados de todos os meios e equipamentos devem ser concordantes e fornecer a identificação do agente patológico juntamente com o antibiograma. Finalizado o estudo da estirpe da amostra fornecida, os resultados são enviados ao Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge para serem avaliados. Na área de Microbiologia o CQE é realizado a cada 3 meses.

7 Conclusão

O estágio como parte integrante do MAC permitiu-me consolidar os conhecimentos teóricos, aplicá-los num contexto real de trabalho e desenvolver destreza prática e capacidades nas técnicas aplicadas.

Estagiar no laboratório do CMLGS permitiu manipular uma grande variedade de amostras e de metodologias das várias áreas por onde passei e revelou-se uma experiência muito enriquecedora. Este estágio deu-me uma noção real da rotina de cada área analítica num laboratório de grandes dimensões, bem como das várias dificuldades que lhe são inerentes. Toda a equipa técnica, em todas as áreas de estágio, foi excelente, estando sempre disposta a ajudar e a esclarecer as dúvidas que iam surgindo. A boa receptividade por parte das várias equipas permitiu-me o manuseamento diário de diferentes tipos de amostras, equipamentos e a realização de inúmeras metodologias.

O que mais apreciei na minha experiência foi a oportunidade de desenvolver as minhas competências técnicas na área laboratorial, tendo ganhado autonomia para analisar os resultados de amostras e fazer a validação dos mesmos. Também achei enriquecedora a possibilidade de ultrapassar os obstáculos diários inerentes à obtenção do resultado correto, sempre com a supervisão e ajuda de toda a equipa de cada área. Infelizmente, devido à situação de pandemia, as interações interpessoais no laboratório não foram o que esperava. Outro ponto menos positivo é que, devido à falta de organização do cronograma do estágio, não tive possibilidade de passar por todas as áreas que gostaria de ter passado, nomeadamente a área de Patologia Molecular.

Em suma, considero que este estágio foi uma ótima experiência que, apesar das dificuldades devido ao estado de pandemia, foi muito gratificante, desafiante e enriquecedora.

Parte B - Alterações Cardiovasculares associadas ao SARS-CoV-2

1. Introdução

Nesta revisão de literatura proponho-me a descrever e tentar compreender potenciais consequências cardiovasculares associadas a uma infeção pelo coronavírus de Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus 2 (SARS-CoV-2). Esta escolha é principalmente motivada pela conjugação da atualidade do tema com o aparecimento de observações na literatura sobre uma possível relação entre a infeção por SARS-CoV-2 e alterações do Sistema Cardiovascular (SCV).

Nesta introdução começarei por descrever brevemente o SARS-CoV-2 e, de seguida, a possível relação entre a infeção por SARS-CoV-2 e alterações do SCV. Termino com uma breve descrição da forma como este trabalho foi estruturado.

1.1 Origem e Descrição do SARS-CoV-2

Segundo o que está descrito na literatura, o SARS-CoV-2, informado à Organização Mundial da Saúde (OMS) pela primeira vez em Wuhan, na China, em dezembro de 2019 (73), pertence à família *Coronaviridae*, supondo-se que seja uma variante do vírus BatCov (73). Esta família inclui outros vírus que infetam humanos tais como: a Síndrome Respiratória do Médio Oriente (MERS-CoV – *Middle East Respiratory Syndrome*), detetado pela primeira vez em 2012 na Arábia Saudita e a Síndrome Respiratória Aguda Grave - Coronavírus (SARS-CoV – *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*) responsável pelo surto de SARS de 2002 a 2004 (74–76). Tal como o SARS-CoV, o SARS-CoV-2 utiliza o recetor da Enzima conversora da Angiotensina - 2 (ACE2 – *Angiotensin converting enzyme 2*) para se ligar e entrar na célula hospedeira (74). O SARS-CoV-2 é composto por um invólucro, que por sua vez é constituído por uma bicamada fosfolipídica e três proteínas estruturais. Este invólucro contém o material genético viral com uma nucleocápside helicoidal composta pela Proteína Nucleocápside (Prot N – *Nucleocapsid Protein*). As três proteínas estruturais do invólucro são: a Proteína do Invólucro (Prot E – *Envelope Protein*); a Proteína Membranar (Prot M – *Membrane*

Protein); e a Glicoproteína Transmembranar Spike (Prot S – *Spike Protein*). Destas proteínas, a mais relevante para a entrada da partícula viral na célula do hospedeiro a ser infetada é a Prot S (77), que se liga à ACE2 da célula (78) e, após ser hidrolisada por protéases específicas (sendo essas: o Precursor da Protéase Transmembranar Serina 2 (TMPRSS2 – *Transmembrane Protease Serine 2 Precursor*), a Catepsina L e a Furina) permite a internalização viral por endocitose (77,79). Após a fusão do invólucro viral com a membrana do endossoma ocorre a libertação do conteúdo viral no interior da célula infetada. Dão-se, então, a replicação do RNA viral e a síntese das respetivas proteínas, seguidas da montagem das partículas virais e subsequente libertação por exocitose (77,80).

1.2 Possível relação entre a infeção por SARS-CoV-2 e alterações do SCV

A possível relação entre a infeção por SARS-CoV-2 e alterações do SCV descrita na literatura assenta, nomeadamente, em i) o aumento de risco de lesão aguda do miocárdio identificado na revisão de literatura de Li *et al.*, que englobou 28 estudos com 4189 casos confirmados de infeção por SARS-CoV-2 (81), ii) Amir Tajbakhsh *et al.*, que sugere a presença de lesão cardíaca causada pela infeção por SARS-CoV-2 e que essa lesão está correlacionada com a severidade de sintomatologia clínica (78) e iii) Xi *et al.* que avaliou 153760 indivíduos, anteriormente infetados por SARS-CoV-2, seguindo-os durante 1 ano, tendo sido observado que, em comparação com o grupo de controlo, apresentaram maior probabilidade de desenvolver problemas do SCV, proporcionalmente à severidade da sintomatologia desenvolvida durante a fase aguda da infeção (82).

1.3 Estrutura deste trabalho

Este trabalho está estruturado da seguinte forma:

- i) Parte 1 – Introdução sobre o conhecimento disponível na literatura até à data
- ii) Parte 2 - Descrição detalhada do Vírus SARS-CoV-2, incluindo a sua transmissão, ciclo replicativo, e formas de manifestação viral.

- iii) Parte 3 - Descrição do Sistema Cardiovascular e dos biomarcadores usados para o seu estudo, nomeadamente marcadores cardíacos, inflamatórios e de coagulação.
- iv) Parte 4 - Fisiopatologia do SARS-CoV-2 a nível do SCV. Esta inclui a infeção de células cardíacas direta por SARS-CoV-2, a tempestade de citocinas, os efeitos no SCV devido ao comprometimento do Sistema Respiratório e outras possíveis causas de lesão no SCV associadas à infeção por SARS-CoV-2.
- v) Parte 5 - Discussão que detalha as alterações descritas na literatura no que concerne às três categorias de biomarcadores usados no estudo do SCV, bem como previsões das implicações da infeção por SARS-CoV-2 no SCV a curto, médio e longo prazo.
- vi) Parte 6 - Conclusão.

2. Vírus de Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus 2 (SARS-CoV-2)

2.1 Taxonomia e Estrutura do vírus

A teoria com mais adoção na literatura refere que o novo SARS-CoV-2 corresponde, muito provavelmente, a uma variante, capaz de infectar humanos, do *BatCov Rat13*, um vírus da mesma família (*Coronaviridae*) que infecta morcegos. Esta hipótese é suportada pela semelhança, em cerca de 96%, do genoma dos dois vírus (73). Em comparação com outros vírus da família *Coronaviridae* de que há conhecimento (e que infectam humanos) o SARS-CoV-2 só partilha 79% do seu genoma com o da SARS-CoV e 50% com o da MERS-CoV (74) e tal como o SARS-CoV, o SARS-CoV-2 utiliza o recetor da ACE2 da célula hospedeira para se ligar e entrar na célula (74).

O SARS-CoV-2 é um vírus esférico com invólucro, que pertence ao grupo dos betacoronavírus linhagem 2B (73,74,83). O genoma é constituído por uma cadeia simples de Ácido Ribonucleico (RNA – *Ribonucleic Acid*) com sentido positivo (+ssRNA - *Single String RNA positive sense*) (73,74,83).

No que se refere à morfologia do vírus, a camada exterior (que envolve o material genético) é denominada por invólucro e é constituída por uma bicamada de fosfolípidos e por três tipos de proteínas estruturais (73):

- i) Proteína do Invólucro (Prot E – *Envelope Protein*): responsável pela junção das novas partículas virais e envolvida na patogenicidade viral (84);
- ii) Proteína Membranar (Prot M – *Membrane Protein*): determina a morfologia do vírus, ligando todas as proteínas estruturais e inibindo uma potencial resposta imunitária pelo hospedeiro (85,86);
- iii) Glicoproteína Transmembranar Spike (Prot S – *Spike Protein*): constituída por duas subunidades, S1 e S2, é essencial para a entrada do vírus na célula hospedeira (73).

A única proteína estrutural que não está presente no invólucro é a Proteína Nucleocápside (Prot N – *Nucleocapsid Protein*) (73). Esta é a unidade formadora da

cápside (73,74) e cria uma estrutura helicoidal à volta do +ssRNA (87). A morfologia do vírus SARS-CoV-2 está apresentada na figura 2.

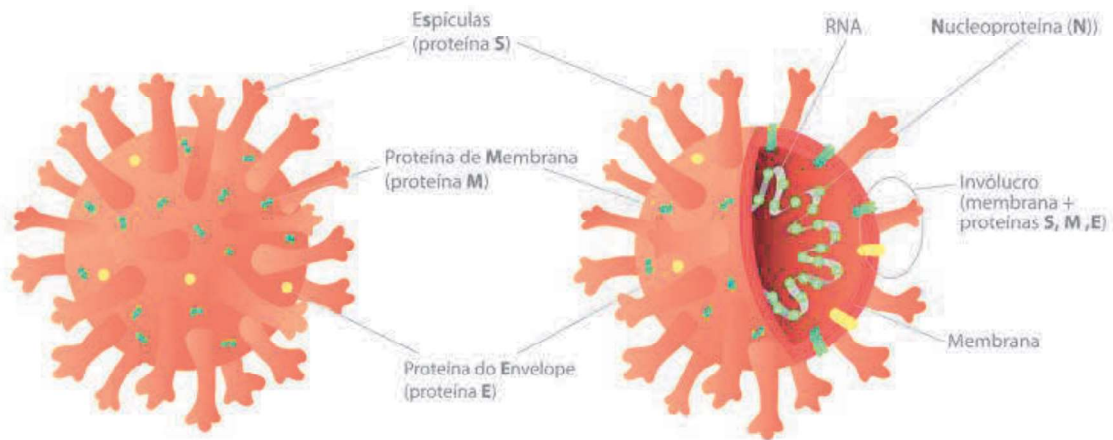


Figura 2 - Representação Esquemática do SARS-CoV-2; Adaptado de (80)

A subunidade S1, da Prot S, tem como função ligar a partícula viral à célula hospedeira que expressa a ACE2, enquanto a subunidade S2 permite a fusão do invólucro viral com a membrana da célula hospedeira (73). Na zona de junção entre as duas subunidades S1 e S2, denominado local de clivagem S1/S2, ocorre a hidrólise por proteases específicas para ativação da subunidade S2 de modo a iniciar as suas funções. As proteases capazes de hidrolisar nessa zona são três:

- i) Precursor da Protéase Transmembranar Serina 2 (TMPRSS2 – *Transmembrane protease serine 2 precursor*): presente em vários locais anatómicos, nomeadamente nas células epiteliais das fossas nasais onde há a expressão do recetor de ligação à subunidade S1, o recetor da ACE2 (74);
- ii) Catepsina L: utilizada quando não está presente o TMPRSS2 (74);
- iii) Furina: não é utilizada por mais nenhum betacoronavirus 2B que infete humanos e é expressa em todos os tecidos humanos. (74).

Relativamente à organização genómica do vírus, esta apresenta 6 quadros de leitura aberta (ORFs - *Open Reading Frames*) funcionais, que numa leitura da sequência genómica 5' - 3' codificam para as seguintes proteínas: replicases (ORF1a e ORF1b), spike(S), envelope (E), membranas (M) e nucleocápside (N) (73). As replicases criam uma poliproteína que é hidrolisada de modo a criar 16 proteínas não estruturais (nsp – *non structural protein*) descritas na tabela 4. Essas 16 nsp estão envolvidas na transcrição e replicação viral. Disperso entre os genes que codificam para as proteínas estruturais

existem 7 possíveis ORF responsáveis pela produção de proteínas acessórias (não essenciais para a replicação viral), mas que aparentam ter um papel patogénico (73,77,88).

Tabela 4 - Proteínas não estruturais do SARS-CoV-2; Adaptado de (73,77,88)

Proteína não estrutural	Função	Proteína não estrutural	Função
1	regula o processamento e a replicação do RNA	9	proteína de ligação ao ssRNA
2	modifica a via de sinalização de sobrevivência da célula hospedeira	10	adiciona guanina na extremidade 3' do RNA mensageiro (mRNA) para metilação do genoma
3	separa a proteína tradutora do RNA	12	enzima responsável pela síntese de RNA através de um molde de RNA
4	domínio transmembranar 2; modifica a membrana do retículo endoplasmático	13	participa no processo de replicação de transcrição; liga-se com o domínio de ligação ao zinco
5	participa no processo de formação da poliproteína durante a replicação	14	domínio de leitura e deteção de erros da sequência genómica; capacidades corretivas
6	domínio transmembranar presuntivo	15	tem Manganês que serve como cofator necessário para a atividade da endoribonuclease
7 e 8	ajuda na combinação entre três componentes: o nsp 12, a cadeia de RNA viral a replicar e o <i>primer</i> do RNA	16	transfere grupos metilos para a ribose

Legenda: RNA mensageiro (mRNA); RNA de cadeia simples (ssRNA); Ácido Ribonucleico (RNA); Proteínas Não Estruturais (nsp)

2.2 Transmissão

Segundo um documento redigido pela OMS intitulado “*Mask use in the context of COVID-19*”, a transmissão do SARS-CoV-2 ocorre, principalmente, por via respiratória, através de gotículas ou partículas de aerossóis respiratórias ou salivares (89). Essas fontes de contaminação podem percorrer até 1 metro ou contaminar superfícies ou objetos inertes, podendo assim infectar indivíduos não contaminados que entram em contacto com estas superfícies ou objetos (74,77,89). No entanto, concluiu-se que o principal agente de propagação são as gotículas respiratórias ou salivares por contacto direto entre um indivíduo infectado e um indivíduo sã (77).

2.3 Ciclo replicativo

O ciclo replicativo do SARS-CoV-2, tal como o do SARS-CoV (78), começa pela ligação da ProtS com o recetor da ACE2 da célula hospedeira (77). De seguida, ocorre a hidrólise da ProtS pela protéase TMPRSS2, havendo interiorização endossómica do vírus (77,79). Posteriormente, dá-se a fusão do invólucro partícula viral com a membrana endossómica da célula através da Catepsina L endolisossomal, libertando o genoma viral para o citosol da célula hospedeira (77,79). O +ssRNA viral é libertado para o citoplasma da célula hospedeira, sendo depois traduzido pelos ribossomas dessa célula, criando assim os ORF1a/b que por sua vez criam as poliproteínas replicase 1a e 1b (pp1a e pp1b). As poliproteínas são hidrolisadas pelas protéases virais, o que cria as várias nsp, nomeadamente, nsp 12 e a polimerase de RNA RNA-dependente (RdRp – *RNA dependent RNA polymerase*) (77,79). A replicação viral ocorre numa vesícula de dupla membrana (DMVs – *Double-Membrane Vesicles*) criada pelo vírus e que deriva do Retículo Endoplasmático (77). O +ssRNA no interior da DMVs é transcrito, criando um RNA de cadeia simples com sentido negativo (-ssRNA – *Single String RNA negative sense*) a partir do qual são criadas secções subgenómicas de RNA (sgRNA). Dessas secções são criadas as proteínas estruturais e as proteínas acessórias (77). Estas proteínas recém-formadas integram-se no compartimento intermediário entre o Retículo Endoplasmático e o Complexo de Golgi, onde há a formação das partículas virais com cópias do +ssRNA (77). A libertação das partículas virais pela membrana celular do hospedeiro ocorre por exocitose (77).

