



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Mariana Vitor Silva

RELATÓRIO DE ESTÁGIO
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório de Estágio no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas orientada pela Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa e pelo Dr. Paulo Fernando Ponte Ferreira e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Mariana Vitor Silva

RELATÓRIO DE ESTÁGIO
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório de Estágio no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas orientada pela Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa e pelo Dr. Paulo Fernando Ponte Ferreira e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro de 2023

AGRADECIMENTOS

O Mestrado foi a etapa mais desafiadora da minha vida.

A passagem pelo laboratório de Análises Clínicas Labovedras (Trevi), apenas confirmou o gosto que tenho pela área das Análises Clínicas. Como tal, não podia deixar de agradecer a todos os técnicos do Labovedras (Trevi) por me terem dado a oportunidade de evoluir. A Andreia, a Neuza, a Mariana, a Cristiana, a Marisa, a Dona Gracinda e a Cecília por me terem ajudado a acreditar nas minhas capacidades, pela hospitalidade, pela simpatia e carinho.

Em segundo lugar, o meu agradecimento à Professora Doutora Maria do Céu, a minha orientadora interna, por se ter disponibilizado sempre para me ajudar na elaboração do relatório de estágio.

Um agradecimento especial aos dirigentes do Labovedras (Trevi), Dr. Alberto Inez e Francisco Neves pelo acolhimento e simpatia.

O meu agradecimento ao Diretor Técnico do Laboratório, Dr. Paulo Ferreira, pela oportunidade de fazer parte da equipa durante seis meses, pela disponibilidade, pelos debates científicos e o mais importante, pela confiança. Foi um enorme gosto de trabalhar consigo.

Agradecer às minhas amigas Pia, Carol, Andreia e Lili pelo carinho, paciência e apoio incondicional durante esta aventura.

Não podia deixar de agradecer às minhas amigas de Mestrado Bia, Ana e Inês, pela amizade e por me fazerem acreditar que tudo é possível.

Ao meu eterno xu, Marco Morais, por ser meu porto seguro, a minha inspiração e nunca me deixar desistir dos meus objetivos.

Por último, à minha família por me ter acompanhado diariamente nesta aventura. Devido a muito trabalho, estou grata aos meus pais por me darem a oportunidade de seguir os meus sonhos. À Marta, a minha irmã favorita, pelo amor e ombro amigo. Um obrigado à minha querida avó, por todos os conselhos e paciência. Obrigada, porque graças a vocês, tornei-me numa pessoa mais forte.

A todos os meus sinceros agradecimentos.

ÍNDICE

RESUMO	9
ABSTRACT	11
ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS	13
ÍNDICE DE FIGURAS.....	15
ÍNDICE DE TABELAS	16
1. INTRODUÇÃO	17
2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO	18
2.1 Laboratório de Análises Clínicas Labovedras (Trevi).....	18
2.1.1 Organização laboratorial	18
2.1.2 Processamento das amostras	18
3. FASE PRÉ-ANALÍTICA.....	19
4. CONTROLO DE QUALIDADE.....	22
4.1 Controlo de Qualidade Interno (C.Q.I)	22
4.2 Avaliação Externa da Qualidade (A.E.Q).....	22
5. FASE ANALÍTICA.....	23
5.1 BIOQUÍMICA CLÍNICA	23
5.1.1 Análise sumária de urina tipo II	24
5.1.2 Determinação de Hemoglobina glicada (HbA _{1c})	25
5.1.3 Avaliação dos parâmetros bioquímicos no equipamento RX imola da Randox..	25
5.1.3.1 Função renal.....	26
5.1.3.2 Avaliação da função hepática.....	27
5.1.3.3 Perfil pancreático	29
5.1.3.4 Metabolismo do ferro.....	30
5.1.3.5 Metabolismo da glicose	31
5.1.3.6 Função cardíaca	32
5.1.3.7 Metabolismo lipídico	33
5.1.3.8 Metabolismo proteico.....	34
5.1.3.9 Metabolismo ósseo.....	35

5.1.3.10 Ionograma e Oligoelementos	36
5.1.4 Teste de gravidez na urina	37
5.1.5 Caso clínico de Bioquímica Clínica	37
5.2 MICROBIOLOGIA	39
5.2.1 Colorações utilizadas na valência de Microbiologia	39
5.2.1.1 Coloração de Gram.....	40
5.2.2 Meios de cultura.....	40
5.2.3 Testes de identificação	41
5.2.3.1 Prova da filamentação ou teste da blastese.....	41
5.2.3.2 Teste da catalase.....	41
5.2.4 Testes automatizados de identificação e suscetibilidade aos antibacterianos – VITEK® 2 Compact (Biomérieux).....	41
5.2.5 Análise cito-bacteriológica de amostras de urina.....	42
5.2.5.1 Urocultura.....	43
5.2.5.2 Testes de identificação e suscetibilidade aos antibacterianos	45
5.2.6 Análise cito-bacteriológica de exsudados vaginais e vaginal/retal	45
5.2.6.1 Análise microscópica	46
5.2.6.2 Testes de identificação e suscetibilidade aos antibacterianos	47
5.2.7 Análise bacteriológica de exsudados purulentos superficiais	48
5.2.7.1 Exame cultural.....	49
5.2.8 Análise bacteriológica de fezes – Coprocultura	49
5.2.9 Teste rápido - <i>Campylobacter jejuni</i>	50
5.2.10 Teste rápido - Pesquisa de sangue oculto nas fezes	51
5.2.11 Exame parasitológico de fezes	51
5.2.12 Caso clínico de Microbiologia.....	51
5.3 IMUNOLOGIA.....	52
5.4 HEMATOLOGIA	53
6. FASE PÓS-ANALÍTICA.....	54

7. CONCLUSÃO.....	56
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
9. ANEXOS.....	62

RESUMO

O presente relatório pretende descrever todas as atividades laboratoriais realizadas durante o estágio curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. O estágio foi realizado no laboratório de Análises Clínicas Labovedras (Trevi), localizado em Torres Vedras, e teve duração de seis meses, de janeiro a junho de 2023.

Ao longo desta experiência de estágio, acompanhei diariamente a realização do controlo de qualidade, a verificação da conformidade das amostras, a execução de técnicas laboratoriais e o manuseamento de equipamentos automatizados, desenvolvendo espírito crítico na interpretação dos resultados laboratoriais. Para além disso, participei de forma ativa na receção do utente e no processo de colheita de amostras biológicas.

Apesar de ter participado e contactado com as várias áreas das Análises Clínicas, nomeadamente a Microbiologia, a Bioquímica Clínica, a Imunologia, a Hematologia, a Endocrinologia e a Biologia Molecular, o presente relatório irá abordar em particular as áreas de Bioquímica Clínica e Microbiologia.

Palavras-chave: Análises Clínicas | Saúde | Estágio | Bioquímica Clínica | Microbiologia

ABSTRACT

This report aims to describe all laboratory activities carried out during the curricular internship within the scope of the Master's Degree in Clinical Analysis, by the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra. The curricular internship was carried out at the Labovedras Clinical Analysis laboratory (Trevi), in Torres Vedras, and lasted six months, from January to June of 2023.

Throughout this internship experience, I monitored daily the execution of quality control, the verification of sample compliance, the techniques performed and the handling of automated equipment, developing a critical spirit in the interpretation of laboratory results. Furthermore, I actively participated in the customer reception and in the process of collecting biological samples.

Despite having participated and contacted the various areas of Clinical Analysis, namely the Microbiology, the Clinical Biochemistry, the Immunology, the Hematology and the Molecular Biology, this report will address in particular the areas of Clinical Biochemistry and Microbiology.

Keywords: Clinical Analysis | Health | Internship | Clinical Biochemistry | Microbiology

ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

A.E.Q	Avaliação Externa da Qualidade
ALP	Fosfatase Alcalina, do inglês <i>Alkaline Phosphatase</i>
ALT	Alanina Aminotransferase, do inglês <i>Alanine Transaminase</i>
AST	Aspartato Aminotransferase, do inglês <i>Aspartate Transaminase</i>
CHGM	Concentração de Hemoglobina Globular Média
CK	Creatinina Quinase, do inglês <i>Creatinin Kinase</i>
CLED	Gelose Cistina Lactose deficiente em eletrólitos
CMV	Citomegalovírus
COS	Gelose columbia com 5% de sangue de carneiro
CPS	Gelose chromID™ CPS® Elite
C.Q.I	Controlo de Qualidade Interno
EAM	Enfarte Agudo do Miocárdio
EDTA K3	Ácido etilenodiamino tetra-acético tripotássico, do inglês <i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
GGT	Gama-glutamil transferase
GN	Gram-negativo
GP	Gram-positivo
Hb	Hemoglobina
HbA	Hemoglobina Adulto
HbA1c	Hemoglobina Glicada A1c
HbA2	Hemoglobina A2
HbF	Hemoglobina Fetal
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
HDL	Lipoproteína de alta densidade, do inglês <i>High Density Lipoprotein</i>
HGM	Hemoglobina Globular Média
HIV	Vírus da Imunodeficiência humana, do inglês <i>Human Immunodeficiency Virus</i>

Ht	Hematócrito
IDL	Lipoproteína de Densidade Intermédia, do inglês <i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
ISO	Organização Internacional para Padronização, do inglês <i>International Organization for Standardization</i>
IST	Infeções Sexualmente Transmissíveis
ITU	Infeções do Trato Urinário
LDH	Lactato Desidrogenase, do inglês <i>Lactate Dehydrogenase</i>
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade, do inglês <i>Low Density Lipoprotein</i>
MBPL	Manual de Boas Práticas Laboratoriais
MCK	Gelose Mac Conkey
PCR	Proteína C-Reativa
PTH	Paratormona, do inglês <i>Parathyroid Hormone</i>
PTOG	Prova de Tolerância Oral à Glicose
PVX	Gelose Chocolate PolyViteX
RDW	Índice de Distribuição Eritrocitária, do inglês <i>Red Cell Distribution Width</i>
rpm	Rotações por minuto
SGC	Sabouraud Gentamicina Cloranfenicol
SS	Gelose Salmonella Shigella
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
UFC	Unidades Formadoras de Colónias
VCAT3	Vancomicina, Colimicina, Anfotericina B e Trimetoprim
VDRL	<i>Venereal Disease Research Laboratory</i>
VGM	Volume Globular Médio
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade, do inglês <i>Very Low Density Lipoprotein</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema representativo da fase pré-analítica	19
Figura 2 – Prova da filamentação positiva. Observação realizada em Labovedras (Trevi)	41
Figura 3 – Observação microscópica de leucócitos no sedimento urinário a uma ampliação de 400x. Observação realizada em Labovedras (Trevi).....	43
Figura 4 - Representação esquemática da técnica de inoculação utilizada no Labovedras (Trevi).....	44
Figura 5 – Utilização do meio chromID™ CPS® Elite para a identificação de <i>Escherichia coli</i> . Observação realizada em Labovedras (Trevi).....	45
Figura 6 – Amostra positiva para <i>Ureaplasma</i> spp. Observação realizada em Labovedras (Trevi).....	48

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Tubos de colheita mais utilizados no Labovedras (Trevi).....	20
Tabela 2 – Equipamentos utilizados no Labovedras (Trevi).....	23
Tabela 3 – Parâmetros analíticos avaliados no equipamento RX imola	25
Tabela 4 – Diagnóstico e monitorização da <i>Diabetes Mellitus</i>	32
Tabela 5 – Valores do hemograma e bioquímicos da utente.....	38
Tabela 6 – Monoteste positivo	38
Tabela 7 – Meios de cultura utilizados no laboratório central Labovedras (Trevi).....	41
Tabela 8 – Cartas de identificação.....	42
Tabela 9 – Cartas de suscetibilidade	42
Tabela 10 – Patologias vaginais	46
Tabela 11 – Determinações analíticas realizadas no equipamento VIDAS®	53
Tabela 12 – Determinações analíticas realizadas no equipamento ARCHITECT i1000SR...53	
Tabela 13 – Equipamentos utilizados na valência de Hematologia.....	54

I. INTRODUÇÃO

As Análises Clínicas contribuem para o bem-estar e saúde dos utentes através do fornecimento de informação e resultados analíticos de confiança, que auxiliem o médico no diagnóstico clínico. As atividades de um laboratório de Análises Clínicas são diversificadas e sujeitas à implementação de um conjunto de regras precisas e exatas, de modo a garantir a qualidade dos resultados analíticos.

O Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, oferece formação multidisciplinar das diversas valências que compõem um laboratório de Análises Clínicas e a solidificação de conteúdo científico através da elaboração da realização de um estágio curricular profissionalizante. O presente relatório tem como objetivo descrever as atividades laboratoriais exercidas no laboratório de Análises Clínicas Labovedras (Trevi), em Torres Vedras, realizadas de janeiro a junho de 2023. As áreas da Bioquímica Clínica e Microbiologia serão abordadas de uma forma mais detalhada, enquanto a Imunologia e a Hematologia serão abordadas de forma mais sucinta.

A participação ativa na prática laboratorial durante seis meses, permitiu-me aplicar os conhecimentos e competências adquiridas durante o Mestrado, desenvolver novas competências e conhecer o funcionamento do mercado de trabalho. Além disso, as diversas interações interpessoais, permitiram-me adquirir competências sociais em contexto profissional.

2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

2.1 Laboratório de Análises Clínicas Labovedras (Trevi)

O laboratório de Análises Clínicas Labovedras (Trevi) instalou-se em Torres Vedras no ano de 1968 para dar suporte à região Oeste. É dirigido pelo Dr. Alberto Inez, formado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade de Lisboa e pelo seu sócio, Francisco Neves. A direção técnica é da responsabilidade do Dr. Paulo Fernando Ponte Ferreira, especialista em Análises Clínicas e Licenciado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade de Lisboa. Na ausência do Diretor Técnico do laboratório, a validação dos resultados é verificada pela Dr^a Cecília Morgado, Técnica Superior de Laboratório e Licenciada em Microbiologia, pela Universidade Católica Portuguesa do Porto. O laboratório é também constituído por Biólogos, Enfermeiros, Administrativos e Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica.

2.1.1 Organização laboratorial

O laboratório de Análises Clínicas Labovedras (Trevi) é composto apenas por um piso. Sendo constituído por uma receção, duas salas de colheitas, uma zona lateralizada restrita apenas a colheitas de amostras nasofaríngeas para a deteção de SARS-COV-2, duas casas de banho para utentes e uma para colaboradores, uma copa, a área laboratorial onde se localiza a triagem das amostras, a Imunologia, a Bioquímica, a Urinálise, a Endocrinologia, a Hematologia e a sala exclusiva para a Microbiologia. Uma divisão destinada à parte administrativa e uma secção de lavagens e resíduos. A validação de resultados é feita na zona laboratorial e os boletins são impressos na receção ao final do dia.

2.1.2 Processamento das amostras

O laboratório central, laboratório de Análises Clínicas Labovedras (Trevi), tem como horário de funcionamento das 08:00h às 18:00h, em dias úteis, e aos sábados das 08:00h às 12:00h.

Para além das amostras colhidas no laboratório central, recebe amostras provenientes de nove postos de colheitas distribuídos pela região Oeste, para além da prestação de apoio a empresas no âmbito da medicina de trabalho, serviço a lares e serviço ao domicílio previamente agendados.

Diariamente, o laboratório processa amostras de vinte a setenta utentes, número este que depende do dia da semana, postos de colheitas, serviços de lares, domicílios e medicina de trabalho.

3. FASE PRÉ-ANALÍTICA

A Norma da Organização Internacional para Padronização (ISO) 15189 de 2022, estabelece que a fase pré-analítica compreende a requisição do exame, a preparação e identificação do utente, a colheita das amostras, o transporte e a verificação da conformidade das amostras (Figura I) ¹.