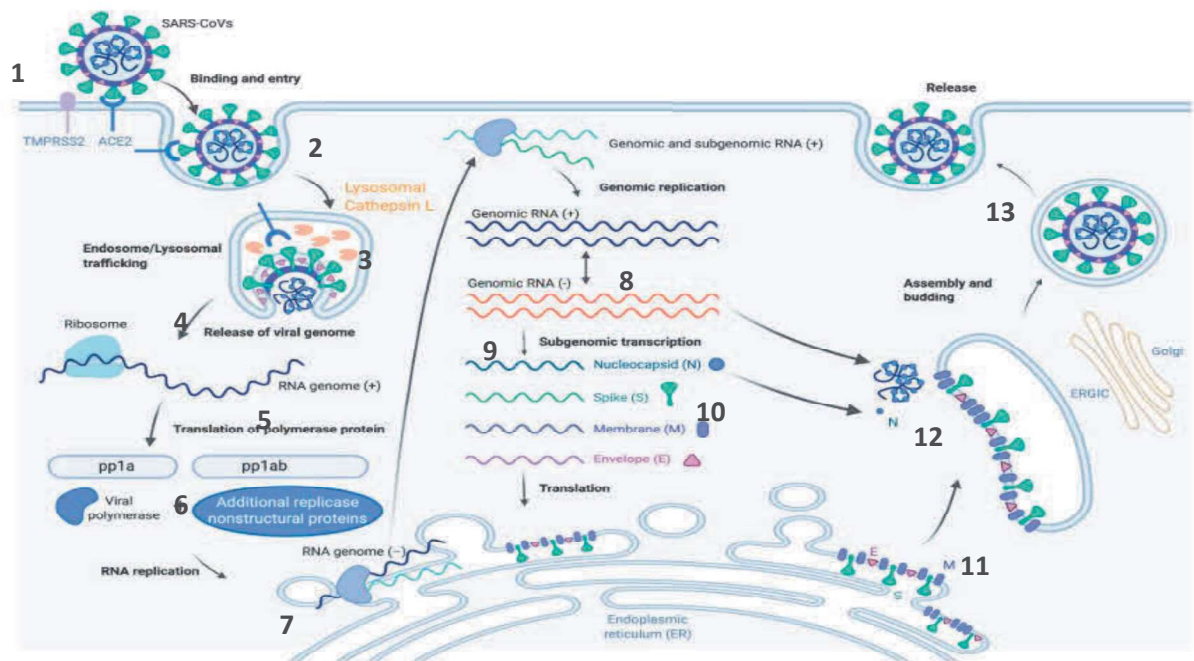


Figura 3 - Fases do ciclo replicativo dos coronavírus; Adaptado de (77)

Legenda: 1- Ligação do vírus através da ProtS ao recetor da ACE2; 2- Hidrólise da zona S1/S2 da ProtS pela protease TMPRSS2; 3- Fusão do invólucro com a membrana do endossoma através da Catepsina L; 4- Liberação do RNA viral no citosol celular; 5- Tradução do RNA viral, formando as proteínas replicases ORF1a/b, que por sua vez criam as poliproteínas replicase 1a e 1b (pp1a e pp1b); 6 – As pp1a e pp1b são hidrolisadas por proteases virais de modo a criar as proteínas não estruturais; 7 - Replicação de RNA viral ocorre numa vesícula de dupla membrana (DMVs) do Reticulo Endoplasmático; 8 – O RNA de cadeia simples com sentido positivo (+ssRNA) serve como molde para a formação de RNA de cadeia simples com sentido negativo (-ssRNA); 9 – O -ssRNA cria por sua vez secções subgenômicas de RNA (sgRNA); 10 – As seções sgRNA formam as proteínas estruturais e acessórias; 11 – As proteínas estruturais e acessórias são inseridas no compartimento entre o Reticulo Endoplasmático e o Complexo de Golgi para formação de vírions; 12 – +ssRNA são inseridos nos vírions; 13 – Novas partículas virais são libertadas por exocitose.

2.5 Formas de manifestações clínicas de infeção viral por SARS-CoV-2

Existem várias formas de manifestação clínica em indivíduos não vacinados com infeção por SARS-CoV-2. De forma geral, existem 5 formas de sintomatologia clínica:

- i) Assintomáticos (1,2% a 15,6% da população infetada) – sem sintomatologia aparente. Segundo o estudo de He, Jingjing *et al*, onde foram avaliados, analisados e revistos 41 estudos diferentes totalizando 50155 participantes com COVID-19, concluiu-se que a percentagem de indivíduos assintomáticos pode chegar aos 15,6% (90,91). Contudo, no caso de crianças a população assintomática pode chegar aos 27,7% (90);

- ii) Casos leves (61,4% a 80,9% da população infetada) – podem apresentar tosse, dores de cabeça ou dor generalizada no corpo, dificuldades respiratórias, perda total ou parcial de olfato, perda parcial ou total de paladar, diarreia, vômitos e/ou febre (91,92);
- iii) Casos severos (4,7% a 14,3% da população infetada) – casos que necessitam de ventilação na Unidade de Cuidados Intensivos, como, por exemplo, pneumonia grave (90–92);
- iv) Casos Críticos (2,3% a 5,8% da população infetada) – indivíduos em estado de choque, paragem respiratória e/ou disfunção ou falha de múltiplos órgãos (91).

3. Sistema Cardiovascular

O Sistema Cardiovascular (SCV) é composto pelo coração, vasos sanguíneos e sangue (especificamente o sistema trombotico) e tem como função a distribuição de gases e nutrientes e a captação de metabolitos celulares. O aparelho cardiovascular está dividido em dois grandes sistemas, o pulmonar e o sistémico, sendo ambos impulsionados pelo coração. O sistema pulmonar tem o objetivo de levar o sangue saturado com dióxido de carbono (CO₂) para os pulmões, onde este é substituído por Oxigénio (O₂) que é distribuído por todo o organismo. O sistema sistémico tem como objetivo o transporte e a distribuição dos nutrientes e gases necessários para as células, bem como a captação e transporte dos metabolitos que estas produzem para os respetivos locais de excreção. Para o sistema cardiovascular ser capaz de cumprir todas as suas funções este precisa de ser capaz de gerir a pressão sanguínea, encaminhar o sangue pelo circuito correto, assegurar um fluxo unidirecional e regular o aporte de sangue (93).

O coração está localizado na caixa torácica, entre os pulmões, numa zona mediana denominada mediastino e tem a forma de um cone truncado. É constituído por duas aurículas e dois ventrículos, em que cada um destes componentes se situa de cada lado. Cada aurícula está ligada a um ventrículo através dos canais auriculoventriculares. A aurícula direita recebe o sangue que circulou no corpo e no próprio coração e manda-o para o ventrículo direito para ser enviado para a circulação pulmonar para que seja oxigenado. A aurícula esquerda recebe o sangue proveniente da circulação pulmonar e envia-o para o ventrículo esquerdo para ser, posteriormente, impulsionado para a circulação sistémica.

A parede do coração é composta por três camadas: o epicárdio, o miocárdio e o endocárdio. O epicárdio é uma membrana fina exterior que protege o coração do atrito dos órgãos envolventes. A segunda camada, o miocárdio, é a mais espessa do coração e é composta por células musculares cardíacas, os cardiomiócitos, responsáveis pela contração cardíaca e bombeamento do sangue nos vasos. A camada mais interior, o endocárdio, é uma membrana lisa e fina que permite ao sangue mover-se através do coração. O músculo cardíaco é característico por ser auto-rítmico, ou seja, cria contrações espontâneas com intervalos regulares sem estímulo externo. Esta contração muscular cardíaca é involuntária, sendo controlada pelo sistema nervoso autónomo e pelo sistema

endócrino. O coração bombeia o sangue para uma rede de vasos dispersos por todo o corpo (93). Em situações de infecção são descritos eventos trombóticos que podem bloquear totalmente ou parcialmente os vasos sanguíneos, o que pode levar a situações potencialmente fatais (94). Também por isso, foram estudados biomarcadores trombóticos.

3.1 Principais biomarcadores para avaliação do Sistema Cardiovascular

Nesta revisão da literatura foram apenas abordados os biomarcadores específicos - aqueles que permitem detetar as alterações do SCV por uma infecção por SARS-CoV-2, nomeadamente cardíacos, inflamatórios e trombóticos, bem como as implicações dessas mesmas alterações. Os biomarcadores selecionados e as suas respetivas categorias estão descritos na tabela 5.

Tabela 5 – Resumo dos biomarcadores selecionados por categorias

Categorias	Parâmetros analisados
Cardíacos	Mb; cTnI; cTnT; NT-proBNP; LDH; CK e CK-MB
Inflamatórios	IL-6; IL-10; TNF α e PCR
Trombóticos	D-Dímeros; TP; TTPa; FvW

Legenda: Mioglobina (Mb); Troponina I Cardíaca (cTnI); Troponina T Cardíaca (cTnT); N-terminal do Péptido Natriurético tipo B (NT-proBNP); Creatinaquinase (CK); Creatinaquinase-MB (CK-MB); Desidrogenase Láctica (LDH); Proteína C Reativa (PCR); Interleucina 6 (IL-6); Interleucina 10 (IL-10); Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF α); Número de Plaquetas (N $^{\circ}$ Plt); Tempo de Protrombina (TP); Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPa) e Fator de von Willebrand (FvW)

3.1.1 Cardíaco

Para análise das possíveis alterações a nível do coração causadas por uma infecção por SARS-CoV-2, serão descritos vários biomarcadores que podem ser indicativos de necrose dos cardiomiócitos, *stress* biomecânico dos ventrículos e estados inflamatórios (95–102).

Um dos biomarcadores cardíacos mais descritos pela literatura para estudo das alterações no SCV da infecção por SARS-CoV-2 é a troponina, um grupo de proteínas

reguladoras da contração do músculo esquelético e cardíaco. Nesta revisão a única proteína estudada deste grupo foi a Troponina Cardíaca (cTn). A cTn controla especificamente a contração muscular cardíaca e serve como indicador de lesão e necrose do músculo cardíaco (97,103), sendo o único biomarcador padrão na detecção de enfarte agudo do miocárdio (98,99). A cTn é composta por três subunidades: a Troponina Cardíaca I (cTnI), a Troponina Cardíaca T (cTnT) e a Troponina Cardíaca C (cTnC) (96,98,104).

Embora a cTn seja recomendada como biomarcador na avaliação de lesões do miocárdio, é também utilizada em infecções virais indutoras de sépsis, em casos de infecções respiratórias e como marcador de severidade de doença (99). A elevação destes biomarcadores já foi observada em casos de infecção por outros vírus semelhantes ao SARS-CoV-2, como por exemplo no caso das epidemias de SARS-CoV e de MERS-CoV (99). Existe ainda na literatura a constatação de que a elevação da cTn (um biomarcador relacionado com lesão do miocárdio) em infecções por vírus semelhantes ao SARS-CoV-2, indica envolvimento cardíaco durante essas infecções, o que pode indicar que o mesmo acontece para o SARS-CoV-2 (99).

Na quantificação da cTn, a maioria da literatura analisada refere a utilização da Troponina cardíaca ultrasensível (hs-cTn), por ter a capacidade de dosear concentrações cinco a 100 vezes mais baixas do que os ensaios convencionais (103).

O segundo biomarcador cardíaco específico mais descrito é o N-terminal do Péptido Natriurético tipo B (NT-proBNP – *N-terminal pro-brain natriuretic peptide type B*), um biomarcador de *stress* biomecânico do miocárdio (95–97). O valor deste biomarcador normalmente fica elevado em casos patológicos críticos e está associado a pior prognóstico em doenças não relacionadas com o SCV, como por exemplo a sépsis (105). O NT-proBNP é uma pró-hormona principalmente sintetizada pelos cardiomiócitos ventriculares (96,97,106) quando estimulado por *stress* da parede do miocárdio (106). Os efeitos fisiológicos do NT-proBNP são: diurese, vasodilatação periférica, inibição do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) e inibição do Sistema Nervoso Simpático (96,97,106).

A Desidrogenase Láctica (LDH - *Lactate Dehydrogenase*) é utilizada como marcador inflamatório cardíaco. A LDH é uma enzima glicolítica intracelular que interconverte o lactato e o piruvato e está presente em grandes quantidades em quase todas as células (99). Este biomarcador é um marcador cardíaco não específico relacionado com a

inflamação em casos de lesão aguda ou severa. A nível cardíaco está associado a doença coronária arterial e é utilizado como marcador de isquemia do miocárdio (99,100). É referido como tendo um grande potencial na avaliação de casos por SARS-CoV-2 por ter sido detetado em quantidades elevadas em epidemias de vírus com características semelhantes, como o SARS-CoV e MERS-CoV (99).

Finalmente os biomarcadores cardíacos menos descritos na literatura na avaliação das alterações pela infeção por SARS-CoV-2 são a Creatinaquinase (CK) e a Mioglobina (Mb). Relativamente à CK, esta não é específica do coração e está associada à produção de energia para a contração e relaxamento muscular (101,107). A CK apresenta várias isoformas, ou seja, enzimas com uma sequência de aminoácidos diferente, mas que catalisam a mesma reação (108). A isoforma mais descrita na literatura é a Creatinina Quinase de “Muscle” e “Brain” (CK-MB), pois é a isoforma mais abundante nas células cardíacas, sendo libertada no caso de lesão do músculo cardíaco (97,101). No caso de um enfarte agudo do miocárdio a CK-MB é detetada nas primeiras 4 a 6h. Contudo, como não é específica do tecido cardíaco, os valores da CK-MB podem também aumentar noutras situações, devido à sua presença no músculo esquelético, como por exemplo: cirurgia não cardíaca, asma, embolismo pulmonar, doença muscular crónica ou aguda, hiperventilação e hipotiroidismo (100,101).

Quanto à Mb, é uma proteína cardíaca não específica do músculo cardíaco, pois também se encontra no músculo esquelético (97). A Mb liga-se, reversivelmente, ao O₂ e tem, principalmente, o objetivo de reservar o oxigénio em casos de hipoxia (97,102). No caso de necrose do miocárdio a quantidade de Mb aumenta exponencialmente, sendo detetável passado 1 a 4h (97). Este biomarcador é muito sensível e tem um valor preditivo de necrose do miocárdio muito alto. É preciso notar, no entanto, que não é específica de necrose do miocárdio, havendo também aumento significativo da Mb em casos de insuficiência renal e de lesão do músculo esquelético (97). Em comparação com a cTn é menos sensível na deteção precoce de isquémica coronária (97).

3.1.2 Inflamatórios

Os marcadores de inflamação analisados no decurso deste trabalho foram: as Interleucinas, o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF α) e a Proteína C Reativa (PCR).

As Interleucinas são um grupo de proteínas que regulam a resposta do sistema imunitário, sendo sintetizadas por leucócitos e outras células do organismo (109). Neste trabalho foram analisadas a Interleucina-6 (IL-6) e a Interleucina-10 (IL-10).

A IL-6 é uma das citocinas mais importantes, sendo produzida como resposta a infecções agudas e a lesão tecidual, tendo um papel crucial na defesa do sistema imunitário do hospedeiro (99,110). A IL-6 é produzida nos estágios iniciais da inflamação e estimula as células hepáticas a fazerem a secreção de uma grande variedade de proteínas de fase-aguda (99). Embora a sua expressão seja estritamente controlada, a síntese contínua e desregulada da IL-6 pode ter um efeito patológico em inflamações crônicas (110).

Quanto à IL-10, tem um efeito anti-inflamatório potente de modo a controlar a resposta imunitária do hospedeiro e, assim, evitar lesões ao seu tecido e manter a homeostase. Na literatura está descrito que a diminuição da IL-10 por um longo período de tempo em casos de infecção viral, bacteriológica ou fúngica está associada ao aumento da resposta imunopatológica (111). O aumento do estado de infecção, não regulado pela IL-10, pode desencadear uma libertação exuberante de citocinas, que, por sua vez, pode levar ao desenvolvimento de um choque séptico (111).

Ao longo desta revisão bibliográfica verificou-se que outro marcador inflamatório de grande importância é o TNF α . Este é produzido por macrófagos ou monócitos durante o estado agudo da infecção e é responsável por desencadear a necrose e/ou apoptose celular, o que é importante para resistir a uma infecção viral (112,113).

Finalmente, a PCR é uma proteína inflamatória não específica, de fase aguda, importante na imunidade inata e sintetizada, principalmente no fígado. Por não ser específica para uma infecção viral, como é o caso da infecção por SARS-CoV-2 (97,114), não é indicadora de diagnóstico, sendo apenas indicativa de um estado inflamatório. A PCR é sintetizada no caso de uma inflamação ou no caso de lesão de tecido (114). O aumento da PCR é proporcional a outros mediadores inflamatórios, como a citocina IL-6 e o TNF α (114). A semi-vida desta proteína é curta, desaparecendo da corrente sanguínea rapidamente após o desaparecimento do estímulo (114).

3.1.3 Trombóticos

Dos vários biomarcadores trombóticos descritos na bibliografia existente sobre o SARS-CoV-2, o mais estudado é o D-Dímero. Este biomarcador é um bom indicador de estados de hipercoagulação, fibrinólise secundária, processos anormais de coagulação ou de trombooses, como, por exemplo, trombose venosa profunda, embolismo pulmonar ou coagulação intravascular disseminada (CID) (99,115). A sua determinação é de interesse, numa infeção por SARS-CoV-2, porque, segundo a literatura, valores aumentados de D-Dímeros em casos severos de pneumonia (o que pode ocorrer em casos de infeção por SARS-CoV-2) estão correlacionados com maior risco de desenvolver complicações e de mortalidade (99,116).

Os parâmetros descritos na literatura para estudo da cascata de coagulação durante uma infeção por SARS-CoV-2, foram o Tempo de Protrombina (TP) e o Tempo de Tromboplastina Parcial (TTPa). O TP foi usado para avaliar a via extrínseca e a cascata comum de coagulação (117), enquanto o TTPa foi usado para avaliar a via intrínseca e também a cascata comum de coagulação (118). Finalmente, um dos biomarcadores menos referido na literatura sobre o COVID-19 foi o Fator de von Willebrand (FvW). Este é uma glicoproteína que funciona como mediador da adesão plaquetária e é sintetizado nas células endoteliais em casos de lesão (119).

4. Fisiopatologia do SARS-CoV-2 no Sistema Cardiovascular

Tem sido avançada e descrita por diversos estudos na literatura a teoria da possível existência de uma correlação entre a infecção pelo vírus SARS-CoV-2 e manifestações cardiovasculares, sendo as mais frequentemente descritas: lesão aguda do miocárdio, arritmias, insuficiência cardíaca, paragem cardíaca e coagulação disfuncional (78).