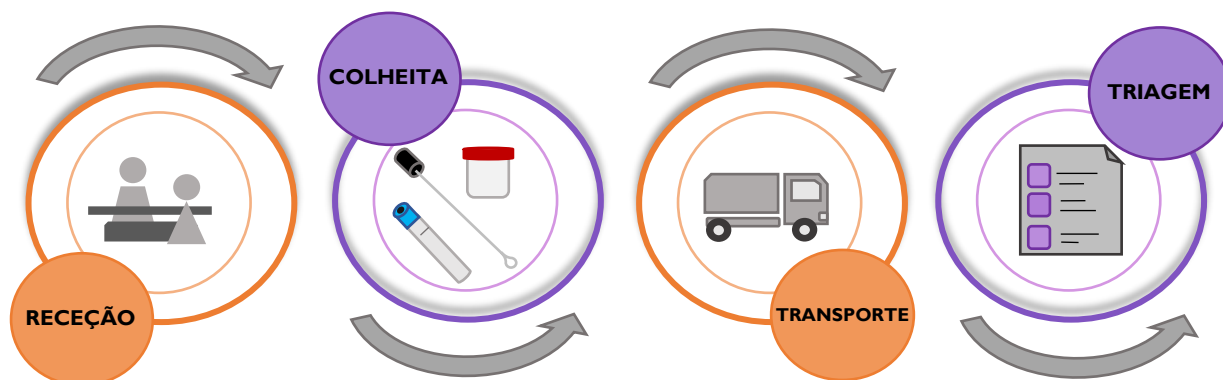


Figura I – Esquema representativo da fase pré-analítica.




A fase pré-analítica é a fase menos automatizada e consequentemente sujeita a uma percentagem de erro, entre 46% a 72%, relativo a todo o processo analítico ². Globalmente, os erros pré-analíticos relacionam-se com a identificação da amostra ou com os problemas inerentes à mesma. Assim, a identificação clara da amostra e a monitorização dos procedimentos de colheita, de transporte e da triagem das amostras biológicas é imprescindível ³.

Na receção realiza-se o preenchimento dos dados pessoais de cada utente no sistema informático do laboratório – *eDeiaLab*. As credenciais médicas e as condições exigidas para a colheita das amostras são também registadas no sistema informático. Deste modo, é gerado uma sequência alfanumérica associada a um código de barras, por exemplo TU XXXXX, correspondente ao posto de colheita onde a amostra foi obtida e ao processo individual de cada utente, permitindo rastrear a amostra desde a fase pré-analítica até à fase pós-analítica.

Colheita das amostras

A extração de sangue é realizada através de um sistema fechado ou aberto. A escolha de um destes métodos é dependente da experiência do técnico e da veia a puncionar. Após a colheita, a ordem de enchimento dos tubos deverá ser a seguinte: tubo de citrato de sódio, tubo seco com gel separador e por último, o tubo de EDTA K3. Os tubos mais utilizados no laboratório, os aditivos, o produto obtido e as determinações analíticas estão descritas na Tabela I.

Tabela I – Tubos de colheita mais utilizados no Labovedras (Trevi).

COR DA TAMPA	ADITIVO	PRODUTO	DETERMINAÇÕES
	CITRATO DE SÓDIO	Plasma	Hematologia Provas de coagulação
	ATIVADOR DA COAGULAÇÃO	Soro	Bioquímica, Imunologia e Serologia
	EDTA K3 (ácido etilenodiamino tetra-acético tripotássico)	Sangue total	Hematologia, Bioquímica, Imunologia e Serologia Hemograma, HbA1c, Coombs Direto e Tipagem do Grupo Sanguíneo AB0

Entre as 24 a 28 semanas, correspondente ao segundo trimestre de gravidez, as utentes grávidas são submetidas à Prova de Tolerância Oral à Glicose (PTOG). O teste consiste na ingestão de uma solução com 75 g de glicose e a colheita de uma amostra de sangue para o tubo seco com gel separador às 0 horas, 1 hora e 2 horas, após a ingestão do preparado ⁴.

No entanto, para além de amostras sanguíneas, podem ser realizadas colheitas de outros produtos biológicos como urina, fezes e exsudados. A colheita de amostras de urina assética requer a higienização prévia da região íntima, a rejeição das primeiras gotas da micção e a colocação da restante porção num recipiente estéril, de preferência cedido pelo laboratório ou adquirido na farmácia (técnica do jato intermédio). Para a obtenção de amostras de urina tipo II, primeira urina da manhã, a amostra deverá ser entregue devidamente acondicionada num recipiente estéril. Por último, pretendendo-se a colheita de urina de 24 horas é necessário rejeitar a primeira micção e colher todas as micções seguintes subsequentes até perfazer 24 horas, incluindo a primeira micção do dia seguinte ⁵.

A colheita de fezes é realizada com o auxílio de uma espátula e a amostra do tamanho de uma “noz” é transferida para os devidos recipientes ⁶.

A colheita de exsudados vaginais deverá ser feita através da inserção de duas zaragatoas no canal vaginal e retiradas sob um movimento rotativo. Na colheita de exsudados vaginais/retais a zaragatoa, para além de ser introduzida sob a mucosa vaginal é também cuidadosamente inserida para além do esfíncter anal, de forma a obter-se uma amostra representativa.

A colheita de exsudados purulentos superficiais, requer uma limpeza prévia e a passagem de duas zaragatoas na base da lesão.

Para todos estes tipos de exsudados, com exceção do exsudado vaginal/retal, utiliza-se duas zaragatoas esterilizadas para a colheita. A primeira zaragatoa serve para a realização do exame a fresco e de um esfregaço em lâmina, posteriormente corado e observado ao microscópio. A segunda zaragatoa é colocada num meio de transporte apropriado (Stuart) e subsequentemente executada a cultura em meios culturais específicos (Anexo I). O exsudado vaginal/retal é colhido apenas por zaragatoa de algodão e posteriormente colocada num meio de transporte específico (Stuart).

Por último, a colheita de exsudados da nasofaringe, consiste na inserção de uma zaragatoa no orifício nasal, paralelamente ao palato e retirada sob um movimento rotativo e lento.

Em Anexo I encontram-se descritos detalhadamente os meios de cultura.

Transporte de amostras

Todas as amostras são transportadas num contentor totalmente fechado com a finalidade de prevenir a contaminação e a perda total das amostras. Normalmente, são acondicionadas a uma temperatura entre 2°C a 10°C, para garantir a integridade das amostras ⁷.

Triagem das amostras

Antes do processamento, é importante registar a conformidade de todas as amostras rececionadas pelo laboratório central, de modo a minimizar resultados enviesados. Dessa forma, a amostra insuficiente e a amostra não entregue ao laboratório são os critérios com maior relevância para a rejeição de amostras no laboratório de estágio. Contudo, os erros pré-analíticos estão também associados a outros fatores, como amostras hemolisadas e a perda de amostra durante o transporte, sendo importante padronizar os critérios de rejeição das mesmas, de modo a evitar erros analíticos ³.

Após a verificação da conformidade das amostras, as listas de trabalho são impressas, onde constam todas as amostras colhidas no dia e os parâmetros analíticos correspondentes. De seguida, o tubo seco com gel separador e o tubo de citrato de sódio são centrifugados a 1100 rpm durante 10 minutos.

Evidencia-se, ainda, que nem todas as análises se realizam no laboratório central, recorrendo-se ao laboratório de Análises Clínicas da Cintramédica, grupo distribuído pelos concelhos de Mafra, Lisboa, Amadora e Cascais. A verificação das condições de envio é importante, visto que as amostras podem ser enviadas congeladas, protegidas da luz ou até mesmo à temperatura ambiente.

4. CONTROLO DE QUALIDADE

Os laboratórios de Análises Clínicas devem garantir serviços de elevada qualidade, produzindo resultados precisos e exatos, a baixo custo.

De forma a assegurar a qualidade do sistema laboratorial, foi implementado um sistema de qualidade praconizado, baseado nas recomendações do Manual de Boas Práticas Laboratoriais (MBPL). De acordo com o Despacho 10009/2019 de 5 de novembro, o MBPL define garantia de qualidade como “*um conjunto de ações preestabelecidas e sistemáticas necessárias para se obter a garantia de que um produto ou serviço, satisfaz determinadas exigências de qualidade*”, abrangendo de forma obrigatória todas as fases analíticas, inclusive os procedimentos de C.Q.I e de A.E.Q. O laboratório Labovedras (Trevi) assegura níveis de qualidade sustentados pelo MBPL ⁸.

4.1 Controlo de Qualidade Interno (C.Q.I)

O programa de Controlo de Qualidade Interno (C.Q.I) é definido pela Organização Mundial de Saúde como “*um conjunto de procedimentos que permitem avaliar de forma contínua o trabalho laboratorial e os resultados obtidos*” ⁹.