A descrição de vários acontecimentos levaram ao levantamento dessa hipótese incluindo: i) 11,8% das vítimas de COVID-19 (sem historial clínico a nível cardiovascular) apresentavam lesão substancial no tecido cardíaco, acompanhada por valores elevados de cTnI ou paragem cardíaca durante a sua hospitalização (120), ii) o aparecimento de lesão cardíaca aguda em 8% a 12% dos casos com COVID-19, sendo que a incidência destas lesões aumenta 13 vezes em internados na Unidade de Cuidados Intensivos (UCI) (78,121), iii) insuficiência cardíaca observada em 23% dos 191 participantes (em que 48% tinham comorbidades), em num estudo em Wuhan (121), iv) observação, num estudo de 113 óbitos causados por COVID-19 (em que 68% apresentava comorbidades cardiovasculares), foi observado que 77% dos falecidos apresentavam lesão cardíaca aguda e 49% insuficiência cardíaca (121), v) apresentação de lesão do miocárdio por 5 profissionais de saúde num estudo que envolveu 30 profissionais de saúde (16,67%), anteriormente infetados com SARS-CoV-2 (78) e vi) observação de um outro estudo, que englobava 407 sujeitos com COVID-19 considerados de alto risco para tromboembolismo venoso, em que 11%, ou seja 44 indivíduos, apresentaram risco elevado para hemorragias (78).

Um outro fator que motivou a escolha deste tema foi a observação na literatura que mesmo após a recuperação por SARS-CoV-2 foram detetadas alterações a nível do miocárdio: num estudo realizado a 100 participantes recuperados de uma infecção por SARS-CoV-2 foi detetado que 60% dos participantes continuavam com o tecido do miocárdio inflamado independentemente da altura do diagnóstico (122).

No caso de existência de complicações cardiovasculares preexistentes, durante uma infecção por SARS-CoV-2, a taxa de mortalidade sobe significativamente como foi observado num estudo que envolveu 44672 indivíduos, na China, em que 4,2% tinham doença arterial coronária (123). No grupo de indivíduos com essa condição subjacente, a

taxa de mortalidade subiu de 2,3% para 10,5%. Outro estudo, envolvendo 187 participantes hospitalizados com COVID-19, verificou que a taxa de mortalidade subiu de 8,9% para 59,6% em situações de lesão aguda do miocárdio (124). Na literatura foram apresentadas três possíveis causas que permitem relacionar condições pré-existentes de DCV e a severidade do COVID-19 associadas à expressão de ACE2:

- i) Variação da expressão de ACE2 na população. Caso a expressão de ACE2 seja diminuta pode aumentar a probabilidade do desenvolvimento de DCV, caso contrário pode aumentar a severidade da infecção por SARS-CoV-2 (91);
- ii) DCV e/ou medicação para DCV com supressão do SRAA pode aumentar a expressão de ACE2 do sujeito, aumentando os locais de ligação do vírus aos pulmões e ao coração (91);
- iii) Infecção pelo SARS-CoV-2 pode diminuir a função da ACE2, sem diminuir a expressão da mesma, em indivíduos com DCV (125).

A detecção da elevação de marcadores de lesão cardiovascular é comum em casos severos de infecção (121). Os indivíduos com maior probabilidade de desenvolverem quadros clínicos mais graves são homens (126) com mais de que 60 anos e com condições preexistentes relacionadas com DCV e diabetes (78).

As infecções por SARS-CoV-2 em crianças ou recém-nascidos apresentam muito menos sintomatologia em comparação com as infecções em adultos (125). Foi descrito que de 34 crianças, entre os 11 meses e os 8 anos de idade, admitidas no hospital de Shenzhen, na China, entre o período de 19 de janeiro a 7 de fevereiro de 2020, 9% eram assintomáticas, apresentando as outras sintomas leves. Não houve nenhum caso de sintomatologia severa ou crítica (127).

Teoriza-se que o sistema cardiovascular durante uma infecção por SARS-CoV-2 será afetado principalmente de 3 formas: i) diretamente pelo vírus nas células do miocárdio e do endotélio (128–130), ii) de forma indireta pela tempestade de citocinas (131,132) e iii) pelo comprometimento do Sistema Respiratório, levando a um estado de hipoxia algo a que o sistema cardíaco é muito sensível (133,134). Contudo, existem também outras formas de lesão que ainda não são bem compreendidas nem tão bem estudadas até à data que descreverei no ponto 4.4.

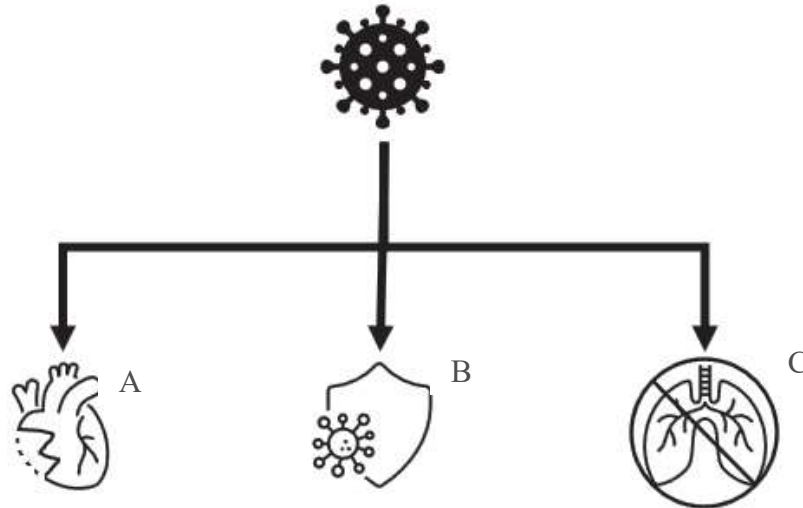


Figura 4 - Efeitos da infecção pelo vírus SARS-CoV-2

Legenda: Principais causas de patologia pelo vírus SARS-CoV-2: A) impacto direto no tecido cardíaco através do cardiomiócitos e endotélio, B) estimulação do sistema imunitário levando a uma situação patológica (tempestade de citocinas) e C) comprometimento do sistema respiratório.

4.1 Infecção Cardíaca direta do SARS-CoV-2

Após infecção por SARS-CoV-2, o indivíduo infetado apresenta rapidamente partículas virais (e em particular RNA viral) em circulação no sangue (128,135). A circulação no sangue destas partículas dá-lhes acesso direto aos cardiomiócitos e ao endotélio vascular, sendo que ambos possuem a enzima ACE2 e a protease TMPRSS2 necessárias para a entrada do vírus nas células (129,136), o que permite que sejam diretamente infetadas (128). No estudo de Bojkova *et al.* é demonstrada a entrada e replicação do vírus em cardiomiócitos, bem como a lesão direta associada (130). Essa infecção pode levar a um estado inflamatório, a apoptose e a necrose dos cardiomiócitos podendo resultar numa lesão aguda do miocárdio (131). Visto que a afinidade do SARS-CoV-2 à ACE2 é superior ao seu antecedente, SARS-CoV, teoriza-se que o ataque direto do vírus às células seja superior do que o do seu antecedente (74).

O ACE2 é uma enzima com função anti-inflamatória, antioxidante e vasodilatadora. Estas propriedades resultam da inibição que o ACE2 exerce sobre a ação da enzima conversora de angiotensina (ACE - Angiotensin-Converting Enzyme), que é uma enzima pró-inflamatória e que ativa o SRAA estando diretamente relacionado com DCV

(121,131,134). A ACE2 tem como função hidrolisar a Angiotensina I (AngI) em Angiotensina 1-9 (Ang 1-9) e a Angiotensina 2 (Ang II) em Angiotensina 1-7 (Ang1-7) (121). A Ang1-7 está relacionada com benefícios cardiovasculares ao melhorar o funcionamento cardíaco, regular a pressão sanguínea e impedir a evolução da arteriosclerose (32,44). Assim, o ACE2 protege o SCV ao degradar a Ang II em Ang1-7 (134). A patogenicidade direta do SARS-CoV-2 está relacionada com a capacidade de alterar o SRAA ao inibir a ACE (78). Devido à interiorização da ACE2 durante a entrada na célula hospedeira do vírus SARS-CoV-2, dá-se a diminuição da expressão dessa enzima, havendo menor proteção do SCV pelo aumento da AngII, que deixa de ser degradada (134). O aumento dos níveis séricos de AngII está também associado a lesão aguda pulmonar por aumentar o estado pró-inflamatório (131). Sabe-se que existe uma ligação diretamente proporcional entre o aumento de AngII e a carga viral do SARS-CoV-2 em circulação (131). Assim, pode haver uma ligação entre a perda de expressão da ACE2 por infecção por SARS-CoV-2 e uma progressão mais acelerada de DCV (123). Esta hipótese é apoiada pela diminuição exuberante de expressão da ACE2 observada no coração de vítimas mortais do COVID-19 (131).

4.2 Tempestade de citocinas

A resposta imunitária do hospedeiro no decorrer do desenvolvimento da doença por COVID-19 é agravada por um desregulamento simultâneo do SRAA, resultante da diminuição da expressão da ACE2, previamente descrita (137). Se a resposta imunitária à replicação do vírus SARS-CoV-2 no sistema respiratório evoluir de uma forma particularmente agravada, pode desenvolver-se a síndrome de tempestade de citocinas (STC) (131). É esta síndrome que é identificada como a principal razão de desenvolvimento de lesões do SCV e de eventos trombóticos, estando intimamente relacionada com a severidade da doença (78,131,132).

A STC, ou hipercitocinemia, ocorre quando: i) há uma ativação excessiva de macrófagos e monócitos, como os Linfócitos T (LinfT), os LinfT 17 e os LinfT citotóxicos CD8 positivos, atacando diretamente as células do indivíduo infetado por SARS-CoV-2, ii) há um desequilíbrio dos LinfT Auxiliares (LinfTAux) tipo 1 e tipo 2, havendo uma produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, principalmente das Interleucinas (IL) 6 e 10 e iii) há ativação das células endoteliais pela ligação da ProtS do vírus aos recetores ACE-2, que libertam proteínas quimioatraentes para macrófagos e

monócitos, o que atrasa a resposta do interferão 1, aumentando o recrutamento de monócitos e macrófagos que aumenta, por sua vez, ainda mais a resposta inflamatória (78,123,125,131,138). A hipercitocinemia também é representada pelo aumento sérico de vários outros pró-inflamatórios, como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF - Vascular Endothelial Growth Factoros), Interferões (IFN - Interferon) alfa e beta, as IL-1, 2, 4, 6, 10, 12, 17, 22, entre outros, a TNF α , a proteína quimioatraente de monócito 1 (MCP-1 - monocyte chemoattractant protein-1) e, nos casos severos, a diminuição da E-caderina (78,121,123,127,131). A diminuição da E-caderina e o aumento do VEGF causa o aumento da permeabilidade vascular, que contribui para o desenvolvimento do estado de *shock* e da Síndrome Respiratório Agudo Grave (SARS- Severe Acute Respiratory Syndrome) (123). A TNF α demonstra uma função indutora de necrose nos cardiomiócitos (123). Teoriza-se que as alterações trombóticas se devem, principalmente, às citocinas TNF α , IL-6, e IL-1, sendo a mais relevante a IL-6, uma vez que promove a expressão do fator tecidual em linfócitos, monócitos e macrófagos e, conseqüentemente, ativa a coagulação e formação de trombina (139).

Tendo em conta a resposta inflamatória descrita anteriormente, julga-se que a infecção por SARS-CoV-2 é mediada por duas respostas inflamatórias, a resposta primária e secundária (78). A resposta inflamatória primária é a resposta inata e celular do SI que ocorre antes da aparição dos anticorpos (Ac) para neutralização do vírus, sendo ativada pela replicação viral e supressão da expressão de ACE2 (78). Essa resposta imunitária é estimulada pelo aumento da IL-6, pelas células endoteliais e pelos fibroblastos, ativando monócitos, macrófagos e células dendríticas (123,140). As vias de ativação seguintes envolvem a ativação de LinfT citotóxicos, a diferenciação de linfócitos B (LinfB) e a ativação das células endoteliais (123). Assim, a resposta inflamatória secundária começa com o aparecimento de Ac neutralizantes do vírus (78). A estimulação de linfócitos e macrófagos pelas citocinas aumenta a adesão dessas células às células endoteliais vasculares, o que por sua vez aumenta as lesões de aterosclerose, havendo assim uma evolução significativa no quadro clínico e desenvolvimento de maior vulnerabilidade à síndrome coronário agudo (134).

O estado de hipercitocinemia pode ter como resultado:

- i) estado de hipoxia no miocárdio resultante do aumento de consumo de oxigénio, sem que este seja proporcionalmente compensado pelo sistema respiratório (19,47);
- ii) choque hipovolémico resultante de hipotensão generalizada devido a disfunção endotelial (19,47);
- iii) lesão do SCV resultante da supressão da função cardíaca (19,47);
- iv) aumento da ativação plaquetária devido ao aumento de tromboxano sérico (19,47).

A tempestade de citocinas cria disfunção da coagulação, havendo uma resposta imuno-trombótica, principalmente em casos severos, que leva ao aumento da predisposição para eventos trombóticos, tromboes arteriais, e tromboes venosas (42,61). O aumento do risco de tromboembolismo venoso é de 31%-40% nos casos severos com COVID-19, enquanto a probabilidade de CID ocorre em 71,4% dos não sobreviventes, sendo que, quando ocorre na circulação alveolar, causa o desenvolvimento da Síndrome Respiratório Agudo Grave (SARS - Severe Acute Respiratory Syndrome) (121). Durante a infeção por SARS-CoV-2 são observados dois tipos de tromboes:

- i) Macrotrombose: as mais comuns nas grandes artérias e veias; em casos de doentes COVID-19 são o tromboembolismo pulmonar (TEP) e o tromboembolismo venoso (TEV). Asakura H. *et al.*, que classificou e examinou utentes na UCI (casos severos) e casos internados na enfermaria geral (casos leves). referiu que 60% dos internados na UCI tinham TEV comparativamente com os 10% dos casos no internamento geral (115);
- ii) Microtrombose: num estudo de Fox *et al.* foram realizadas necropsias onde se identificaram tromboes nos vasos sanguíneos periféricos e nos pulmões, bem como o aumento do ventrículo direito; identificaram-se, ainda, em observação microscópica, trombos constituídos por fibrina e plaquetas nas pequenas artérias e veias dos pulmões (141). Noutro estudo realizado por Lax *et al.*, em todas as 11 necropsias realizadas foram observadas tromboes microscópicas nas artérias pulmonares intermédias e pequenas, apesar de em 10 dos 11 casos terem sido administrados anticoagulantes; foi, ainda, observado infarto pulmonar em 8 dos 11 casos (142).

O padrão mais comum de disfunções de coagulação é caracterizado pelo aumento dos níveis de factor I e D-dímeros, bem como por um ligeiro aumento do TP, do TPPa e uma ligeira trombocitopenia (132). Na STC a ativação de monócitos e libertação exagerada de citocinas e de elementos pró-inflamatórios ativam plaquetas, neutrófilos e células endoteliais (132). O estado de hipercoagulação e lesão do endotélio modifica as propriedades do endotélio de anticoagulante para pró-coagulante. A ativação das células endoteliais leva à produção de moléculas de adesão P-seletina e expressa fator tecidual (FT) (138). A ativação de FT nas células endoteliais leva à ativação da via de coagulação externa (138). A P-seletina liga-se aos neutrófilos, libertando armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs - Neutrophil Extracellular Traps), que ativam a via de coagulação interna. Este processo causa vasoconstrição, estase e agregação plaquetária, o que pode levar à formação de trombos (132,138,143) Resumindo, as principais causas de alterações trombóticas devem-se a hipercoagulabilidade, disfunção endotelial e estase venosa (causada pela falta de mobilidade durante a doença) (132).

4.3 Efeitos do comprometimento do Sistema Respiratório no SCV

As primeiras células no organismo a serem infetadas pelo SARS-CoV-2 são as células epiteliais colunar ciliadas e os pneumocistos tipo II do sistema respiratório (78). Ambas contêm o TMPRSS2 e a ACE2, permitindo a entrada do vírus e a consequente lesão das mesmas (133). O ataque direto do vírus às células cria uma reação inflamatória nos alvéolos, principalmente nos pneumocistos tipo II, ficando os alvéolos cheios de líquido, o que impede as trocas gasosas e promove casos de hipoxia (78). É de notar que durante uma infeção a nível respiratório a necessidade de oxigenação cardíaca aumenta, o que pode não ser suportada devido ao comprometimento do sistema respiratório (78). Tal leva a casos de dispneia criando situações de hipoxia e impedindo a devida oxigenação do tecido cardíaco, o que pode resultar na lesão dos cardiomiócitos ou num enfarte do miocárdio tipo 2 (134,144). Refira-se que esses sintomas são mais severos em casos de DCV com maior expressão de ACE2 (78).