Dessa forma, o técnico de análises clínicas realiza diariamente a avaliação de amostras controlo dos vários equipamentos, de forma a assegurar a precisão dos resultados laboratoriais. As amostras de valores conhecidos, amostras controlo, são processadas pela manhã e sob as mesmas condições das amostras biológicas. Os resultados são registados automaticamente no sistema informático de cada equipamento e os limites de aceitação de cada parâmetro, avaliados de acordo com limites inscritos nas bulas e com a média interna dos resultados. A análise das cartas de controlo de Levey-Jennings tem como base as Regras de Westgard e, sempre que um nível controlo, de comportamento estável, não esteja compreendido nos limites preestabelecidos, são aplicadas medidas corretivas com o objetivo de eliminar erros fortuitos ⁹.

4.2 Avaliação Externa da Qualidade (A.E.Q)

A participação em programas de Avaliação Externa da Qualidade (A.E.Q) corresponde à avaliação da exatidão dos resultados analíticos, por um organismo exterior, através de comparação inter-laboratorial. A avaliação consiste no processamento da mesma amostra (valor conhecido pelo organizador e desconhecido pelos laboratórios participantes), por dois ou vários laboratórios, de forma semelhante a uma amostra de um doente. Assim, os resultados obtidos são revistos e comentados por especialistas, sendo que a existência de

desvios, indicadores de desempenho dos métodos e a possível validação de metodologias, são comunicados aos colaboradores do laboratório ⁸.

O Labovedras (Trevi) participa de forma ativa em programas de A.E.Q, nomeadamente o programa *Randox Internacional Quality Assessment Scheme (RIQAS)*, sendo realizado num período pré-estabelecido pelo programa de avaliação externa da Randox.

5. FASE ANALÍTICA

A fase analítica engloba desde os processos de medição do analito até à obtenção do resultado laboratorial correspondente. Devido à implementação de sistemas automatizados, calibração dos vários equipamentos, aplicação do C.Q.I e da A.E.Q, os erros analíticos associados a esta fase ocorrem em menor número ¹⁰.

O laboratório central é constituído pelas valências de Bioquímica Clínica, Hematologia, Imunologia e Microbiologia, em que tive oportunidade de participar diariamente em todas as atividades da fase analítica. Os equipamentos utilizados como os parâmetros analisados correspondentes a cada valência, estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Equipamentos utilizados no Labovedras (Trevi).

VALÊNCIAS	EQUIPAMENTOS	PARÂMETROS ANALISADOS
Bioquímica Clínica	RX imola (Randox)	Parâmetros bioquímicos
	ADAMS A _{1c} HA-8160 (Menarini)	Hemoglobina glicada (HbA _{1c})
	AUTION MAX AX-4280 (Menarini)	Análise sumária de urina tipo II
Microbiologia	VITEK® 2 Compact (Biomérieux)	Identificação de microrganismos
		Testes de suscetibilidade aos antibacterianos
Imunologia	ARCHITECT i1000SR (Abbott)	Hormonas
		Anticorpos e antigénios
		Marcadores tumorais
		Vitaminas
		Anticorpos
Hematologia	VIDAS® (Biomérieux)	Hormonas
	VitaPCR™ (Menarini)	Proteínas específicas
	BC – 5800 (Mindray)	Deteção do genoma viral
Hematologia	STA Satellite® (Stago)	Hemograma
	STA Satellite® (Stago)	Provas de coagulação
	VES-MATIC CUBE 30 (Diesse)	Velocidade de sedimentação eritrocitária

5.1 BIOQUÍMICA CLÍNICA

A Bioquímica Clínica é o ramo da ciência que estuda os processos bioquímicos envolvidos na etiologia e patogénese da doença, assim como o desenvolvimento de marcadores bioquímicos utilizados no diagnóstico, prevenção, tratamento e monitorização de

patologias. A interdependência entre a Bioquímica e a Medicina, reflete que a saúde está dependente do equilíbrio das reações bioquímicas do organismo, enquanto o estado patológico associa-se às alterações das biomoléculas ou dos processos bioquímicos ¹¹.

A participação ativa nas atividades realizadas na valência da Bioquímica Clínica, permitiu-me acompanhar diariamente a manutenção dos equipamentos, a calibração e a realização dos controlos.

No Labovedras (Trevi), as avaliações bioquímicas são realizadas no equipamento RX imola (Randox) maioritariamente, e nos autoanalisadores AUTION MAX AX-4280 (Menarini) ADAMS A_{1c} HA-8160 (Menarini) (Tabela 2). Para além dos equipamentos automatizados, utiliza-se o teste de gravidez para a deteção da hormona gonadotrofina coriónica humana (hCG) numa amostra da primeira urina da manhã.

5.1.1 Análise sumária de urina tipo II

A análise sumária de urina tipo II é um procedimento semi-quantitativo que permite a deteção de alterações renais, sistémicas e do trato urinário. A análise de urina tipo II é ainda importante na monitorização da terapêutica de algumas doenças ¹².

Em condições fisiológicas, a urina é maioritariamente constituída por água e solutos orgânicos (ácido úrico, ureia e creatinina) e inorgânicos (sódio, potássio e cloretos) dissolvidos, em menor proporção. Para além destes constituintes, a urina pode conter raros eritrócitos e leucócitos, células epiteliais, muco, cristais e cilindros. A proporção destes elementos pode variar de acordo com a ingestão hídrica, atividade física, dieta, alterações metabólicas e a presença de patologias.

A primeira urina da manhã é a amostra de eleição para a realização da análise sumária de urina tipo II, por ser a mais concentrada e assegurar, dessa forma, a deteção de quantidades vestigiais dos constituintes químicos e elementos figurados ^{13, 14}.

A análise sumária de urina tipo II compreende a avaliação física, bioquímica e microscópica das amostras de urina. O exame físico e bioquímico de amostras de urina não centrifugadas são realizados no aparelho automatizado AUTION MAX AX-4280 (Menarini). A amostra é aspirada e dispensada nas almofadas absorventes das tiras teste para a avaliação dos parâmetros bioquímicos como a glicose, proteínas, bilirrubina, urobilinogénio, hemoglobina, pH, corpos cetónicos, nitritos e leucócitos. O equipamento efetua o exame físico através da medição automatizada da cor e da turbidez, tendo como base a quantidade de luz dispersa pela amostra e da densidade, através da medição dos ângulos de refração da luz ^{12, 15}.

Por último, a análise de urina tipo II engloba a análise microscópica de células, cristais e de outros elementos no sedimento urinário ¹⁶.

5.1.2 Determinação de Hemoglobina glicada (HbA_{1c})

A hemoglobina glicada (HbA_{1c}) é um parâmetro de diagnóstico e monitorização da *Diabetes Mellitus*, representativa dos níveis glicémicos dos últimos 90/120 dias (tempo médio de vida dos eritrócitos) ⁷.

A hemoglobina existe em três formas: HbA₁, HbA₂ e HbF. A forma HbA₁ é a predominante e divide-se nas subformas: HbA_{1a}, HbA_{1b} e HbA_{1c}, sendo a última presente em maior quantidade. As proteínas glicadas formam-se quando o excesso de glicose em circulação liga-se de forma não enzimática e irreversível a proteínas. Dessa forma, a hemoglobina glicada representa a conjugação estável da hemoglobina com a glicose, em que a quantidade presente em circulação é proporcional à concentração de glicose. Assim, a HbA_{1c} é formada pela ligação da glicose com o grupo amina terminal da cadeia β da hemoglobina e não sofre variações pela atividade física nem pela dieta ¹⁶.

No Labovedras (Trevi), a HbA_{1c} é determinada no equipamento ADAMS A1c HA-8160 (Menarini). O analisador automático realiza a separação das frações de hemoglobina através da técnica cromatográfica líquida de alta eficiência, HPLC ¹⁷.

5.1.3 Avaliação dos parâmetros bioquímicos no equipamento RX imola da Randox

O equipamento RX imola da Randox é um analisador automatizado formulado para processar amostras de soro, plasma e urina de origem humana. Os parâmetros analíticos são determinados com base nas técnicas de espectrofotometria, turbidimetria e potenciometria (Tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetros analíticos avaliados no equipamento RX imola.