O desenvolvimento de hipoxia é outro fator que pode originar coagulopatias associadas à doença COVID-19, sendo aquelas uma característica de casos severos de pneumonia (129). A resposta celular durante um estado de hipoxia leva à ativação da transcrição de vários fatores como: i) Proteína ativadora 1 (AP-1 – activador protein - 1),

ii) Proteína de resposta ao crescimento inicial-1 (EGR-1 – Early Growth Response Protein 1) e iii) Fatores indutores de hipoxia (HIF – Hypoxia-inducible factors) (129). Dos HIF o mais bem estudado é o Fator indutor de hipoxia 1 (HIF-1- Hypoxia-inducible factors 1) que é responsável pela ativação de várias proteínas envolvidas no aumento do estado pró-coagulativo, como: i) fatores nucleares (NF- κ B - Nuclear factor) (135), ii) fator de crescimento vascular endotelial (VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor) e iii) eritropoietina (EPO) (129,136).

4.4 Outras Causas de lesão do SCV

Uma das principais preocupações no que concerne a outras causas de lesão do SCV são as lesões associadas à medicação implementada durante o tratamento de COVID-19, especialmente antivirais causadores de cardiomiopatia (131). Para além disso, há interação entre fármacos antivirais, como o ritonavir, e anticoagulantes orais não dependentes de vitamina K e varfarina; sendo assim, não é recomendada a utilização desses dois anticoagulantes em combinação com medicamentos antivirais (78). É, por isso, necessário ponderar sobre os efeitos cardiovasculares dos tratamentos aplicados aos indivíduos infetados com SARS-CoV-2 (123).

Outra questão refere-se à cardiomiopatia de Takotsubo, visto que num estudo retrospectivo que envolveu 1914 participantes anteriormente infetados por COVID-19 se observou um aumento de 7,8% dessa patologia em comparação com valores anteriores à pandemia de 1,5% a 1,8%, sendo considerado, portanto, um aumento significativo. Nesse estudo, 33% dos casos desenvolveram miocardiopatia dilatada, o que causa insuficiência cardíaca caracterizada por função sistólica reduzida do ventrículo esquerdo, sendo que eram casos sem antecedentes de disfunção sistólica (131).

5. Discussão

Tendo em conta o que já foi descrito neste trabalho, nomeadamente a correlação entre infeções sistémicas e o desenvolvimento de eventos cardíacos (98) pode afirmar-se que existe suporte na literatura para uma potencial relação entre uma infeção por SARS-CoV-2 e o desenvolvimento de DCV (145). Especificamente, no caso de uma infeção por SARS-CoV-2, as complicações no SCV são as segundas mais prevalentes (146). As manifestações a nível do SCV são, normalmente, insuficiência cardíaca, arritmias e miocardite (98,146). São observados outros exemplos de alterações do SCV como eventos de disfunção vascular manifestados com tromboembolismo, trombose de veias profundas, entre outros (98,146).

De modo a compreender a relação entre as alterações do SCV e uma infeção por SARS-CoV-2, são analisados na literatura vários parâmetros bioquímicos relacionados com o funcionamento cardíaco, reações inflamatórias e eventos de coagulação (147). É possível constatar uma relação das alterações dos parâmetros bioquímicos analisados com as implicações a nível do SCV e a sua correlação com a severidade e mortalidade da doença (147).

No artigo de Malik *et al.* foram utilizados os dados disponíveis até à data de modo a calcular a razão de possibilidades (razão entre a chance de um evento A ocorrer em presença de B e a chance do mesmo evento A ocorrer na ausência de B (148)) entre a alteração de valores de parâmetros bioquímicos e o desenvolvimento de um pior prognóstico pela infeção por SARS-CoV-2 (149). Os resultados deste estudo são apresentados na tabela 6, ordenados em ordem decrescente de associação dos parâmetros a pior prognósticos.

Tabela 6 - Relação de alterações de parâmetros Bioquímicos com pior prognóstico na infecção por SARS-CoV-2; Adaptado de (149).

Parâmetros	Relação de alterações de parâmetros Bioquímicos com pior prognóstico na infecção por SARS-CoV-2
cTnT	11,83
NT-proBN	7,57
cTnI	6,32
LDH	5,48
PCR	4,37
D-Dímeros	3,39
CK-MB	3,35
CK	2,42

Legenda: Creatinaquinase (CK); Creatinaquinase-MB (CK-MB); Desidrogenase Láctica (LDH); N-terminal do Péptido Natriurético tipo B (NT-proBNP); Proteína C Reativa (PCR); Troponina I Cardíaca (cTnI); Troponina T Cardíaca (cTnT).

Dos dados apresentados pode observar-se que que é a cTnT a que tem uma maior taxa de relação com a severidade e mortalidade com a doença COVID-19, enquanto a CK tem a menor (100,149). Devido ao quão recente são os dados nesta área, os resultados variam, particularmente, nos parâmetros LDH, D-Dímeros e CK. Contudo, existe uma concordância que valores elevados de D-Dímeros, PCR, CK e LDH estão independentemente associados a um pior prognóstico, sendo potencialmente usados como biomarcadores iniciais num indivíduo infetado por SARS-CoV-2 (149).

Tendo como base a literatura disponível fez-se uma análise de vários parâmetros relacionados com a funcionalidade do SCV. Contudo, é necessário ter em atenção que a falta de estudos de boa qualidade e de larga escala bem como a situação mundial ainda presente devido ao vírus, torna possível que as observações efetuadas possam estar enviesadas (150).

Os parâmetros que foram estudados estão divididos em três categorias: cardíacos, inflamatórios e de coagulação. Os parâmetros da primeira categoria estão relacionados com biomarcadores alterados quando há lesão direta do coração e são a hs-cTnI, a cTnT,

o NT-proBNP, a CK, a CK-MB e a LDH. Foram também apresentados neste trabalho parâmetros inflamatórios para avaliar as alterações do sistema imunitário porque, conforme descrito na seção 4.2 - Tempestade de citocinas, este é um fator importante de lesão do SCV. Os biomarcadores inflamatórios apresentados são a PCR, a IL-6, a IL-10 e a TNF α . Finalmente, os parâmetros trombóticos são avaliados devido à sua ligação a alterações do endotélio ou do sistema imunitário, que podem desencadear eventos de tromboembolismo que, posteriormente, podem levar a lesão do SCV e/ou outros órgãos (115,131,132,151).

A Tabela 7 resume as alterações dos biomarcadores descritos na literatura, mais intimamente relacionados com as alterações do SCV durante a infecção por SARS-CoV-2.

Tabela 7 - Resumo das alterações dos biomarcadores estudados

Categoria	Parâmetros	Alteração	Observações	Bibliografia
<u>Cardíacos</u>	Mb	↑	Associado a severidade da doença e monitorização	(152)
	hs-cTnI	↑	Associado a severidade da doença	(78,153)
	hs-cTnT	↑	Associado com viremia mais elevada	(154)
	cTnT	↑	Diretamente proporcional à severidade da doença; mais elevado em casos com DCV pré-existent; indicador de prognóstico; monitorização	(78,98,100)
	NT-proBNP	↑	Associado a severidade da doença	(78,127)
	CK	↑	Associado a severidade da doença	(98)
	CK-MB	↑	Associado a severidade da doença	(78,153)
	LDH	↑	Associado a severidade da doença e monitorização	(78,98)

Tabela 8 - Resumo das alterações dos biomarcadores estudados [Cont.]

Categoria	Parâmetros	Alteração	Observações	Bibliografia
<u>Inflamatórios</u>	PCR	↑	Associado a monitorização; correlação linear positiva com os valores de NT-proBNP	(78,125,127)
	IL-6	↑	Associado a elevação do NT-proBNP e cTnT, e monitorização	(78,121)
	IL-10	↑	Associado a monitorização e indicador de prognóstico	(78,121)
	TNF α	↑	Indicador de prognóstico	(121)
<u>Coagulação</u>	TP	↑	Associado a severidade da doença	(151)
	TTPa	↑/=	Pouco alterado durante a infeção	(115)
	FvW	↑	Associado a pior prognóstico	(155)
	D-Dímeros	↑	Associado a pior prognóstico e casos fatais	(115,131,132, 151)

Legenda: Valores mais elevados do que os de valores de referência (↑); Valores mais baixo do que os de valores de referência (↓); Valores dentro dos valores de referência (=); Mioglobina (Mb); Troponina I Cardíaca ultrasensível (hs-cTnI); Troponina T Cardíaca ultrasensível (hs-cTnT); Troponina T Cardíaca (cTnT); N-terminal do Péptido Natriurético tipo B (NT-proBNP); Creatinaquinase (CK); Creatinaquinase-MB (CK-MB); Desidrogenase Láctica (LDH); Proteína C Reativa (PCR); Interleucina 6 (IL-6); Interleucina 10 (IL-10); Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF α); Tempo de Protrombina (TP); Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPa) e Fator de von Willebrand (FvW)

Todos os biomarcadores estudados, estão incluídos numa das três categorias: cardíacos, inflamatórios e de coagulação. Assim, todos os analitos expostos na Tabela 7 serão discutidos, consoante a literatura disponível até à data, nos próximos subcapítulos.

5.1 Biomarcadores cardíacos

Na literatura, existente até à data, com o objetivo de estudar as alterações dos biomarcadores cardíacos durante uma infecção por SARS-CoV-2, os mais estudados foram o hs-TnI, NT-proBNP e cTnT. Um dos objetivos dos estudos que envolvem os biomarcadores cardíacos é correlacionar lesões cardíacas com a severidade doença. No estudo de Han H. *et al.* foram analisados 273 casos de indivíduos não vacinados, internados por infecção com COVID-19 (153). Neste estudo foi observado um maior aumento dos teores dos biomarcadores CK-MB, hs-cTnI e NT-proBNP em casos severos e em casos fatais do que nos restantes casos. É de notar que é necessária uma monitorização meticulosa desses parâmetros porque na admissão hospitalar a maioria dos casos apresentavam valores normais de CK-MB, hs-cTnI e NT-proBNP, o que significa que alguns participantes desenvolveram lesão aguda do miocárdio durante a hospitalização (153).

Outro objetivo na monitorização dos biomarcadores cardíacos é compreender quais são as alterações que estão associadas a maior taxa de mortalidade. Para tal, um estudo utilizou dados de 144 participantes hospitalizados, não vacinados, em que foram observadas as seguintes taxas de mortalidade (124):

- i) 7,62% para sujeitos sem DCV pré-existentes e com os níveis séricos de cTnT normais;
- ii) 13,33% para sujeitos com DCV pré-existentes e com os níveis séricos de cTnT normais;
- iii) 37,50% para sujeitos sem DCV pré-existentes e com os níveis séricos de cTnT elevados;
- iv) 69,44% para sujeitos com DCV pré-existentes e com os níveis séricos de cTnT elevados.

Estes dados permitiram concluir que indivíduos com DCV pré-existente e valores elevados de cTnT durante o internamento têm pior prognóstico e maior probabilidade de morte. Do mesmo modo, indivíduos com condições pré-existentes a nível do SCV, mas com níveis séricos normais de cTnT têm um melhor prognóstico do que indivíduos sem condições pré-existentes, mas com níveis séricos de cTnT elevados. Foi observado, também, neste estudo que os participantes com DCV pré-existente tinham maior

probabilidade de apresentar cTnT elevado comparativamente com os sujeitos sem DCV pré-existente (54,5% vs. 13,2%) (124). É de notar que se observou que os níveis séricos de cTnT, neste estudo, demonstraram uma correlação linear positiva significativa com os níveis séricos da PCR e da NT-proBNP (124). Os níveis séricos do cTnT e do NT-proBNP sobem significativamente durante o internamento, em comparação com os níveis aquando da admissão, em indivíduos que acabam por falecer, em comparação com os que sobrevivem (124). Observou-se, também, que utentes com valores séricos de cTnT elevados sofrem mais frequentemente arritmias malignas (124). Para além disso, verificou-se que o cTnI se encontrava ligeiramente aumentado em casos ligeiros e significativamente elevado em casos severos de COVID-19 (99). No mesmo artigo observou-se a correlação do aumento das cTn com a necessidade de ventilação, quer invasiva quer não invasiva (99). Assim, os biomarcadores cardíacos devem ser avaliados em casos com COVID-19 e DCV pré-existentes a fim de, potencialmente, avaliar o risco e antecipar as necessidades dos internados, podendo levar uma intervenção mais célere e “agressiva” (99,156). Especificamente, quanto ao NT-proBNP, este encontra-se frequentemente elevado em casos de COVID-19 severos e em casos que apresentam lesão do miocárdio, pelo que, conseqüentemente, está também associado ao aumento da mortalidade (81,154,157). Esta associação pode ser considerada como um fator de risco independente, uma vez que se mantém mesmo depois do ajuste dos valores de NT-proBNP para outros fatores que influenciam este parâmetro, como por exemplo a insuficiência cardíaca crónica e aguda (157). Concluiu-se, ainda, que valores de NT-proBNP que elevem mais do que 88,64 pg/mL durante o internamento conseguem prever o risco de morte com uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 66,67% (152)

Dos vários estudos realizados, de modo a compreender melhor a patogenicidade do vírus, refira-se o realizado por Siddqi *et al.* que correlaciona a quantidade de vírus em circulação no sangue com as alterações dos biomarcadores cardíacos (158). Neste artigo foram estudados 70 indivíduos, não vacinados, internados com COVID-19, em que 21 (30%) tinham uma viremia detetável (>40 RNA cópias/mL) e foram classificados como grupo de viremia (158). Os indivíduos do grupo de viremia eram significativamente mais idosos do que os do grupo sem viremia. Todos os participantes durante a hospitalização com viremia tinham hs-cTnT (≥ 6 ng/mL), contrariamente aos utentes sem viremia (59%). Foi observada, em 76% dos indivíduos com viremia e 38% dos sem viremia, lesão do miocárdio, caracterizada por hs-cTnT ≥ 14 ng/mL. Indivíduos hospitalizados com

COVID-19, com viremia detetável, têm uma prevalência significativamente superior de hs-cTnT elevado e de lesão do miocárdio, em comparação com casos sem viremia, criando assim um quadro com pior prognóstico (158).

Durante os estudos relacionados com a infecção SARS-CoV-2, foi-se percebendo que ocorria com frequência aumento da cTn na ausência de uma doença obstrutiva da artéria coronária, sendo esse fenômeno denominado Síndrome cardiovascular agudo do COVID-19 (SCVCoV) (29). Contudo, existe uma grande discrepância na frequência dessa condição, tendo sido observado entre os 9,9% e os 32%. (29,72). O aumento do NT-proBNP é independente das alterações do cTn (29,67). Nos casos severos, também se observaram mais frequentemente casos de desenvolvimento de lesão aguda do miocárdio, que por sua vez estão relacionados com maior mortalidade (81). Num estudo realizado em Itália, 37,5% dos 397 casos de COVID-19 apresentavam NT-proBNP elevado e 23% o NT-proBNP e hs-cTnI elevados (154). Casos com níveis mais elevados de hs-cTnI, NT-proBNP, ou de ambos, são indicativos de pior prognóstico, com maior taxa de mortalidade (160). Nos casos severos também se observou, mais frequentemente, desenvolvimento de lesão aguda do miocárdio (160).

É de notar, no entanto, que as mesmas alterações dos vários biomarcadores e os seus significados não são concordantes em toda a literatura que foi analisada. No estudo de Donoso-Navarro *et al.*, em que se comparou os valores médios de casos de COVID-19 internados na UCI vs não internados na UCI, só se observou uma diferença significativa nos parâmetros de CK e LDH. Não foi observada uma diferença significativa entre os valores séricos de cTnI, NT-proBNP, PCR e IL-6 (161). No entanto, observou-se uma diferença significativa nos parâmetros cTnI e IL-6 quando se compara os valores mais alterados entre os participantes internados na UCI vs não internados na UCI (161). Quanto aos sobreviventes vs não sobreviventes, foi obtida uma diferença significativa nos parâmetros CK, cTnI, LDH e NT-proBNP (161).

Outro biomarcador importante correlacionado com a severidade e o prognóstico é o CK-MB. No estudo de Zinellu *et al.* que juntou 11971 participantes com COVID-19 de 55 estudos diferentes foi observado que os valores séricos de CK-MB eram significativamente mais elevados e mais prevalentes em participantes com patologia mais severa ou em não sobreviventes da doença (162). Outro biomarcador menos descrito, mas que também se mostrou importante, foi a Mb. No estudo de Yu *et al.* em que participaram 1229 indivíduos observou-se que a Mb desempenhou um papel importante como

biomarcador de prognóstico de mortalidade intra-hospitalar do que a hs-cTnI e o CK-MB (163). Essa situação foi inesperada, visto que a Mb é um marcador cardíaco não específico que também é expresso no musculo esquelético, pelo que não se esperaria que desse maior precisão de prognóstico do que biomarcadores cardíacos específicos, como a hs-cTnI e o CK-MB (163).

Os níveis de biomarcadores inflamatórios, como PCR, estão associados com o aumento cTn em indivíduos com COVID-19, sugerindo uma ligação entre o estado inflamatório e lesões do miocárdio (105). Essa ligação é suportada pelo estudo realizado por Vallabhajosyula S. *et al.* a 416 casos COVID-19 em que relatou que o valor da PCR está aumentado normalmente em casos com o cTn elevado (164). A PCR pode servir como um pré-aviso de lesão cardíaca, visto que ocorre antes da elevação da cTn, contrariamente à IL-6 (outro biomarcador de inflamação) cujo aumento só ocorre depois do aumento da cTn (164). Devido à correlação positiva da elevação da PCR com a lesão pulmonar nos momentos iniciais da infecção por SARS-CoV-2, níveis elevados da PCR podem também ser utilizados para diagnóstico precoce de uma pneumonia por SARS-CoV-2 (99). Relativamente ao biomarcador inflamatório cardíaco não específico LDH, observou-se que quando este está elevado a probabilidade desenvolver um quadro clínico de COVID-19 mais grave aumenta 6 vezes e a probabilidade de mortalidade do indivíduo aumenta 16 vezes (99). A expressão do CK-MB, do LDH e da Mb estão notavelmente elevadas em casos severos e em não sobreviventes, podendo ser utilizadas para monitorização (78,81,99,160). Alguns casos melhoram e os valores dos biomarcadores cardíacos normalizam, enquanto em outros casos mais severos os marcadores cardíacos continuam a aumentar e resultam irreversivelmente em morte, sendo, portanto, indicativos de mau prognóstico (100).

Relativamente aos biomarcadores cardíacos observou-se na revisão da literatura um consenso que os parâmetros a detetar na admissão dos utentes com COVID-19 devem ser: hs-cTnI, hs-cTnT, NT-proBNP, LDH, CK-MB. Estes marcadores permitiram prever o prognóstico e ajuste de terapêutica, sendo prudente a sua determinação ser realizada aquando da admissão dos utentes e durante o seu internamento (99,105,154,160–163).

5.2 Biomarcadores inflamatórios

Tal como foi referido anteriormente, pensa-se que durante uma infeção por SARS-CoV-2 ocorra uma resposta exagerada pelo SI, criando o que é denominado por ‘Tempestade de Citocinas’ que está associada com choque séptico e com STC (165). Relativamente à IL-6, encontra-se mais elevada em não-sobreviventes e quanto mais prolongada no tempo for essa elevação, pior o prognóstico (105). No estudo efetuado por Udomsinprasert W. *et al.* foram analisados 6212 casos de COVID-19, severos e não severos, todos não vacinados, de 24 estudos independentes, de modo a compreender as alterações dos valores de IL-6, IL-10 e TNF α que estão relacionados com a estimulação do SI. Todos os parâmetros descritos estavam aumentados tanto nos casos severos como não severos. No entanto, os valores da IL-6 e da IL-10 apresentavam-se significativamente mais elevados, com uma diferença média de 18,63 pg/mL e de 2,16 pg/mL, respetivamente, nos casos severos e nos casos não severos; essa diferença não foi observado no TNF α (166). Verificou-se, também, um aumento significativo da IL-6, da IL-10 e do TNF α com uma diferença média de 57,82 pg/mL, de 4,94 pg/mL e de 5,60 pg/mL, respetivamente, nos casos fatais de COVID-19 relativamente aos não fatais (166). As alterações dos valores desses biomarcadores entre os casos severos e não severos e os casos fatais e não fatais comprova a sobre-estimulação do SI pelo SARS-CoV-2 e que é razoável utilizar os biomarcadores IL-6 e IL-10 na monitorização e como indicadores de mau prognóstico (166). Tal é suportado pelo estudo de Donoso-Navarro *et al.* em que em 546 casos de COVID-19 se observou uma diferença significativa no parâmetro IL-6 entre casos na UCI *vs* não UCI e sobreviventes *vs* não sobreviventes (161). Ainda, a análise realizada por Huang H. *et al.*, que envolveu 41 casos, refere que os valores de TNF α , IL-10 e IL-6 nos casos internados na UCI são significativamente superiores aos casos não internados na UCI (146).

Relativamente aos biomarcadores inflamatórios observou-se na revisão da literatura um consenso que os parâmetros a detetar na admissão dos utentes com COVID-19 devem ser: IL-6, IL-10 e TNF α . A motivação é semelhante à usada para justificar os biomarcadores cardíacos: estes biomarcadores inflamatórios permitiriam, de igual modo, efetuar um prognóstico e permitir um ajustamento da terapêutica mais adequada, sendo prudente que a sua medição seja realizada aquando da admissão dos utentes e durante o seu internamento (146,165–167).

5.3 Biomarcadores de coagulação

Como descrito anteriormente, foram observados casos com alteração da coagulação durante uma infecção por SARS-CoV-2, sendo, portanto, prudente a monitorização de biomarcadores desta valência (115). Dos vários biomarcadores da coagulação disponíveis, os mais descritos na literatura (e nos quais me foco nesta revisão) são o D-Dímero, o TP, o TPPA, o Factor I e o FvW.

De todos os parâmetros da coagulação analisados, o mais estudado foi o D-Dímero. No caso de uma infecção por SARS-CoV-2 este encontra-se aumentado e pensa-se que esse aumento advém da ativação da coagulação e da fibrinólise *in vivo* (115). Contudo, num estudo sobre a análise da origem dos D-Dímeros no COVID-19 realizado por Zhou *et al.*, é defendido que a origem do seu aumento é devida à degradação da fibrina acumulada nos alvéolos, causada por lesão pulmonar (168). O D-Dímero produzido nos pulmões entra na circulação sanguínea, onde é detetado, correlacionando-se com a extensão da lesão pulmonar (115). É de referir, no entanto, que ainda não há consenso na literatura sobre esta questão.

Valores elevados de D-Dímeros têm sido observados em casos severos, com necessidade de internamento na UCI, sendo superiores relativamente aos casos não severos de COVID-19 (60% vs 43%) (99,132). Quanto mais elevado o valor sérico de D-Dímeros maior a probabilidade de morte durante uma infecção por SARS-CoV-2, como se verificou no estudo de Bielecka-Dabrowa *et al.* em que 81% dos não sobreviventes vs 24% dos sobreviventes têm os valores de D-Dímeros $>1 \mu\text{g/mL}$ (152). Esta relação também é observada no estudo de Tang *et al.* em que os valores séricos de D-Dímeros são quase 3,5 vezes superiores nas vítimas mortais do que nos casos não mortais (2,1 vs 0,6 mg/L) (169). Zhou *et al.*, num estudo retrospectivo com 191 participantes (137 sobreviventes e 54 não sobreviventes) hospitalizados com COVID-19, não vacinados, em Wuhan, descreveram que o valor de D-Dímeros durante a admissão era superior no grupo das vítimas mortais do que nos sobreviventes (5,2 vs 0,6 mg/L) (170). Esta tendência é ainda suportada por uma revisão de vários estudos independentes, onde se analisaram 553 casos (22% nos cuidados intensivos) de não vacinados, onde se observou que um valor de D-Dímeros superior a 3,0 mg/L permitiu identificar casos críticos (171), podendo ser utilizado como indicativo de prognóstico. Por fim, isto é ainda sustentado pelo estudo de Donoso-Navarro *et al.*, com 546 participantes não vacinados, que numa análise

comparativa de sobreviventes vs não sobreviventes observou uma diferença significativa nos teores de D-Dímeros (161).

É de notar, no entanto, que num estudo realizado por Juneja G. *et al.* (que comparou resultados de 14 sujeitos na UCI infetados por SARS-CoV-2 com 14 sujeitos na UCI não infetados por SARS-CoV-2 e com 14 controlos saudáveis) se observou que, apesar de valores elevados de D-Dímeros estarem associados com a doença COVID-19, não estão com a mortalidade da doença (151). Esta discordância é ainda suportada pelo estudo de Al Otair H. *et al.*, que ao comparar casos internados com COVID-19 e casos internados sem a patologia, não observou uma diferença significativa nos valores séricos de D-Dímeros, TP e TPPa (172).

Numa pesquisa de Andrianto *et al.* foi estudado o Antigénio do Fator de von Willebrand (AgFvW) com o intuito de detetar o Fator de von Willebrand (FvW), de modo a perceber as alterações sofridas pelo endotélio durante uma infeção por SARS-CoV-2 (155). Neste estudo foram analisados 1187 casos de COVID-19, de pessoas não vacinadas, de 17 estudos diferentes. Foi estimado que o valor médio de FvW em indivíduos infetados por SARS-CoV-2 era significativamente superior ao controlo de pessoas saudáveis, sendo particularmente mais elevado em casos fatais. Esta meta-análise mostrou que o valor elevado do AgFvW, característica peculiar e específica da infeção por SARS-CoV-2 presente logo no início da infeção, está relacionado com um pior prognóstico (155,172).

Uma das patologias de coagulação mais envolvidas em casos fatais de COVID-19 é a CID, ocorrendo em 71,4% dos casos. Contudo, a CID desenvolvida por uma infeção por SARS-CoV-2 tem sido reportada como inconstante ao longo do desenvolvimento da doença, sendo prudente uma regulação constante dos valores de coagulação (115,173). As trombozes observadas em casos de COVID-19 têm sido tanto macrotrombozes como microtrombozes, sendo necessários parâmetros de coagulação para diagnóstico do segundo tipo (115)

Relativamente aos biomarcadores de coagulação observou-se na revisão da literatura um consenso que os parâmetros a detetar na admissão dos utentes com COVID-19 deve ser o D-Dímero. A justificação passa por este ser o único biomarcador que demonstra alterações significativas quanto ao prognóstico e mortalidade, apesar de ainda haver contradição na literatura quanto à relevância deste indicador. (115,151,161,169–172,174,175).

5.4 Prognóstico associado à infecção pelo SARS-CoV-2 a nível do Sistema Cardiovascular

Devido à escala da população a nível mundial infetada, é importante ter noção das implicações a médio e longo prazo de uma infecção por SARS-CoV-2, apesar da pouca informação disponível neste momento. Do que tem sido reportado até à data, existem evidências de possíveis consequências da infecção COVID-19 a médio e longo prazo devido às implicações das infeções causadas por outros vírus antecedentes da mesma família do SARS-CoV-2. Um estudo que acompanhou 25 indivíduos recuperados de SARS-CoV durante 12 anos revelou que 68% desenvolveu hiperlipidemia, 44% desenvolveu DCV e 60% desenvolveu distúrbios do metabolismo da glucose em comparação com um grupo de controlo que nunca foi infetado por esse vírus. Dado que o SARS-CoV-2 possui uma estrutura e patogenicidade muito similar ao SARS-CoV supõe-se que terá, igualmente, implicações a longo prazo (125).

Até à data as informações disponíveis sobre os efeitos a longo prazo do COVID-19 a nível do SCV não são claras. Contudo, já são observados casos patológicos mesmo após a infecção ativa por SARS-CoV-2. Os casos patológicos são definidos tendo em conta o tempo após a infecção ativa do vírus em que, ainda, estão presentes sintomas.

- Pós Síndrome Aguda de COVID-19 (PSAC): sintomatologia persistente passado 3 a 4 semanas após a infecção ativa por SARS-CoV-2 (176).
- COVID-19 crónico: sintomatologia persistente passado 12 semanas ou 3 meses após a infecção ativa por SARS-CoV-2 (176).

Na literatura disponível não existe muita concordância quanto ao tempo de persistência de sintomatologia e consequências a médio e longo prazo por uma infecção por SARS-CoV-2. Num estudo realizado por Seeβle *et al.* avaliou-se a frequência e o tipo de sintomas expressos por um grupo de 96 recuperados de COVID-19 que foram questionados passados 5, 9 e 12 meses após a fase aguda da infecção. A 5 e a 12 meses após o início de sintomas por SARS-CoV-2, só 22,9% dos participantes ficou completamente livre de sintomas de COVID crónico (177). Quanto à frequência dos sintomas, entre os 5 e 12 meses, não foi reportada nenhuma diferença significativa. Foi observado que as pessoas com maior probabilidade de desenvolver COVID crónico são as que tiveram mais sintomas durante a fase aguda da infecção (177). Os sintomas mais

frequentemente reportados após 12 meses após a resolução da infecção por SARS-CoV-2 foram: redução da capacidade física, dispneia, sendo este o sintoma mais recorrente em vários outros estudos, fadiga, problemas de concentração, problemas a encontrar palavras e distúrbios de sono(177,178). Contudo, pelo menos, os últimos quatro sintomas são compatíveis com problemas relacionados com ansiedade generalizada e depressão, o que tem sido observado no decorrer da pandemia (179). Porém, apesar de existir a vertente psicológica nos sintomas dos sobreviventes, não se podem ignorar os riscos aumentados a que estes indivíduos estão sujeitos. Foi observado, num estudo no Reino Unido, que os indivíduos recuperados de COVID-19 apresentavam maior risco de readmissão hospitalar e maior risco a todas as causas de morte, sendo que 1 em cada 10 casos morreu após alta hospitalar, uma taxa 4 a 8 vezes superior ao grupo de controlo (180). Verificou-se, também, que a taxa de doenças respiratórias, diabetes e doenças cardiovasculares neste estudo foram significativamente superiores em casos com COVID-19 (180). É de notar que, em contraste com o estudo anterior realizado por Seeßle *et al.*, não foram reportados neste estudo nenhum dos sintomas referidos como fadiga, problemas de concentração, problemas em encontrar palavras e/ou distúrbios de sono. No estudo de Kanjwal *et al.*, durante 6 meses não foi observada diferença significativa nos eventos cardíacos entre o grupo de recuperado de COVID-19 e o grupo controlo (181).

Quanto aos valores dos biomarcadores cardíacos 2 meses após a fase aguda da infecção, um estudo de Lassen *et al.* observou uma descida significativa de NT-proBNP (177,6 ng/L vs 11,7 ng/L) sendo que nenhum dos participantes apresentava as cTn elevadas na sua segunda visita, apesar de se ter observado, em 27,7% deles, o seu aumento durante a hospitalização (182).

Adicionalmente, num estudo que acompanhou, durante 6 meses, 74 profissionais de saúde seropositivos assintomáticos ou com sintomatologia leve, e que foram comparados com 75 controlos seronegativos, não foi detetada diferença na estrutura cardíaca nem nos biomarcadores cardíacos entre os dois grupos (183).

Num outro estudo, apesar de tanto os casos com e sem lesão cardíaca estarem dentro dos VR passado 6 meses, os casos com lesão cardíaca apresentaram níveis séricos médios mais elevados de hs-cTnI, LDH e NT-proBNT (184). Relativamente ao envolvimento cardíaco, foi observado que este se manteve passados 2 e 6 meses (182,184). Casos com lesão cardíaca durante a hospitalização tinham maior predisposição a desenvolverem fibrose cardíaca durante a recuperação (184). Contudo, na literatura, apesar de pouco

comum, é observada a ocorrência do aumento das cTn em casos de COVID-19 crônico associado a fadiga (185).

Foram ainda observados, na literatura, valores elevados dos biomarcadores D-Dímeros e PCR (em 30,1% e 9,5% dos participantes, respectivamente), que são indicativos de risco de desenvolvimento de trombozes, sendo mais comuns em sobreviventes COVID-19 que desenvolveram persistência de sintomas (185,186). A razão dos valores elevados desses biomarcadores não é compreendida até à data. Essa discordância sugere que há desenvolvimento de mecanismos diferentes aos que ocorrem na fase aguda da infecção (176). Valores elevados de D-Dímeros, IL-6 e PCR, passado 2 meses da alta hospitalar, estão, segundo Yong *et al.*, associados a lesões pulmonares. Valores elevados de D-Dímeros em circulação no sangue foram descritos como fatores de risco nos sobreviventes de COVID-19 após 3 meses da alta hospitalar (185). Estas alterações nos níveis de D-Dímeros e PCR aparecem consistentemente em vários estudos, podendo tornar-se biomarcadores potenciais de COVID-19 crônico (185). O estudo de Mei Z. *et al.*, que avaliou indivíduos recuperados de COVID-19 após 3 meses da alta hospitalar, relatou que o TNF α está positivamente correlacionado com todas as características clínicas anormais (104). Essa análise sugere que um estado inflamatório não resolvido pode explicar a fisiopatologia do COVID-19 crônico.

Assim, os sintomas apresentados por sobreviventes da infecção por SARS-CoV-2 podem ser tanto do foro psicológico como físico. No entanto, as várias alterações observadas tanto a nível das estruturas cardíacas como dos vários biomarcadores necessitam de um estudo mais aprofundado de modo a esclarecer os mecanismos subjacentes após infecção e as suas consequências.

6. Conclusão

Este trabalho teve como objetivo efetuar uma revisão da literatura sobre potenciais Alterações Cardiovasculares associadas à infecção por SARS-CoV-2 e as suas possíveis implicações a curto, médio e longo prazo. A resposta à pergunta implícita no tema de estudo deste trabalho, nomeadamente, “Terá o SARS-CoV-2 implicações sobre o Sistema Cardiovascular?” parece ser positiva, uma vez que a literatura existente até à data parece suportar, na sua maioria, a existência de implicações da infecção por SARS-CoV-2 a nível do SCV, principalmente durante a fase aguda da infecção.

As principais causas identificadas de lesão do SCV aquando da infecção por SARS-CoV-2 são: i) lesão direta de células pelo vírus (inclusive células do SCV), ii) resposta imunológica exuberante causada pela lesão direta de células pelo vírus, o que pode levar a maior lesão do tecido do próprio sujeito infetado e iii) a ativação da cascata de coagulação, que pode levar ao desenvolvimento de CID.

Todas as causas de lesão do SCV descritas devem ser monitorizadas de modo a melhorar o tratamento do sujeito com COVID-19. Para essa monitorização foram revistos na literatura os biomarcadores relacionados com as alterações, sendo esses os biomarcadores cardíacos, inflamatórios e de coagulação. Com base na revisão de literatura os biomarcadores das várias valências que proponho sejam utilizados são: hs-cTnI, hs-cTnT, NT-proBNP, LDH, CK-MB, IL-6, IL-10, TNF α e D-Dímeros.