AVALIAÇÕES CLÍNICAS	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	AMOSTRA
Renal	Creatinina, Ureia e Ácido úrico	Soro
Hepática	Alanina Aminotransferase, Aspartato Aminotransferase, Gama-glutamil transferase, Fosfatase Alcalina, Bilirrubina Direta e Total	
Pancreática	Amilase	
Cardíaca	Creatina Quinase e Lactato Desidrogenase	
Proteínas	Albumina, Fator Reumatoide e Proteína C-Reativa	
Lípidos	Colesterol Total, Colesterol HDL, Colesterol LDL e Triglicéridos	

Hidratos de carbono	Glucose e Microalbuminúria	Soro, primeira urina da manhã e urina de 24h
Ferro	Ferro, Transferrina e Capacidade Total de Fixação do Ferro	
Fosfo-cálcio	Cálcio e Fósforo	Soro
Eletrólitos e Oligoelementos	Ionograma e Magnésio	

5.1.3.1 Função renal

O rim é o principal órgão interveniente na osmorregulação plasmática, regulação do equilíbrio ácido-base, síntese hormonal e eliminação de produtos finais do metabolismo e de substâncias inorgânicas ingeridas em excesso, sob a forma de urina ^{7, 18}.

A análise bioquímica é uma ferramenta essencial no estudo da função renal, o que engloba a avaliação endócrina, excretora e reguladora do rim. Na valência de Bioquímica Clínica, o estudo da função excretora do rim baseia-se na determinação da concentração plasmática de compostos azotados não proteicos, resultantes do catabolismo das proteínas e do metabolismo dos ácidos nucleicos. Assim, os três produtos avaliados são a creatinina, a ureia e o ácido úrico ¹⁶.

Creatinina

A creatina é sintetizada no fígado, pâncreas e rins através dos aminoácidos arginina, glicina e metionina. Ao ser transportada pela corrente sanguínea, até aos músculos e outros órgãos, é convertida a fosfocreatina, uma das principais reservas energéticas. Como tal, a creatinina é um produto endógeno da creatina e fosfocreatina, sendo maioritariamente produzida no músculo. Em condições normais, a creatinina é eliminada livremente por filtração glomerular, não é reabsorvida pelos túbulos renais e é excretada por secreção tubular, apenas a concentrações plasmáticas elevadas. Deste modo, o aumento do valor sérico da creatinina indica uma função renal alterada, nomeadamente associada à diminuição da filtração glomerular ^{7, 16, 19}.

A nível urinário, o teste da *clearance* da creatinina, pode ser solicitado para avaliar a gravidade e a progressão da doença renal. A *clearance* de uma substância pode ser definida como a quantidade de plasma completamente depurado, por unidade de tempo. A determinação da *clearance*, realizada numa amostra de urina de 24 horas, pode ser calculada na prática clínica com base na seguinte fórmula ^{11, 16, 20}:

$$\text{Clearance (mL/min)} = (U \times V)/P$$

U – Concentração do analito na urina ($\mu\text{mol/mL}$)

V – Débito urinário (mL/min)

P – Concentração plasmática do analito ($\mu\text{mol/mL}$)

Ureia

O ciclo da ureia é importante na eliminação de compostos tóxicos para o organismo resultantes do catabolismo proteico. Perturbações no ciclo da ureia promovem o aumento das concentrações de amónia, aumentando o risco de alterações cerebrais e do sistema nervoso central. Como composto tóxico, a amónia é convertida a ureia no fígado e eliminada por filtração glomerular. Porém, pode ser novamente reabsorvida por transporte ativo, a nível tubular. A ureia é um marcador de alterações renais pouco específico, devido a fatores como a dieta, estados hipercatabólicos, insuficiência hepatocelular e grau de hidratação do utente que alteram os níveis da ureia no plasma. Dessa forma, a interpretação dos valores obtidos deve ser avaliada paralelamente aos valores da concentração de creatinina, por exemplo. A uremia pode ser derivada de causas renais (pré-renais, renais e pós-renais) ou associada a outras patologias ^{16, 21}.

Ácido úrico

A síntese de ácido úrico consiste no catabolismo das purinas, adenosina e guanosina. A manutenção de valores estáveis de ácido úrico no organismo é o resultado da combinação do consumo dietético em purinas, da síntese endógena e do catabolismo dos ácidos nucleicos. Apenas uma pequena percentagem de ácido úrico é eliminada pelo rim, no entanto, o aumento da concentração de ácido úrico pode provocar a precipitação de cristais de urato monossódico nas articulações. O aumento do teor plasmático de ácido úrico associa-se à diminuição da excreção renal e ao aumento da produção metabólica de ácido úrico. A determinação analítica da concentração de ácido úrico é importante no diagnóstico e tratamento de gota e nefrolitíase ^{16, 20}.

5.1.3.2 Avaliação da função hepática

O fígado é a maior glândula do organismo localizada no quadrante superior direito do abdómen. Cada vértice dos lóbulos hepáticos é constituído por um sistema porta (canal hepático, veia porta e artéria hepática) que permite a drenagem de sangue e de bÍlis. Os

hepatócitos, unidades funcionais do fígado, intervêm no armazenamento de glicogénio, síntese de bÍlis, biotransformação de xenobiÓticos, fagocitose e síntese de novos compostos. A alteração da função hepática pode ser de origem hepatocelular, colestática ou mista. O diagnóstico laboratorial da função hepática consiste na determinação quantitativa da atividade enzimática da alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), Gama-glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALP). A correlação dos valores enzimáticos obtidos, com a quantificação de bilirrubina direta e total pode ser importante no diagnóstico de disfunções hepáticas ^{16, 18}.

Transaminases ou aminotransferases

As aminotransferases são enzimas que catalisam a conversação de aminoácidos em ácido alfa-cetónico mediante a transferência do grupo amina. As enzimas presentes no citosol dos hepatócitos são libertadas em casos de danos hepatocelulares. Independentemente da etiologia, são marcadores sensíveis, mas pouco específicos de lesão hepática aguda ^{7, 16}.

A alanina aminotransferase (ALT) é exclusivamente citoplasmática e localiza-se predominantemente no fígado e em menor proporção, no músculo esquelético e cardíaco ^{6, 20}.

A enzima aspartato aminotransferase (AST) localiza-se maioritariamente na mitocôndria das células hepáticas e de outros Órgãos, nomeadamente nos rins, músculo cardíaco e esquelético. Como tal, o aumento sérico da atividade da AST não é exclusivamente indicador de alteração hepatocelular ^{6, 20}.

Dessa forma, o diagnóstico e tratamento de patologias hepáticas deve quantificar simultaneamente os valores da atividade enzimática de ALT e AST. De acordo com a proporção de valores, a lesão hepática pode ser de origem alcoólica, não alcoólica, medicamentosa ou viral ^{6, 16, 20}.

Fosfatase alcalina (ALP)

A fosfatase alcalina (ALP) é uma enzima membranaar, localizada a nível hepático, renal, Ósseo e pulmonar, sob a forma de várias isoenzimas. Todavia, o aumento da concentração de ALP não traduz necessariamente disfunção hepática, relacionando-se com o crescimento Ósseo ou com uma atividade osteoblástica aumentada. A nível hepático, o aumento da concentração sérica de ALP associa-se a quadros de doença colestática, devido à indução da síntese da enzima por lesão nos ductos biliares ^{16, 20}.

A colestase caracteriza-se pela diminuição ou interrupção do fluxo biliar, com conseqüente retenção de bÍlis nos hepatócitos e canais biliares. Etiologicamente é dividida em

alterações intra-hepáticas e extra-hepáticas. As causas de colestase intra-hepática incluem a exposição a várias terapêuticas e alterações metabólicas na síntese de sais biliares, enquanto as alterações extra-hepáticas devem-se à presença de cálculos biliares e tumores primários/secundários. Consequentemente, a colestase prolongada resulta na malabsorção de lípidos e vitaminas lipossolúveis, acumulação de colesterol, colúria e acolia. O diagnóstico clínico de colestase consiste na detecção dos níveis aumentados das enzimas membranares (ALP e GGT) e de bilirrubina conjugada no soro e na urina ^{6,22}.

Gama-glutamil transferase (GGT)

A GGT é uma enzima membranares catalisadora da transferência do grupo γ -glutamil presente nos ductos biliares e hepatócitos. A enzima GGT não é exclusivamente hepática e está presente em várias localizações anatómicas. A nível hepático, apesar da especificidade reduzida, a GGT é um marcador sensível na detecção de alterações hepatobiliares. Dessa forma, o aumento dos níveis séricos de GGT são interpretados de acordo com os valores aumentados de ALT/AST e ALP, para a determinação etiológica da disfunção ^{6,16}.