É de notar que, dado o ainda recente aparecimento do vírus SARS-CoV-2, a informação em que esta revisão de literatura se baseia é limitada não havendo, ainda, consenso total, sendo, por isso, imperativo a continuação do seu estudo para que as implicações cardiovasculares do vírus SARS-CoV-2 possam ser melhores compreendidas.

Parte D - Bibliografia

1. Abdollahi A, Saffar H, Saffar H. Types and frequency of errors during different phases of testing at a clinical medical laboratory of a teaching hospital in Tehran, Iran. *North American Journal of Medical Sciences*. 2014;6(5):224–8.
2. Bayot ML, Tadi P. Laboratory Tube Collection. NCBI [Internet]. 2021; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555991/>
3. Brunzel NA. Fundamentals of Urine and Body Fluid Analysis [Internet]. Fourth. ELSEVIER, editor Minneapolis, Minnesota; 2018. 18–359 p. Available from: https://books.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=_D5yDQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=types+of+urine+containers+analysis&ots=Y2H8uX2MqH&sig=zB_hJxIj8fS5iCjKKgSNOzZDWQ&redir_esc=y#v=onepage&q=types of urine containers analysis&f=false
4. Deltalab Group. Sawbs Do you know all the models? [Internet]. [cited 2022 Mar 24]. Available from: <https://www.deltalab.es/en/productes/do-you-know-all-the-types-of-swabs/>
5. Helicobacter pylori - Teste Respiratório | 1949 [Internet]. Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa. 2021 [cited 2022 Mar 22]. Available from: <https://www.germanodesousa.com/analises-clinicas/30250/>
6. Harmony® Rastreio Pré-Natal [Internet]. Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa. 2022 [cited 2022 Mar 23]. Available from: https://www.germanodesousa.com/areas-clinicas/harmony-prenatal-test/?gclid=CjwKCAjwrfCRBhAXEiwAnkmKmflyL-UHogDJb8QxyBncbj3Rr_2I5RayokiruZENEJwNQ8DoYV6uBoC3vIQAvD_BwE
7. SYSMEX - Lighting the way with diagnostics. Analisadores hematológicos automatizados Sysmex® Série-XN [Internet]. 2021 [cited 2021 Jun 27]. Available from: <https://www.sysmex.com/la/PT/Products/Hematology/XNSeries/Pages/XN-Series-Hematology-Analyzers.aspx>
8. Adan A, Alizada G, Kiraz Y, Baran Y, Nalbant A. Flow cytometry: basic principles and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2017;37(2):163–76.
9. CMLGS. Procedimento de Validação de Resultados Interno - Hemograma. 2015.
10. Diesse Diagnostica Senene SpA. Manual Operativo – Vesmatic Cube 200 [Internet]. 2000 [cited 2022 Jun 25]; Available from: <https://www.yumpu.com/da/document/view/51602984/ves-matic-cube-200-manuale-operativo-ver-222-rev-22-de/2>
11. CMLGS. Procedimento de Validação de Resultados Interno - Velocidade de Sedimentação. 2015.
12. Diagnostics AM. Premier Hb9210 Manual [Internet]. 2014;1–8 [cited 2022 Jun 25]. Available from: chrome-

- extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.trinitybiotech.com/wp-content/uploads/2015/02/Premier-Hb9210-Brochure-2016.pdf
13. Hbac G. Laboratory procedure manual, Glycohemoglobin (HbA1c). Abstracts of Hospital Management Studies. 2018;13(2):1–24.
 14. CMLGS. Procedimento de Validação de Resultados Interno - HbA1C. 2015.
 15. SEBIA. Capillarys Hemoglobin Using the Capillarys 2 Flex-Piercing Instrument. 2013;92–103. Available from: www.iproweb.fr/test/3-20AU-SOL/SEBIA-CAPILLARYS-2/MANUAL-2.pdf
 16. CMLGS. Procedimento de Validação de Resultados Interno - Eletroforese de Hgb. 2015.
 17. The Johns Hopkins Hospital, Keith K, Lauren M, Molloy M. Hematology. In: Kleinman; K, Molloy; M, Mcdaniel L, editors. The Harriet Lane Handbook. 22nd ed. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2021.
 18. Diggs LW, Walker R. A Solubility Test for Sickle Cell Hemoglobin. Laboratory Medicine [Internet]. 1973;4:27–36. Available from: <https://academic.oup.com/labmed/article-abstract/4/10/27/2640448?redirectedFrom=PDF>
 19. CMLGS. Procedimento de Validação de Resultados Interno - Imunohematologia. 2015.
 20. Multicentre Evaluation of the new ORTHO VISION® analyser [Internet]. England: Transfusion Medicine; 2017. p. 354–61. Available from: <http://jcm.asm.org/content/early/2015/01/08/JCM.02674-14.full.pdf>
 21. CMLGS. Procedimento de Validação de Resultados Interno - Técnicas Manuais Hematologia. 2016.
 22. Rodak; BF, Fritsma; GA, Doig K. Intracorpuscular Defects Leading to Increased Erythrocyte Destruction, editor. Hematology: Clinical Principles and Applications [Internet]. 3rd ed. Missouri: Elsevier; p. 291–2. Available from: https://books.google.pt/books?id=6sfacydDNsUC&pg=PA291&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
 23. Motyckova G, Murali M. Laboratory testing for cryoglobulins. American Journal of Hematology [Internet]. 2011;86(6):500–2. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ajh.22023>
 24. B. R. Practice Parameter—The Lupus Erythematosus Cell Test: An Obsolete Test Now Superseded by Definitive Immunologic Tests. In: American Journal of Clinical Pathology [Internet]. 1st ed. 101: American Journal of Clinical Pathology; 1994. p. 65–6. Available from: <https://academic.oup.com/ajcp/article-abstract/101/1/65/1755060?redirectedFrom=fulltext&login=false#no-access-message>
 25. SYSMEX. Sysmex CS-2000i/CS-2100i Systems [Internet]. 2019 [cited 2021 Jun 3]. Available from: <https://www.siemens-healthineers.com/hemostasis/systems/sysmex-cs-2000i>
 26. SYSMEX. Sysmex CS-5100 System [Internet]. 2019 [cited 2021 Jun 3]. Available from: <https://www.siemens-healthineers.com/hemostasis/systems/sysmex-cs-5100-system>
 27. CMLGS. Procedimento de Validação de Resultados Interno - Coagulação Rotina. 2015.

28. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Urina Assética. 2016.
29. bioMérieux. CHROMID® CPS® Elite [Internet]. Available from: <http://www.biomerieux-culturemedia.com/product/9-chromid-cps-elite>
30. Mandracchia VJ, Hayes DW, Yoho RM, Hayes MF. Diagnosis, Differential and Treatment Options. *Nature Reviews Microbiology* [Internet]. 2000;13(March):269–84. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4457377/pdf/nihms691311.pdf>
31. Yu VL, Raoult RWD. Antimicrobial Therapy and Vaccines, Volume 1: Microbes [Internet]. Second. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; 2003. 54–740 p. Available from: <https://doi.org/10.1093/jac/dkg432>
32. bioMérieux. VITEK® MS [Internet]. 2022 [cited 2022 Mar 29]. Available from: <https://www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-r-ms-0>
33. Hillenkamp, Franz; Karas, Michael; Beavis, Ronald; Chait BT. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry of Biopolymers [Internet]. Germany; 1991. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac00024a716>
34. bioMérieux. Mycoplasma IST 2 [Internet]. 2012 [cited 2022 Mar 29]. Available from: <https://www.biomerieux.co.uk/product/mycoplasma-ist-3>
35. Song L le, Li YM. Current noninvasive tests for colorectal cancer screening: An overview of colorectal cancer screening tests. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2016;8(11):793–800.
36. Nal von Minden GmbH. NADAL FOB Test. 2015;(244):31. Available from: <https://fgmdiagnostici.it/files/16.pdf>
37. Epitope Diagnostics. Fecal Ova/Parasite Concentration Kit. 2014;1. Available from: <https://static1.squarespace.com/static/52545951e4b021818110f9cf/t/540a12d3e4b03fd146a40190/1409946323775/FPC200+Insert+50+tests+v2.pdf>
38. Laborclin. Lugol Forte (Parasitologia). 2019;1–3. Available from: www.laborclin.com.br
39. Briand H, Yin C, Hong W, Rivoiron S. Rapid detection of *H. pylori* Ag in human stool with the new bioNexia® *H. pylori* Ag test. *European Helicobacter Microbiota Study Group*. 2015;
40. Allen ME. MacConkey Agar Plates. 2005;1–2. Available from: <http://www.asmscience.org/content/education/imagegallery/image.2850>
41. Becton, Dickinson and Company. BD Hektoen Enteric Agar (HE Agar). 2013;1–3. Available from: <http://www.bd.com>
42. Becton, Dickinson and Company. BBL Selenite-F Broth. BBL Selenite-F Broth [Internet]. 2015 [cited 2022 Jan 10].;1–4. Available from: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22759>
43. bioMérieux. CASA agar [Internet]. 2022 [cited 2022 Mar 31]. Available from: <http://www.biomerieux-culturemedia.com/product/65-casa-agar>
44. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Coprocultura. 2014.

45. Biopharm. RIDA® QUICK Campylobacter. 2017;49(0). Available from: https://clinical.r-biopharm.com/wp-content/uploads/2012/06/n2403_ridaquick-campylobacter_2017-11-27_lang_ptbr.pdf
46. Rao GG, Khanna P. To screen or not to screen women for Group B Streptococcus (*Streptococcus agalactiae*) to prevent early onset sepsis in newborns: recent advances in the unresolved debate. Vol. 7, Therapeutic Advances in Infectious Disease. 2020.
47. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Exsudato Vaginal. 2014.
48. BD Diagnostics. Instruções de Utilização - BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (Placas prontas para usar). 2013;1–4. Available from: <http://www.bd.com>
49. BD Diagnostics. BD Sabouraud Glucose Agar. 2009;1–5. Available from: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9079>
50. MBIolog Diagnósticos. Caldo Todd Hewitt. 2014;1. Available from: http://www.mbiolog.com.br/?page_id=1452%5Cnhttp://www.mbiolog.com.br/productos/Caldo_Todd_Hewitt.pdf%5Cnhttp://www.mbiolog.com.br/site/wp-content/uploads/2013/12/Bula-Caldo-Todd-Hewitt-vs02.pdf
51. Becton, Dickinson and Company. BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium). Instruções de utilização-Meios em placas prontos a usar. 2013;5.
52. bioMérieux. Chocolate PolyViteX VCAT3 - Ref. 43611 [Internet]. 2022. [cited 2022 Mar 31]. Available from: <http://www.biomerieux-culturemedia.com/product/50-chocolate-agar-polyvitex-vcat3>
53. bioMérieux. Chocolate PolyViteX [Internet]. 2022. [cited 2022 Mar 31]. Available from: <http://www.biomerieux-culturemedia.com/product/27-chocolate-agar-polyvitex>
54. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Exsudato Uretral. 2016.
55. Procedimento Interno CMLGS - Exsudato Faríngeo. 2016.
56. Regoli M, Chiappini E, Bonsignori F, Galli L, Martino M de. Update on the management of acute pharyngitis in children [Internet]. Vol. 79, British Journal of Hospital Medicine. 2011. p. 1–7. Available from: <chrome-extension://dagcmkpagjlhakfdhnbomgmjdpkdklff/enhanced-reader.html?pdf=https%3A%2F%2Fbrxt.mendeley.com%2Fdocument%2Fcontent%2F2d8bd224-5d3e-30ab-8d04-ee6c74dd6530>
57. BIOSYNEX® STREP A Immunochromatographic rapid test for qualitative detection of Group A Streptococcus antigens in throat Kit content. :2–3.
58. Becton DG. BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. Media [Internet]. 2013;(June):2–5. Available from: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9063>
59. Fried MP. Faringite.pdf [Internet]. Manual MSD. 2020 [cited 2022 Mar 31]. Available from: <https://www.msdmanuals.com/pt-pt/profissional/distúrbios-do-ouvido,-nariz-e-garganta/abordagem-ao-paciente-com-sintomas-nasais-e-faríngeos/faringite#>
60. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Exsudato de Feridas. 2016.
61. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Cateter. 2016.

62. CMLGS. Procedimento de Validação de Resultados Interno - Cateter. 2016.
63. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Pus. 2016.
64. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Líquido Pleural. 2016.
65. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - LCR. 2016.
66. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Hemocultura. 2016.
67. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Biopsia. 2016.
68. CMLGS. Procedimento Interno CMLGS - Esperma. 2016.
69. World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention U.S Clinical and Laboratory Standards Institute. Laboratory Quality Management System. 2011.
70. Kinns H, Pitkin S, Housley D, Freedman DB. Internal quality control: best practice. *BMJ Journal* [Internet]. 2013 [cited 2022 Mar 31]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24072731/>
71. WHO/CDC/CLSI. Overview of External Quality Assessment (EQA): module 10, content sheet 10-1. WHO, Geneva, Switzerland [Internet]. 2016 [cited 2022 Mar 31] ;113–24. Available from: https://www.who.int/ihr/training/laboratory_quality/10_b_eqa_contents.pdf
72. Westgard J. Interpreting SQC Results using “Westgard Rules.” In: *Basic QC Practices: Training in Statistical Quality Control for Medical Laboratories*. 4th ed. Madison, Wisconsin: Westgard QC, Inc.; 2016. p. 77–88.
73. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [Internet]. 2020 [cited 2022 Mar 31] :1–17. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7723891/pdf/fcimb-10-587269.pdf>
74. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology* [Internet]. 2021 [cited 2022 Mar 31];19(3):141–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
75. Thiel V. *Coronaviruses: Molecular and Cellular Biology*. Kantonal Hospital St. Gallen, Research Department, Rorschacher str. 95, St. Gallen 9007, Switzerland: Caister Academic Press; 2007.
76. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) [Internet]. World Health Organization. 2019 [cited 2022 Apr 19]. Available from: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov))
77. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends in Immunology* [Internet]. 2020 [cited 2022 Apr 19];41(12):1100–15. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7556779/pdf/main.pdf>
78. Tajbakhsh A, Gheibi Hayat SM, Taghizadeh H, Akbari A, Inabadi M, Savardashtaki A, et al. COVID-19 and cardiac injury: clinical manifestations, biomarkers, mechanisms, diagnosis, treatment, and follow up. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* [Internet]. 2021;19(3):345–57. Available from: <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1822737>

79. Sanyal S. How SARS-CoV-2 (COVID-19) spreads within infected hosts - What we know so far. *Emerging Topics in Life Sciences*. 2020;4(4):383–90.
80. Nogueira T, Duarte M. Coronavírus dos animais e do Homem [Internet]. 2ª. Casa das Ciências, editor. Lisboa: Instituto Nacional Agrária e Veterinária, L.P.; 2021 [cited 2022 Apr 19]. 1–61 p. Available from: https://projects.inia.vpt/CORONAVIRUS/media/attachments/2021/11/20/coronavirus_pt2.pdf
81. Li JW, Han TW, Woodward M, Anderson CS, Zhou H, Chen YD, et al. The impact of 2019 novel coronavirus on heart injury: A Systematic review and Meta-analysis. Vol. 63, *Progress in Cardiovascular Diseases*. W.B. Saunders; 2020. p. 518–24.
82. Xie Y, Xu E, Bowe B, Al-Aly Z. Long-term cardiovascular outcomes of COVID-19. *Nature Medicine*. 2022;28(3):583–90.
83. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv* [Internet]. 2020 [cited 2022 Apr 19].; Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.07.937862v1.full.pdf>
84. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: Current knowledge. *Virology Journal*. 2019;16(1):1–22.
85. Hu Y, Wen J, Tang L, Zhang H, Zhang X, Li Y, et al. The M protein of SARS-CoV: basic structural and immunological properties. *Genomics, proteomics & bioinformatics / Beijing Genomics Institute*. 2003;1(2):118–30.
86. Pandemic THEA. Covid-19: uma pandemia anunciada. *Revista Científica da Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias do Instituto Politécnico de Castelo Branco* [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 19];67–77. Available from: http://revistahigeia.ipcb.pt/artigos_ed_covid/08_COVID_19_Uma_Pandemia_Anunciada.pdf
87. Gelderblom HR. Structure and Classification of Viruses. In: S B, editor. *Medical Microbiology* [Internet]. 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [cited 2022 Apr 19]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8174/>
88. Michel CJ, Mayer C, Poch O, Thompson JD. Characterization of accessory genes in coronavirus genomes. *bioRxiv* [Internet]. 2020 [cited 2022 Apr 19];1–13. Available from: <https://virologyj.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12985-020-01402-1.pdf>
89. WHO. Mask use in the context of COVID-19. *World Health Organization* [Internet]. 2020 [cited 2022 Apr 19]:1–10. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/advice-on-the-use-of-masks-in-the-community-during-home-care-and-in-healthcare-settings-in-the-context-of-the-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)-outbreak](https://www.who.int/publications/i/item/advice-on-the-use-of-masks-in-the-community-during-home-care-and-in-healthcare-settings-in-the-context-of-the-novel-coronavirus-(2019-ncov)-outbreak)
90. He J, Guo Y, Mao R, Zhang J. Proportion of asymptomatic coronavirus disease 2019: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Medical Virology*. 2021 Feb 1;93(2):820–30.