Bilirrubina

A bilirrubina é o principal pigmento constituinte da bÍlis resultante da degradação do grupo heme e maioritariamente proveniente da senescência dos eritrócitos. A oxidação do grupo heme, forma um pigmento verde, a biliverdina. Posteriormente, a biliverdina é reduzida a bilirrubina e transportada até ao fÍgado, através da ligação covalente à albumina. Nos hepatócitos, conjuga-se com o ácido glucorónico pela enzima UDP-glucoroniltransferase, formando um composto solúvel. A bilirrubina conjugada é eliminada através do sistema biliar e pode ser convertida em urobilina, no rim, ou estercobilina, no intestino e posteriormente eliminada ¹⁶.

O aumento dos valores de bilirrubina sérica, hiperbilirrubinemia, deve-se a fatores pré-hepáticos, hepáticos e pós-hepáticos. Clinicamente, a determinação da bilirrubina conjugada (direta), da bilirrubina não conjugada (indireta) e da bilirrubina total (fórmula de cálculo que soma os dois tipos principais de bilirrubina circulantes) auxiliam o diagnóstico clínico de alterações hepáticas ¹⁶.

5.1.3.3 Perfil pancreático

O pâncreas é uma glândula mista constituída por uma componente endócrina (ilhéus de Langerhans) e exócrina (células acinares). Os ilhéus de Langerhans sintetizam insulina, glucagina e gastrina, enquanto a função exócrina é responsável pela produção de enzimas

digestivas, tais como a amilase, a lipase e outras proteases. Os ácinos pancreáticos produzem o suco pancreático constituído por bicarbonato e enzimas pancreáticas essenciais no processo digestivo. No adulto, as alterações da função exócrina mais comuns são a pancreatite aguda, a pancreatite crónica e o carcinoma do pâncreas, associadas a malabsorção e diarreia. Os testes laboratoriais de avaliação da função exócrina do pâncreas dividem-se em invasivos e não invasivos. Na valência de Bioquímica, o doseamento sérico da amilase (teste não invasivo) é realizado para o diagnóstico de alterações pancreáticas ^{6, 16}.

Amilase

A amilase (α -amilase) é uma enzima digestiva catalisadora das ligações 1,4-glicolíticas e encontra-se predominantemente no pâncreas e nas glândulas salivares. A nível pancreático, a amilase sérica é utilizada como marcador bioquímico no diagnóstico de pancreatite aguda. Todavia, como marcador pouco específico, a hiperamilasemia pode estar associada a outras patologias ¹⁶.

5.1.3.4 Metabolismo do ferro

O ferro é o elemento essencial no transporte de oxigénio e um dos constituintes do grupo heme, da hemoglobina, da metahemoglobina, da mioglobina e de outras enzimas. O ciclo diário do ferro é controlado pela dieta, pela reutilização, pela absorção no trato intestinal e a quantidade não absorvida é eliminada através das fezes. Cerca de 25% do ferro encontra-se armazenado no fígado, no baço e na medula óssea, sob a forma de ferritina. Quando necessário, as reservas são mobilizadas e o ferro liga-se à transferrina, para ser transportado ¹⁶.

Perturbações no metabolismo, tais como o excesso da absorção de ferro, hemorragias ou a diminuição da síntese de hemoglobina, alteram os níveis séricos de ferro. O diagnóstico laboratorial no Labovedras (Trevi), consiste na determinação do ferro sérico, da transferrina e da capacidade total da fixação de ferro (TIBC) ¹⁶.

Ferro

As concentrações séricas de ferro variam de acordo com a idade, o sexo e o ritmo circadiano. A concentração de ferro atinge um pico no período de manhã e no período da tarde é mais reduzido. Alterações dos valores de ferro pode dever-se a estados patológicos, tais como anemia por deficiência de ferro, anemia da doença crónica ou hemocromatose. O diagnóstico clínico das alterações metabólicas do ferro, deve ser realizado com base no doseamento de outros parâmetros, como a ferritina ^{7, 16}.

Transferrina

A transferrina é uma glicoproteína transportadora de moléculas de ferro no estado férrico (Fe^{3+}) para vários locais do organismo. Além disso, a ligação do ferro à transferrina previne a formação de espécies reativas de oxigénio. Os valores patológicos são interpretados de acordo com a relação inversamente proporcional entre a síntese hepatocitária de transferrina e a concentração de ferro intracelular. Dessa forma, valores reduzidos são característicos de quadros inflamatórios e de hemocromatose, enquanto valores aumentados relacionam-se a défices de ferro, como nos quadros clínicos de hemorragias^{20, 23}.

Capacidade total da fixação de ferro (TIBC)

A determinação da capacidade total da fixação de ferro (TIBC) avalia indiretamente a concentração de transferrina, nomeadamente, a capacidade máxima de ligação de ferro à transferrina. Valores elevados de TIBC estão associados a quadros de anemia por deficiência de ferro, enquanto valores diminuídos, associados a cirrose hepática¹⁶.

5.1.3.5 Metabolismo da glicose

Os hidratos de carbono provenientes da dieta são hidrolisados a monossacarídeos no trato gastrointestinal e a glicose é transportada até ao fígado. A oxidação dos hidratos de carbono é essencial para a produção de energia e manutenção das funções fisiológicas¹⁶.

Os níveis plasmáticos de glicose são controlados principalmente pela ação endócrina que, consoante a quantidade de glicose presente no plasma, inibe ou estimula os processos de produção ou degradação. A insulina é sintetizada pelas células β -pancreáticas, funcionalmente atua sob o fígado, tecido adiposo e músculo esquelético, em resposta ao aumento plasmático de glicose. Todavia, níveis reduzidos de glicose, estimulam a produção da hormona hiperglicemiante, a glucagina, pelas células α -pancreáticas. A homeostase da glicose pode ser regulada por outras hormonas, tais como a adrenalina, o cortisol e a tiroxina, reguladoras dos processos de glicogénese, de glicogenólise e de gliconeogénese¹⁶.

A alteração no metabolismo da glicose pode dever-se a quadros patológicos de hiperglicemia e hipoglicemia. Níveis reduzidos de glicose no sangue caracterizam episódios de hipoglicemia. A hipoglicemia pode estar relacionada com alterações hormonais, insulinomas ou doenças congénitas. Clinicamente, valores reduzidos de glicose no sangue, resultam no desenvolvimento de estados de coma, confusão e défice de concentração. A hiperglicemia mais comum é a *Diabetes Mellitus*, caracterizado por um aumento crónico dos níveis de glicose provocado por alterações na síntese ou ação da insulina. Na diabetes tipo I, a infiltração de linfócitos ativados provoca a destruição autoimune das células β -pancreáticas. O

desenvolvimento desta doença está associado a vários fatores, tais como ambientais, genéticos ou imunitários. A diabetes tipo II, a hiperglicemia, é provocada por uma disfunção das células pancreáticas, com diminuição progressiva da ação da insulina. Geralmente, a diabetes tipo II está associada a alterações no metabolismo muscular e lipídico. A patofisiologia da diabetes gestacional é semelhante à *Diabetes Mellitus* tipo II, porém apenas é diagnosticada durante a gravidez ¹⁶.

Segundo a norma 002/2011 da Direção Geral de Saúde, os parâmetros de diagnóstico e monitorização da *Diabetes Mellitus*, são os seguintes (Tabela 4) ⁴:

Tabela 4 – Diagnóstico e monitorização da *Diabetes Mellitus* [4].

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	VALORES DE REFERÊNCIA
Glicémia em jejum	≥ 126 mg/dl
Glicémia ocasional (associado a sintomas característicos)	≥ 200 mg/dl
Valor da glicémia plasmática, às 2 horas, na PTOG (referente ao segundo trimestre de gravidez)	≥ 153 mg/dl
Hemoglobina glicada (HbA_{1c})	≥ 6,5%

Microalbuminúria

A nefropatia diabética é uma das complicações microvasculares crônicas da *Diabetes Mellitus* resultante de processos de glicosilação avançados. A diminuição da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) e albuminúria, são características diferenciadoras da primeira fase da nefropatia diabética. A longo prazo, o declínio progressivo da função renal é evidente ²⁴.

A microalbuminúria, ou albumina de baixa concentração, é o marcador bioquímico que deteta pequenas quantidades de albumina na primeira urina da manhã ou numa amostra de urina de 24 horas. Níveis elevados de albumina na urina indicam uma forte probabilidade de disfunções glomerulares. Dessa forma, é um marcador importante no diagnóstico precoce de nefropatia diabética ¹⁶.

5.1.3.6 Função cardíaca

O miocárdio é o músculo cardíaco responsável pela suplementação de oxigénio e nutrientes por todo o organismo. O Enfarte Agudo do Miocárdio (EAM) é uma doença das artérias de maior calibre e a principal causa de mortalidade e morbidade nos adultos. A EAM caracteriza-se pela diminuição da perfusão coronária provocada pelo estreitamento do lúmen arterial. Uma das principais causas de EAM é a aterosclerose, processo inflamatório caracterizado pela formação de placas ateroscleróticas ricas em colesterol. Dessa forma, a

obstrução provoca a diminuição do aporte de oxigénio (isquémia) e pode ser procedido por uma forte dor torácica, angina pectoris. A necrose dos miócitos provoca a libertação de enzimas citoplasmáticas importantes no diagnóstico e monitorização de síndromes coronárias agudas, nomeadamente a CK e a LDH ^{7, 16}.

Creatina Quinase (CK)

A creatina quinase (CK) é a enzima responsável pela ativação da creatina no músculo. Compreende um conjunto de três isoenzimas presentes no cérebro (CK-BB) e nos músculos esquelético (CK-MM) e cardíaco (CK-MB). A CK total é um marcador cardíaco sensível uma vez que a atividade sérica aumenta 4 a 6 horas após a ocorrência do episódio de enfarte e atinge o pico máximo entre as 12 a 24 horas. Todavia, o aumento da atividade enzimática da CK total pode estar relacionado a outras alterações, tais como o exercício físico intenso ou a traumatismo do músculo esquelético ^{16, 20}.

Lactato desidrogenase (LDH)

A lactato desidrogenase (LDH) é uma enzima citoplasmática intervenientes na via glicolítica. A combinação de duas subunidades resulta nas cinco isoenzimas da LDH, que podem ser encontradas em diferentes tecidos: LDH1 e LDH2 expressas em concentrações elevadas no miocárdio, LDH3 predominante nos pulmões, LDH4 nos pulmões e músculo esquelético e LDH5 no músculo esquelético e fígado. Dessa forma, a determinação da LDH sérica é um teste inespecífico, uma vez que alterações hepáticas, enfarte agudo do miocárdio, carcinomas ou anemias hemolíticas aumentam a concentração sérica de LDH ⁷.

5.1.3.7 Metabolismo lipídico

A homeostase lipídica é regulada através do ciclo endógeno e exógeno. Funcionalmente, são importantes na produção energética e na regulação térmica de vários órgãos e tecidos subcutâneos. Devido à baixa solubilidade, os lípidos são transportados pelo organismo acoplados a proteínas específicas. Dessa forma, o diagnóstico clínico das alterações no metabolismo lipídico consiste na determinação de colesterol total, triglicéridos e das lipoproteínas HDL (*High Density Lipoprotein*) e LDL (*Low Density Lipoprotein*) ^{7, 11}.

Colesterol total

O colesterol é um esteroide de elevado peso molecular, que pode ser obtido através de mecanismos endógenos no fígado ou através da dieta. O colesterol é hidrolisado a colesterol livre e a ácidos gordos pela ação de esterases. Devido à insolubilidade, o colesterol

é emulsificado e dá-se a formação de micelas mistas que são absorvidas no lúmen intestinal. Na mucosa intestinal, ocorre a incorporação de triglicéridos, fosfolípidos e da apolipoproteína B-48 para formar as quilomicrons, que atingem a corrente sanguínea ⁶.

O doseamento do colesterol total engloba o colesterol livre e o colesterol esterificado. Dessa forma, é um dos parâmetros mais requisitados a nível laboratorial, devido à correlação positiva entre a colesterolemia e as doenças cardiovasculares isquêmicas ²⁰.

Lipoproteína plasmática - HDL

As HDL, ou lipoproteínas de elevada densidade, estão envolvidas no transporte reverso do colesterol, removendo-o dos tecidos extra-hepáticos para o fígado. Em adição ao transporte reverso de colesterol, as HDL são importantes nos processos anti-inflamatórios e antioxidantes. Sintetizadas no fígado e intestino, são constituídas majoritariamente por fosfolípidos e apoproteína AI. A monitorização clínica de HDL é importante na avaliação do risco de doença arterial coronária ^{6,7,16}.

Lipoproteína plasmática - LDL

As LDL são formadas através do catabolismo das VLDL (*Very Low Density Protein*) e constituídas pela apoproteína B-100, colesterol esterificado, fosfolípidos e triglicéridos. As LDL são absorvidas majoritariamente no fígado e em menor quantidade, nos tecidos extra-hepáticos. O aumento da concentração das LDL está relacionado com o aumento do risco de doenças cardiovasculares ^{6,7}.

Triglicéridos

Os triglicéridos são formados por uma molécula de glicerol e por três ácidos gordos livres. Os triglicéridos provenientes da dieta, são digeridos a nível do duodeno e íleo proximal, onde são hidrolisados pela ação de enzimas pancreáticas e intestinais. Após a absorção intestinal, dá-se a formação das quilomicrons que são transportadas pela corrente sanguínea até ao fígado e tecidos periféricos ⁶.

Na prática clínica, o período de jejum influencia os resultados laboratoriais. Valores elevados de triglicéridos (hipertrigliceridemia) estão relacionados com pancreatites, alterações no metabolismo lipídico e ao risco de aterosclerose ^{16,20}.

5.1.3.8 Metabolismo proteico

As proteínas são polímeros naturais constituídos por sequências de aminoácidos e são adquiridas através da dieta ou por mecanismos endógenos, que ocorrem principalmente no

fígado. No organismo, as proteínas plasmáticas desempenham funções coletivas e específicas, tais como enzimáticas, de transporte, de manutenção da pressão oncótica, de hemóstase, de armazenamento, de resposta imunitária e hormonal. Contudo, a concentração das proteínas plasmáticas pode sofrer alterações, nomeadamente devido a fatores genéticos, distúrbios na síntese e na excreção de proteínas ¹⁶.

Albumina

A albumina é a proteína plasmática mais abundante, sintetizada e secretada pelo fígado. A albumina é responsável principalmente pela manutenção da pressão oncótica do plasma, pelo transporte de iões e de substâncias lipossolúveis. A hipoalbuminemia e a hiperalbuminemia estão associadas a alterações no processo de síntese ou excesso de perdas proteicas. Todavia, a postura é uma variação fisiológica que influencia a concentração plasmática de albumina ^{7, 16}.

Fator reumatoide

A arterite reumatoide é uma doença autoimune crónica caracterizada pela inflamação das articulações, nomeadamente das mãos, pulsos e joelhos. O fator reumatoide é um autoanticorpo dirigido diretamente à fração constante da imunoglobulina IgG e responsável pela patogenicidade da arterite reumatoide ^{7, 25}.

Proteína C-Reativa (PCR)

A Proteína C-Reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda envolvida na resposta imunitária. O aumento da concentração sérica da PCR deve-se essencialmente a estados infecciosos provocados por microrganismos e alterações tecidulares. Como marcador sensível, a PCR pode ser doseada clinicamente para a monitorização terapêutica ^{16, 20}.

5.1.3.9 Metabolismo ósseo

O esqueleto humano é uma estrutura metabolicamente ativa e em constante renovação. Quimicamente, os ossos são constituídos essencialmente por cálcio e fosfato, armazenados sob a forma de cristais de fosfato de cálcio. A concentração plasmática destes minerais depende do equilíbrio entre o processo de remodelação óssea, absorção intestinal e excreção renal. As principais hormonas reguladoras são essencialmente a paratormona (PTH) e a 1,25-dihidroxitamina D (forma ativa da vitamina D) ⁷.

Cálcio total

O cálcio é o quinto elemento mais abundante no organismo, encontra-se maioritariamente armazenado nos ossos sob a forma de hidroxiapatite. O cálcio participa na mineralização óssea, processos de coagulação, estabilização da membrana celular e na contração muscular. A homeostase do cálcio está sujeita, principalmente, à ação da PTH e da vitamina D. A diminuição da concentração plasmática de cálcio, promove a libertação da hormona PTH que estimula a reabsorção óssea, a absorção intestinal e a diminuição da excreção renal de cálcio. A absorção intestinal de cálcio pode também ser regulada pela ação da vitamina D ⁷.