91. Adu-Amankwaah J, Mprah R, Adekunle AO, Ndzie Noah ML, Adzika GK, Machuki JO, et al. The cardiovascular aspect of COVID-19. *Annals of Medicine* [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 19]; 53(1):227–36. Available from: <https://doi.org/10.1080/07853890.2020.1861644>
92. Salepci E, Turk B, Ozcan SN, Bektas ME, Aybal A, Dokmetas I, et al. Symptomatology of COVID-19 from the otorhinolaryngology perspective: a survey of 223 SARS-CoV-2 RNA-positive patients. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 19].;278(2):525–35. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00405-020-06284-1>
93. Seeley, Rod; Stephens, Trend; Tate P. *Anatomia & Fisiologia*. In: 8^o. Lusociência; 2015. p. 667–801.
94. Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M. Sepsis, thrombosis and organ dysfunction. *Thrombosis Research* [Internet]. 2011;129(3):290–5. Available from: [https://www.thrombosisresearch.com/article/S0049-3848\(11\)00553-6/fulltext](https://www.thrombosisresearch.com/article/S0049-3848(11)00553-6/fulltext)
95. di Angelantonio E, Chowdhury R, Sarwar N, Ray KK, Gobin R, Saleheen D, et al. B-type natriuretic peptides and cardiovascular risk: Systematic review and meta-analysis of 40 prospective studies. *Circulation*. 2009 Dec;120(22):2177–87.
96. Khan S, Rasool ST, Ahmed SI. Role of Cardiac Biomarkers in COVID-19: What Recent Investigations Tell Us? Vol. 46, *Current Problems in Cardiology*. Mosby Inc.; 2021.
97. Chung MJ, Brown DL. Diagnosis of acute myocardial infarction. In: *Cardiac Intensive Care*. Elsevier; 2018. p. 91-98.
98. Kavsak PA, Hammarsten O, Worster A, Smith SW, Apple FS. Cardiac Troponin Testing in Patients with COVID-19: A Strategy for Testing and Reporting Results. *Clin Chem*. 2021;67(1):107–13.
99. Tabassum T, Rahman A, Araf Y, Ullah MA, Hosen MJ. Prospective selected biomarkers in COVID-19 diagnosis and treatment. Vol. 15, *Biomarkers in Medicine*. Future Medicine Ltd.; 2021. p. 1435–49.
100. Li L, Zhou Q, Xu J. Changes of Laboratory Cardiac Markers and Mechanisms of Cardiac Injury in Coronavirus Disease 2019. *BioMed Research International*. 2020;2020.
101. Hajar R. Evolution of myocardial infarction and its biomarkers: A historical perspective. *Heart Views*. 2016;17(4):167.
102. Ordway GA, Garry DJ. Myoglobin: An essential hemoprotein in striated muscle. Vol. 207, *Journal of Experimental Biology*. 2004. p. 3441–6.
103. Apple FS. A new season for cardiac troponin assays: It's time to keep a scorecard. Vol. 55, *Clinical Chemistry*. 2009. p. 1303–6.
104. Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *European Heart Journal* [Internet]. 2010 [cited 2022 Apr 19];31(18):2197–204. Available from: https://watermark.silverchair.com/ehq251.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAtAwggLMBgkqhkiG9w0BBwagggK9MIICuQIBADCCArI

GCSqGS1b3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMKIMSGDwdDSfkDSqdAgEQgIICgwy1At
InN-vke_slbaU8s6Spd2V-Q521DAX-CZgMlcBaLJRi

105. Gordon JS, Drazner MH. Biomarkers of Cardiac Stress and Cytokine Release Syndrome in COVID-19: A Review. Vol. 18, *Current Heart Failure Reports*. Springer; 2021. p. 163–8.
106. Weber M, Hamm C. Role of B-type natriuretic peptide (BNP) and NT-PROBNP in clinical routine. *Heart* [Internet]. 2006 [cited 2022 Apr 19].;92(6):843–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1860679/pdf/843.pdf>
107. Lott J, Abbott L. Creatine Kinase Isoenzymes. *Eletrophoresis of Serum Proteins and Isoenzymes*. 1986 Sep 3; 6:547–76.
108. Clement Markert BL, Moller F. MULTIPLE FORMS OF ENZYMES: TISSUE, ONTOGENETIC, AND SPECIES SPECIFIC PATTERNS*. Vol. 45, *Am. Acad. Arts and S&i*. 1959.
109. National Cancer Institute. Interleukin. NIH; 2022.
110. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Il-6 in inflammation, Immunity, And disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2014 Oct 1;6(10).
111. Subramanian Iyer S, Cheng G. Role of Interleukin 10 Transcriptional Regulation in Inflammation and Autoimmune Disease. 2012.
112. Haitham T. Idriss JHN. TNF α and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship(s). *Wiley Analytical Science*. 2000 Jul 6;
113. Parameswaran N, Patial S. Tumor Necrosis Factor- α Signaling in Macrophages. 2010.
114. Yale SH, Bray C, Bell LN, Liang H, Haykal R, Kaiksow F, et al. Erythrocyte Sedimentation Rate and C-reactive Protein Measurements and Their Relevance in Clinical Medicine [Internet]. Vol. 115. [cited 2022 Jan 10]. Available from: <https://wmjonline.org/wp-content/uploads/2016/115/6/317.pdf>
115. Asakura H, Ogawa H. COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *International Journal of Hematology*. 2021 Jan 1;113(1):45–57.
116. Arslan S, Ugurlu S, Bulut G, Akkurt I. The association between plasma d-dimer levels and community-acquired pneumonia. *Clinics*. 2010;65(6):593–7.
117. R MN, C PP. PROTHROMBIN TIME & INTERNATIONAL NORMALIZED RATIO IN PEDIATRIC LIVER DISEASE [Internet]. Vol. 2, *Journal of Global Biosciences*. 2013 [cited 2022 Jan 10]. Available from: <http://mutagens.co.in>
118. Little J, Falace DA, Miller CS, Rhodus NLR. Little and Falace’s Dental Management of the Medically Compromised Patient. In: Mosby, editor. *Acquired Bleeding and Hypercoagulable Disorders*. 8th ed. Elsevier Inc.; 2012. p. 409–36.
119. Randi AM, Laffan MA. Von Willebrand factor and angiogenesis: basic and applied issues. Vol. 15, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. Blackwell Publishing Ltd; 2017. p. 13–20.
120. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a

- descriptive study. *The Lancet* [Internet]. 2020 [cited 2022 Jan 10] ;395(10223):507–13. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
121. Chang, Wei-Ting; Toh, Han Siong; Liao, CHia-Te; Yu WL. Cardiac Involvement of COVID-19: A Comprehensive Review. *Elvesier*. 2020;(January).
 122. Puntmann VO, Carerj ML, Wieters I, Fahim M, Arendt C, Hoffmann J, et al. Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered from Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiology*. 2020;5(11):1265–73.
 123. Yu WL, Toh HS, Liao C te, Chang WT. Cardiovascular complications of covid-19 and associated concerns: A review. *Acta Cardiol Sin*. 2021;36(7):9–17.
 124. Guo T, Fan Y, Chen M, Wu X, Zhang L, He T, et al. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiology*. 2020 Jul 1;5(7):811–8.
 125. Adu-Amankwaah J, Mprah R, Adekunle AO, Ndzie Noah ML, Adzika GK, Machuki JO, et al. The cardiovascular aspect of COVID-19. *Annals of Medicine*. 2021;53(1):227–36.
 126. Ritter O, Kararigas G. Sex-Biased Vulnerability of the Heart to COVID-19. *ELSEVIER*. 2020;21(1):1–9.
 127. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian Journal of Pediatrics*. 2020;87(4):281–6.
 128. Tarke. SKKGSMSPSMC. View of Cardiovascular system and COVID-19_ perspectives from a developing country.pdf. *Monaldi Archives for Chest Disease* 2020 [Internet]. 2020 [cited 2022 Jan 10] ;90:1305:231–41. Available from: <https://doi.org/10.4081/monaldi.2020.1305>
 129. Ratchford SM, Stickford JL, Province VM, Stute N, Augenreich MA, Koontz LK, et al. Vascular Biology and Microcirculation Vascular alterations among young adults with SARS-CoV-2. 2021;(November 2020).
 130. Bojkova D, Wagner JUG, Shumliakivska M, Aslan GS, Saleem U, Hansen A, et al. SARS-CoV-2 infects and induces cytotoxic effects in human cardiomyocytes. *Cardiovascular Research*. 2020;116(14):2207–15.
 131. Luo J, Zhu X, Jian J, Chen X, Yin K. Cardiovascular disease in patients with COVID-19: Evidence from cardiovascular pathology to treatment. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2021;53(3):273–82.
 132. García-Ortega A, de La Rosa D, Oscullo G, Castillo-Villegas D, López-Reyes R, Martínez-García MÁ. Coagulation disorders and thromboembolic disease in COVID-19: Review of current evidence in search of a better approach. *Journal of Thoracic Disease*. 2021;13(2):1239–55.
 133. Siripanthong B, Nazarian S, Muser D, Deo R, Santangeli P, Khanji MY, et al. Recognizing COVID-19–related myocarditis: The possible pathophysiology and proposed guideline for diagnosis and management. *Heart Rhythm* [Internet]. 2020;17(9):1463–71. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2020.05.001>

134. Gavriatopoulou M, Korompoki E, Fotiou D, Ntanasis I. Organ-specific manifestations of COVID-19 infection. 2020;(0123456789). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7383117/>
135. Yancy CW, Fonarow GC. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and the Heart-Is Heart Failure the Next Chapter? Vol. 5, JAMA Cardiology. American Medical Association; 2020. p. 1216–7.
136. Lindner D, Fitzek A, Bräuning H, Aleshcheva G, Edler C, Meissner K, et al. Association of Cardiac Infection with SARS-CoV-2 in Confirmed COVID-19 Autopsy Cases. JAMA Cardiology. 2020;5(11):1281–5.
137. Fu Y, Cheng Y, Wu Y. Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools. Virol Sin. 2020;35(3):266–71.
138. Rahi MS, Jindal V, Reyes SP, Gunasekaran K, Gupta R, Jaiyesimi I. Hematologic disorders associated with COVID-19: a review. Vol. 100, Annals of Hematology. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021. p. 309–20.
139. Getu S, Tiruneh T, Andualem H, Hailemichael W, Kiros T, Belay DM, et al. Coagulopathy in sars-cov-2 infected patients: Implication for the management of covid-19. Journal of Blood Medicine. 2021;12:635–43.
140. Vatansever HS, Becer E. Relationship between IL-6 and COVID-19: To be considered during treatment. Future Virology. 2020;15(12):817–22.
141. Fox SE, Akmatbekov A, Harbert JL, Li G, Quincy Brown J, vander Heide RS. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. The Lancet Respiratory Medicine. 2020 Jul 1;8(7):681–6.
142. Lax SF, Skok K, Zechner P, Kessler HH, Kaufmann N, Koelblinger C, et al. Pulmonary Arterial Thrombosis in COVID-19 With Fatal Outcome: Results From a Prospective, Single-Center, Clinicopathologic Case Series. Ann Intern Med. 2020 Sep 1;173(5):350–61.
143. Sadler JE. BIOCHEMISTRY AND GENETICS OF VON WILLEBRAND FACTOR [Internet]. Vol. 67, Annu. Rev. Biochem. 1998. Available from: www.annualreviews.org
144. Bavishi C, Bonow RO, Trivedi V, Abbott JD, Messerli FH, Bhatt DL. Acute myocardial injury in patients hospitalized with COVID-19 infection: A review. 2020;(January).
145. Topol EJ. COVID-19 can affect the heart. Science (1979). 2020;370(6515):408–9.
146. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. The Lancet. 2020;395(10223):497–506.
147. Hartmann B. Heart failure and bathing. MMW-Fortschritte der Medizin [Internet]. 2002;144(11):18. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10741-020-10008-2.pdf>
148. Sedgwick P, Marston L. Statistical question: Odds ratios. BMJ [Internet]. 2010 [cited 2022 Jan 10];341(7769):407.

149. Malik P, Patel U, Mehta D, Patel N, Kelkar R, Akrmah M, et al. Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: Systematic review and meta-analysis. Vol. 26, *BMJ Evidence-Based Medicine*. BMJ Publishing Group; 2021. p. 107–8.
150. Zwaenepoel B, Dhont S, Schaubroeck H, Gevaert S. The use of cardiac troponins and B-type natriuretic peptide in COVID-19. *Acta Cardiologica*. Taylor and Francis Ltd.; 2021.
151. Juneja GK, Castelo M, Yeh CH, Cerroni SE, Hansen BE, Chessum JE, et al. Biomarkers of coagulation, endothelial function, and fibrinolysis in critically ill patients with COVID-19: A single-center prospective longitudinal study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2021 Jun 1;19(6):1546–57.
152. Bielecka-Dabrowa A, Cichocka-Radwan A, Lewek J, Pawliczak F, Maciejewski M, Banach M. Cardiac manifestations of COVID-19. Vol. 22, *Reviews in Cardiovascular Medicine*. IMR Press Limited; 2021. p. 365–71.
153. Han H, Xie L, Liu R, Yang J, Liu F, Wu K, et al. Analysis of heart injury laboratory parameters in 273 COVID-19 patients in one hospital in Wuhan, China. *Journal of Medical Virology*. 2020;92(7):819–23.
154. Stefanini GG, Chiarito M, Ferrante G, Cannata F, Azzolini E, Viggiani G, et al. Early detection of elevated cardiac biomarkers to optimise risk stratification in patients with COVID-19. *Heart*. 2020 Oct 1;106(19):1512–8.
155. Andrianto, Al-Farabi MJ, Nugraha RA, Marsudi BA, Azmi Y. Biomarkers of endothelial dysfunction and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: A systematic review and meta-analysis. *Microvascular Research*. 2021 Nov 1;138.
156. Tersalvi G, Vicenzi M, Calabretta D, Biasco L, Pedrazzini G, Winterton D. Elevated Troponin in Patients With Coronavirus Disease 2019: Possible Mechanisms. Vol. 26, *Journal of Cardiac Failure*. Churchill Livingstone Inc.; 2020. p. 470–5.
157. Caro-Codón J, Rey JR, Buño A, Iniesta AM, Rosillo SO, Castrejon-Castrejon S, et al. Characterization of NT-proBNP in a large cohort of COVID-19 patients. *European Journal of Heart Failure*. 2021 Mar 1;23(3):456–64.
158. Siddiqi HK, Weber B, Zhou G, Regan J, Fajnzylber J, Coxen K, et al. Increased Prevalence of Myocardial Injury in Patients with SARS-CoV-2 Viremia. *American Journal of Medicine*. 2021 Apr 1;134(4):542–6.
159. Shi S, Qin M, Shen B, Cai Y, Liu T, Yang F, et al. Association of Cardiac Injury with Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiology*. 2020 Jul 1;5(7):802–10.
160. Shi X, Chen M, Zhang Y. The cardiovascular disorders and prognostic cardiac biomarkers in COVID-19. Vol. 48, *Molecular Biology Reports*. Springer Science and Business Media B.V.; 2021. p. 1763–71.
161. Donoso-Navarro E, Arribas Gómez I, Bernabeu-Andreu FA. IL-6 and Other Biomarkers associated with Poor Prognosis in a Cohort of Hospitalized Patients with COVID-19 in Madrid. *Biomarker Insights*. 2021;16.

162. Zinellu A, Sotgia S, Fois AG, Mangoni AA. Serum CK-MB, COVID-19 severity and mortality: An updated systematic review and meta-analysis with meta-regression. Vol. 66, *Advances in Medical Sciences*. Medical University of Bialystok; 2021. p. 304–14.
163. Yu JS, Chen RD, Zeng LC, Yang HK, Li H. Myoglobin Offers Higher Accuracy Than Other Cardiac-Specific Biomarkers for the Prognosis of COVID-19. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2021 Aug 12;8.
164. Vallabhajosyula S, Wang Z, Murad MH, Vallabhajosyula S, Sundaragiri PR, Kashani K, et al. Natriuretic Peptides to Predict Short-Term Mortality in Patients With Sepsis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Mayo Clinic Proceedings: Innovations, Quality & Outcomes*. 2020 Feb;4(1):50–64.
165. Monneret G, Benlyamani I, Gossez M, Bermejo-Martin JF, Martín-Fernandez M, Sesques P, et al. COVID-19: What type of cytokine storm are we dealing with? Vol. 93, *Journal of Medical Virology*. John Wiley and Sons Inc; 2021. p. 197–8.
166. Udomsinprasert W, Jittikoon J, Sangroongruangsri S, Chaikledkaew U. Circulating Levels of Interleukin-6 and Interleukin-10, But Not Tumor Necrosis Factor-Alpha, as Potential Biomarkers of Severity and Mortality for COVID-19: Systematic Review with Meta-analysis. *Journal of Clinical Immunology*. 2021;41(1):11–22.
167. Aziz M, Fatima R, Assaly R. Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: A meta-analysis. Vol. 92, *Journal of Medical Virology*. John Wiley and Sons Inc; 2020. p. 2283–5.
168. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1054–62.
169. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020 Apr 1;18(4):844–7.
170. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1054–62.
171. Lippi G, Favaloro EJ. D-dimer is Associated with Severity of Coronavirus Disease 2019: A Pooled Analysis. Vol. 120, *Thrombosis and Haemostasis*. Georg Thieme Verlag; 2020. p. 876–7.
172. al Otair H, Alsaleh K, Alqahtany FS, Ayed K al, Ammar H al, Mefgai N al, et al. The level of vWF antigen and coagulation markers in hospitalized patients with covid-19. *Journal of Blood Medicine*. 2021;12:809–17.
173. Asakura H. Classifying types of disseminated intravascular coagulation: clinical and animal models [Internet]. 2014. Available from: <http://www.jintensivecare.com/content/2/1/20>
174. Yang X, Yang Q, Wang Y, Wu Y, Xu J, Yu Y, et al. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020 Jun 1;18(6):1469–72.

175. Liu Y, Sun W, Guo Y, Chen L, Zhang L, Zhao S, et al. Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: Retrospective cohort study. *Platelets*. 2020 May 18;31(4):490–6.
176. Arévalos V, Ortega-Paz L, Rodríguez-Arias JJ, López MC, Castrillo-Golvano L, Salazar-Rodríguez A, et al. Acute and chronic effects of COVID-19 on the cardiovascular system. Vol. 8, *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. MDPI; 2021.
177. Seeßle J, Waterboer T, Hippchen T, Simon J, Kirchner M, Lim A, et al. Persistent Symptoms in Adult Patients 1 Year After Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Prospective Cohort Study. *Clinical Infectious Diseases*. 2021 Jul 5;
178. Sonnweber T, Sahanic S, Pizzini A, Luger A, Schwabl C, Sonnweber B, et al. Cardiopulmonary recovery after COVID-19: An observational prospective multicentre trial. *European Respiratory Journal*. 2021;57(4).
179. Mazza MG, de Lorenzo R, Conte C, Poletti S, Vai B, Bollettini I, et al. Anxiety and depression in COVID-19 survivors: Role of inflammatory and clinical predictors. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2020 Oct 1;89:594–600.
180. Ayoubkhani D, Khunti K, Nafilyan V, Maddox T, Humberstone B, Diamond I, et al. Post-covid syndrome in individuals admitted to hospital with covid-19: Retrospective cohort study. *The BMJ*. 2021 Mar 31;372.
181. Kanjwal K, Jamal S, Kichloo A, Grubb B. New-onset Postural Orthostatic Tachycardia Syndrome Following Coronavirus Disease 2019 Infection. *Journal of Innovations in Cardiac Rhythm Management*. 2020 Nov 1;11(11):4302–4.
182. Lassen MCH, Skaarup KG, Lind JN, Alhakak AS, Sengeløv M, Nielsen AB, et al. Recovery of cardiac function following COVID-19 – ECHOVID-19: a prospective longitudinal cohort study. *European Journal of Heart Failure*. 2021 Nov 1;23(11):1903–12.
183. Joy G, Artico J, Kurdi H, Seraphim A, Lau C, Thornton GD, et al. Prospective Case-Control Study of Cardiovascular Abnormalities 6 Months Following Mild COVID-19 in Healthcare Workers. *JACC: Cardiovascular Imaging*. 2021 Nov;14(11):2155–66.
184. Wu X, Deng KQ, Li C, Yang Z, Hu H, Cai H, et al. Cardiac Involvement in Recovered Patients From COVID-19: A Preliminary 6-Month Follow-Up Study. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2021 May 13;8.
185. Yong SJ. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments. Vol. 53, *Infectious Diseases*. Taylor and Francis Ltd.; 2021. p. 737–54.
186. Mandal S, Barnett J, Brill SE, Brown JS, Denneny EK, Hare SS, et al. Long-COVID': A cross-sectional study of persisting symptoms, biomarker and imaging abnormalities following hospitalisation for COVID-19. *Thorax*. 2021 Apr 1;76(4):396–8.
187. Zhou M, Yin Z, Xu Phd J, Wang S, Liao T, Wang K, et al. Inflammatory profiles and clinical features of COVID-19 survivors three months after discharge in Wuhan, China.

Parte E - Anexos

1 Anexo 1 – Cadeia: Percurso das amostras das áreas de Bioquímica Clínica e Imunologia

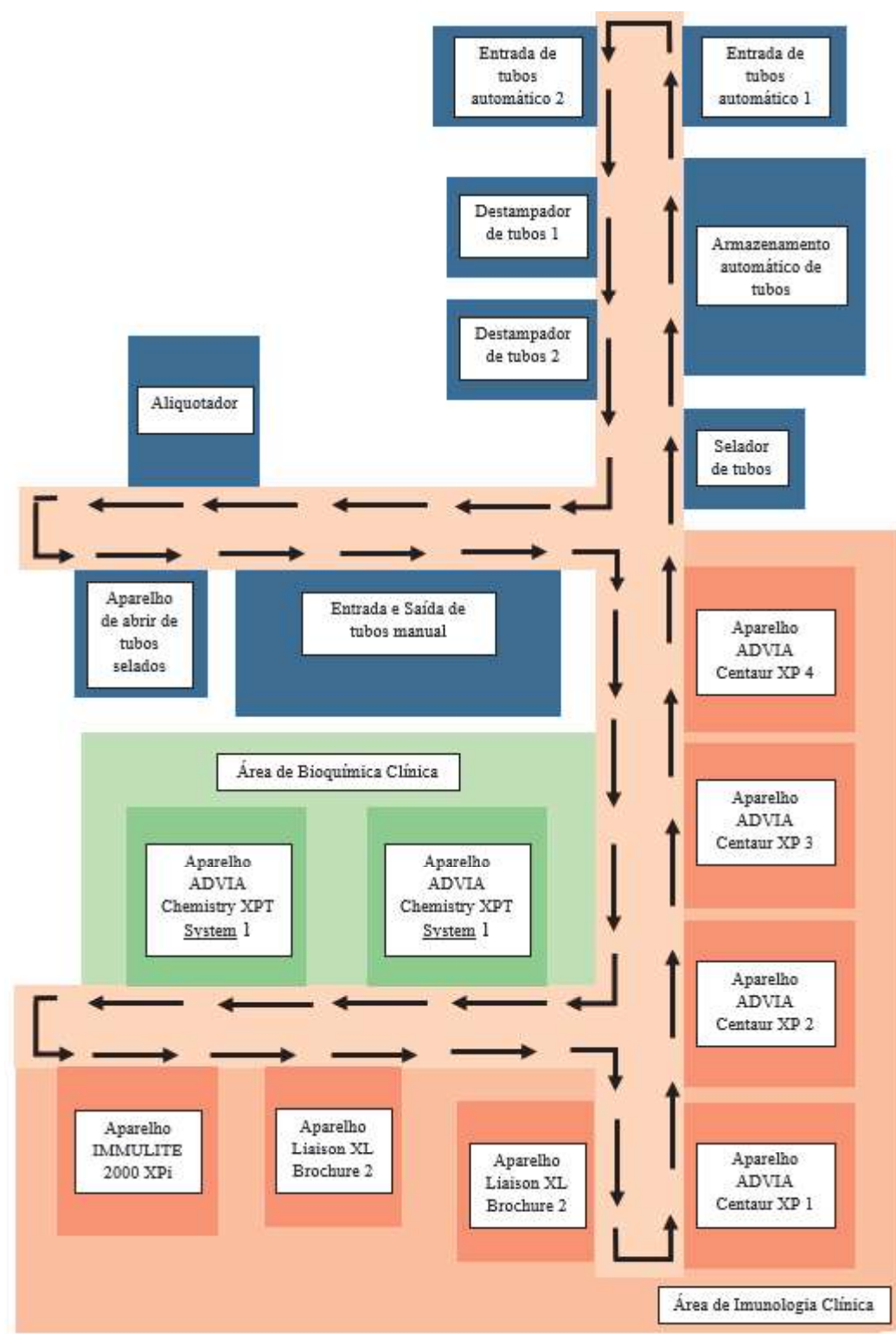


Figura 5 – Cadeia - Percurso das amostras das áreas de Bioquímica Clínica e Imunologia

2 Anexo 2 – Triagem

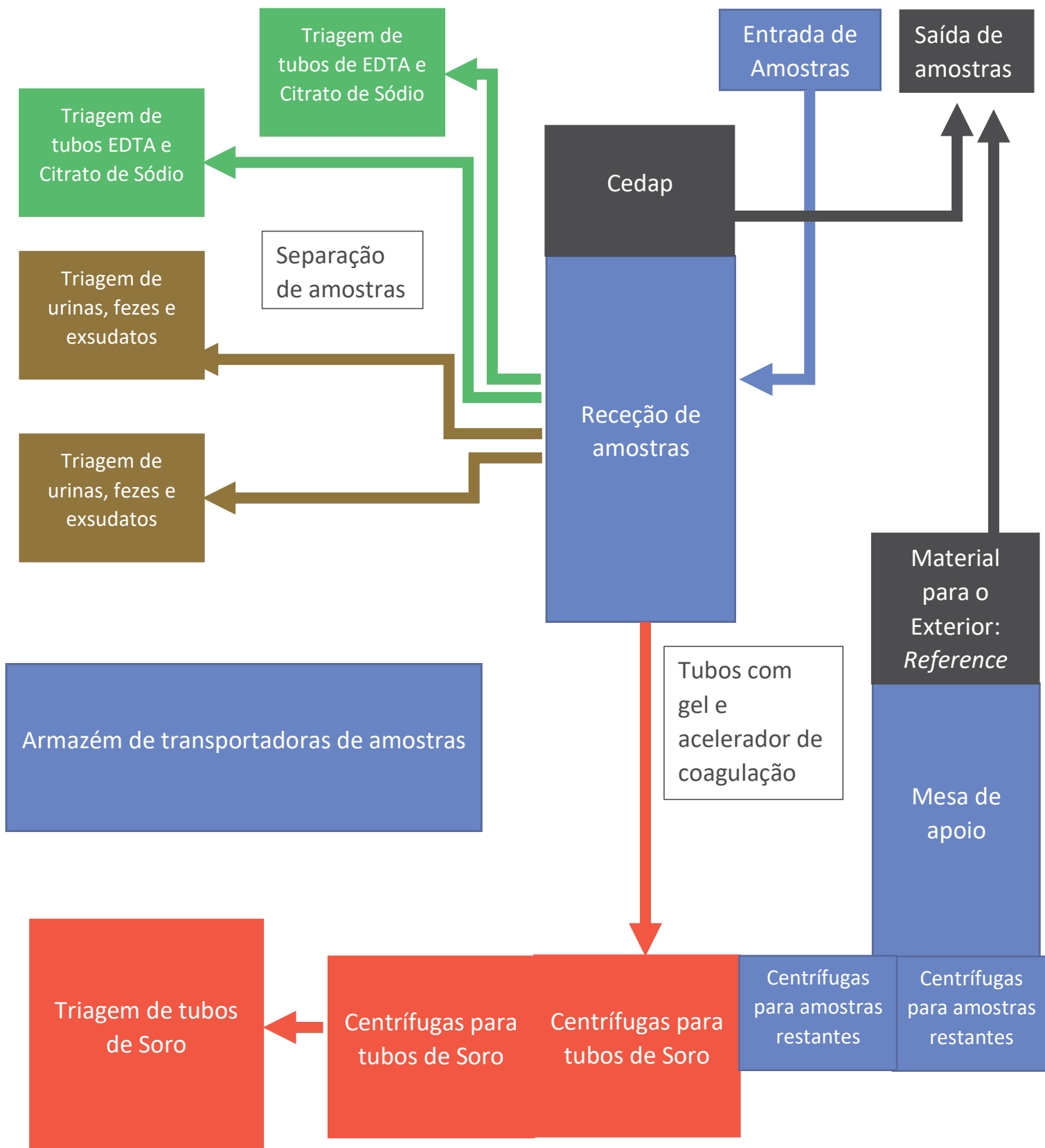


Figura 6 – Esquema do percurso das amostras na triagem

3 Anexo 3 – Sequência de trabalho de Tubo de EDTA

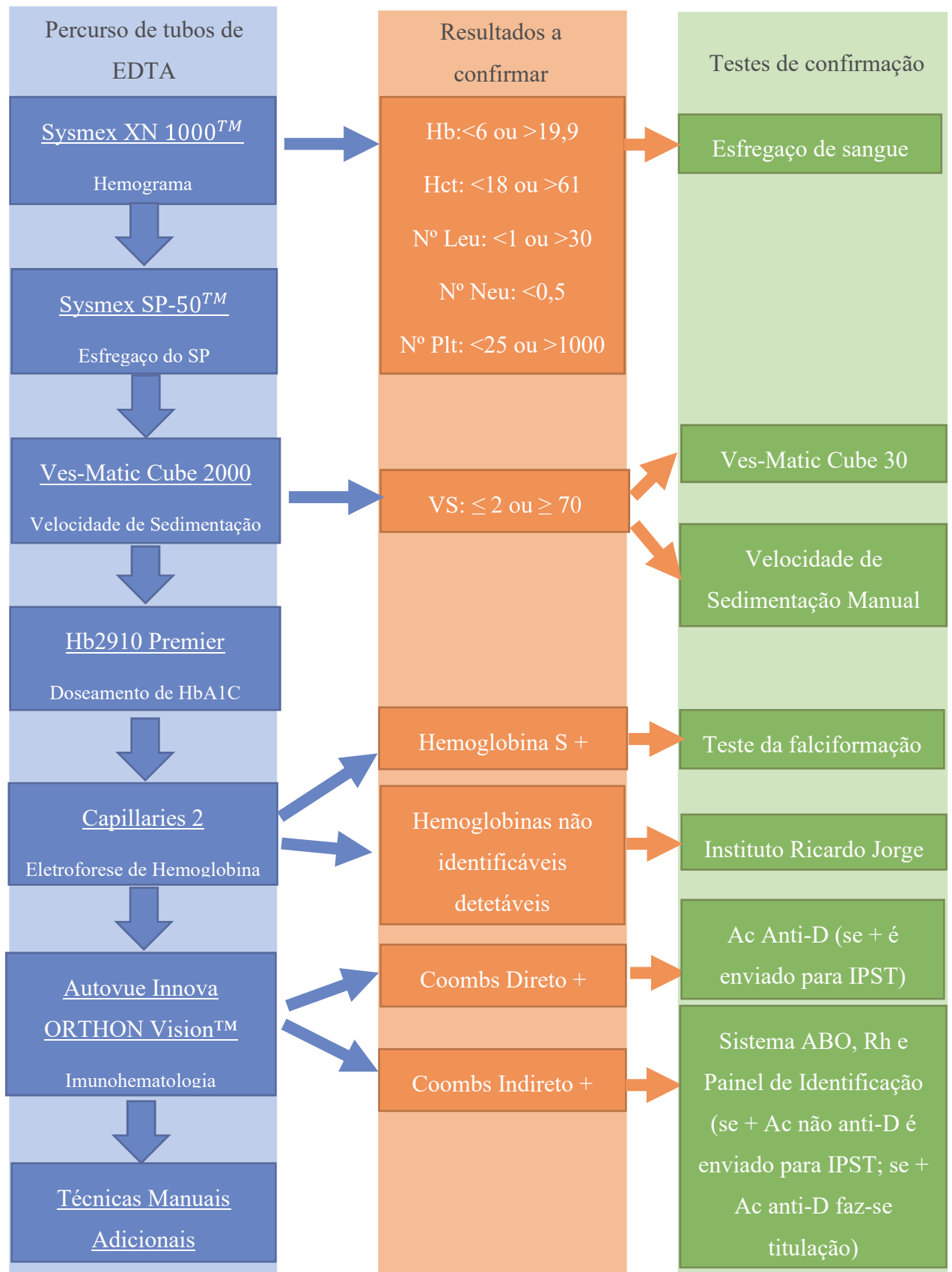


Figura 7 - Sequência de trabalho de Tubo de EDTA

4 Anexo 4 – Esquema dos meios de cultura, caldos de crescimento e lâminas realizadas para cada tipo de amostra biológica em Microbiologia Clínica

Tabela 9 - Esquema dos meios de cultura, caldos de crescimento e lâminas realizadas para cada tipo de amostra biológica em Microbiologia Clínica

Produto Biológico	Caldo de Crescimento	Lâminas			Meios sólidos	Crescimento em CO2 5%
		Gram	ZN	Fresco		
Urina Asséptica					CPSE®	
Fezes	Selino-F	☑			Mck + Het (+ CASA - se caso diarreico)	
Exsudato Vaginal Geral		☑			COS + Sab	
Exsudato Vaginal/ Anal (pesquisa específica de <i>Streptococcus</i> do Grupo B)	Todd Hewitt				Granada	
Exsudato Vaginal (pesquisa específica para <i>Neisseria spp</i> e <i>Haemophilus influenzae</i>)		☑			VCA + PVX	
Exsudato Uretral		☑		☑	VCA + PVX	PVX
Exsudato Faríngeo					CNA	CNA
Exsudato de Feridas					CNA+Mck	
Cateter					COS	
Pus	BIH-T	☑	☑		PVX+CNA+Mck	PVX+CNA
Líquidos pleural	BIH-T	☑	☑		PVX+COS+Mck	PVX+COS
LCR	BIH-T	☑	☑		PVX+COS	PVX+COS
Hemocultura		☑			COS	COS
Esperma		☑		☑	PVX	PVX
Biopsia		☑		☑	COS	COS

Legenda: lâmina com amostra a ser corada (☑) Caldo de Crescimento de Infusão de Cérebro e Coração (BHI); Columbia com Colistina e Ácido Nalidixico com 5% de sangue de carneiro (CNA); Dióxido de Carbono (CO2); Gelose de Columbia com 5% sangue de carneiro (COS); Exsudatos (Exs.); Hektoen (Hek); Líquido Cefalorraquidiano (LCR); ChromID™ CPS® Elite (CPSE®); MacConkey (McK); Chocolate PolyViteX (PVX); Sabouraud Gentamicina Cloranfenicil (Sab); Chocolate PolyViteX VCAT3 (VCA)