Os níveis elevados de cálcio em circulação, hipercalcemia, estão associados a metástases ósseas, hiperparatiroidismo primário ou ao excesso de suplementação com vitamina D. A hipocalcemia, diminuição da concentração plasmática de cálcio, é causada pelo défice de vitamina D, défice paratiroideu e hipoalbuminemia ²⁰.

Fosfato inorgânico

O fosfato está presente no organismo sob a forma inorgânica, ligado a proteínas ou complexado com o cálcio e o magnésio. A homeostase do fosfato é mantida de acordo com a dieta, o metabolismo ósseo, a absorção intestinal e a excreção renal. Na prática clínica, a fração medida é o fosfato inorgânico, que existe em circulação sob a forma divalente (HPO_4^{2-}) e monovalente (H_2PO_4^-). O aumento dos níveis de fosfato inorgânico, hiperfosfatemia, está associado a doenças renais crónicas, enquanto a diminuição dos valores, hipofosfatemia, a uma absorção intestinal alterada, entre outros fatores ^{6,7}.

5.1.3.10 Ionograma e Oligoelementos

Ionograma

Os eletrólitos são responsáveis pela manutenção da pressão osmótica do plasma, equilíbrio ácido-base e regulação da distribuição de água. Os eletrólitos avaliados na prática clínica são essencialmente o sódio (Na^+), o potássio (K^+) e o cloreto (Cl^-) ⁶.

O sódio é o catião mais abundante no fluído extracelular e desempenha um papel importante na regulação da pressão osmótica. A concentração de sódio na circulação é controlada, nomeadamente a nível renal. Assim, a natremia é um excelente indicador do estado de hidratação ^{7,20}.

O potássio é o catião intracelular mais prevalente e os valores intracelulares são mantidos essencialmente através da ação da bomba sódio-potássio ATPase. Concentrações

elevadas de potássio, hipercaliemia, ou concentrações reduzidas de potássio, hipocaliemia, estão associadas a rabdomiólise ou a arritmias cardíacas, respetivamente ¹⁶.

Por último, o ião cloreto é também um catião extracelular abundante, envolvido na manutenção do equilíbrio ácido-base e distribuição da água pelos compartimentos. A cloremia e a natremia aumentam e diminuem proporcionalmente. O aumento da concentração de cloreto na circulação, hiperclorémia, pode estar associada a acidose metabólica ou a desidratação, enquanto a concentração diminuída de cloreto, hipoclorémia, pode ocorrer nas situações de acidose respiratória ^{6, 20}.

5.1.4 Teste de gravidez na urina

A gonadotrofina coriónica humana (hCG) é uma hormona glicoproteica, sintetizada pelo tecido trofoblástico após o processo de fertilização. É composta por duas subunidades, a α e a β , sendo esta última específica da hCG. A hCG é detetável no soro e no plasma entre os 8 e os 11 dias após conceção e atinge o seu pico máximo entre as 7 e as 12 semanas de gestação. Dessa forma, a deteção de hCG é um marcador importante nos testes de gravidez, devido à sua elevada concentração no primeiro trimestre de gestação ¹⁶.

No Labovedras (Trevi), a deteção qualitativa da hormona hCG em amostras de urina (primeira urina da manhã) é realizada através do ensaio imunocromatográfico com anticorpos monoclonais. A amostra migra ao longo da membrana por capilaridade e irá reagir com os anticorpos anti-hCG localizados na região teste. A visualização de duas linhas coloridas na região teste e controlo, indicam um resultado positivo, enquanto a presença apenas de uma linha na zona controlo, evidencia um resultado negativo.

5.1.5 Caso clínico de Bioquímica Clínica

Uma utente do sexo feminino, de 16 anos dirigiu-se no dia 10/05/2023 ao laboratório Labovedras (Trevi) com sintomas de febre, faringite e com uma dilatação ganglionar na zona do pescoço. Para além disso, apresentava uma tonalidade amarelada da pele e revelou ainda que o médico ao realizar o exame físico, constatou um aumento anormal do fígado. Os parâmetros analíticos estão descritos nas Tabelas 5 e 6:

Tabela 5 – Valores do hemograma e bioquímicos da utente.

	RESULTADOS DIA 10/05/2023	RESULTADOS DIA 17/05/2023	RESULTADOS DIA 31/05/2023	VALORES DE REFERÊNCIA
ERITROGRAMA				
Eritrócitos	4,74 ×10 ⁶ /μL	4,78 ×10 ⁶ /μL	4,38 ×10 ⁶ /μL	3,80-4,80 ×10 ⁶ /μL
Hb	13,2 g/dL	13,7 g/dL	12,2 g/dL	12,0-15,0 g/dL
Ht	39,4 %	39,7 %	37,9 %	36,0-46,0 %
VGM	83,1 fL	83,0 fL	86,5 fL	82,0-100,0 fL
HGM	27,8 pg	27,8 pg	27,9 pg	26,0-34,0 pg
CHGM	33,5 g/dL	33,5 g/dL	32,2 g/dL	32,0-36,0 g/dL
RDW	12,0 %	12,4 %	12,9 %	10,0-15,0 %
LEUCOGRAMA				
Leucócitos	↓ 3400 /μL	↑ 10600 /μL	4540 /μL	4000 - 10000 /μL
Neutrófilos	44,0 %	↓ 37,0 %	↓ 39,0 %	40,0 - 70,0 %
Eosinófilos	3,0 %	1,0 %	4,0 %	1,0-6,0 %
Basófilos	0,0 %	0,0 %	0,0 %	0,0-1,0 %
Linfócitos	43,0 %	↑ 56,0 %	↑ 49,0 %	20,0 - 45,0 %
Monócitos	10,0 %	6,0 %	8,0 %	4,0 - 13,0 %
TROMBOCITOGRAMA				
Plaquetas	↓ 115 ×10 ³ / μL	154 ×10 ³ / μL	220 ×10 ³ / μL	150-450 ×10 ³ / μL
Plaquetócrito	↓ 0,10 %	0,13 %	0,19 %	0,11 - 0,38 %
Volume				
Plaquetário Médio	9,4 fL	8,4 fL	8,7 fL	6,5 -12,6 fL
Índice de Dispersão				
Plaquetária	16,9 fL	16,5 fL	16,3 fL	8,9 - 17,2 fL
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS				
AST	↑ 206 U/L	↑ 100 U/L	↑ 35 U/L	< 32 U/L
ALT	↑ 204 U/L	↑ 258 U/L	↑ 38 U/L	< 34 U/L
GGT	--	↑ 210 U/L	↑ 76 U/L	< 40 U/L
Bilirrubina Total		↑ 3,10 mg/dL		< 1,20 mg/dL
Bilirrubina Direta	--	↑ 0,40 mg/dL	--	< 0,30 mg/dL

Tabela 6 – Monoteste positivo.

RESULTADO DIA 10/05/2023	
Monoteste	POSITIVO
(Pesquisa de anticorpos heterófilos, do tipo IgM)	

De acordo com os resultados obtidos no dia 10/05/2023, verifica-se uma ligeira diminuição do valor dos leucócitos, das plaquetas e do plaquetócrito. Todavia, as transaminases (AST e ALT) encontram-se aumentadas e a pesquisa de anticorpos não específicos, do tipo IgM, foram detetados. Para além disso, um esfregaço de sangue periférico,

posteriormente corado pelo método May-Grünwald-Giemsa foi realizado e identificado microscopicamente a presença de linfócitos de morfologia atípica.

Após 7 dias, verifica-se um grande aumento de glóbulos brancos, a diminuição de neutrófilos e o aumento dos linfócitos (inversão de fórmula), tal como o aumento das transaminases (AST e ALT), da GGT e da bilirrubina total e direta.

O aumento da concentração plasmáticas das transaminases (AST e ALT), da GGT e da bilirrubina direta e total, evidencia alterações hepatocelulares.

Pelas manifestações clínicas e resultados laboratoriais obtidos é evidente que a utente foi infetada pelo vírus *Epstein-Barr*. Este vírus, da família *Herpesviridae*, transmite-se principalmente através do contacto com secreções orais infetadas. A incidência é elevada nos adultos jovens e uma das manifestações sintomáticas comuns é a mononucleose infecciosa, caracterizada como uma doença linfoproliferativa ²⁶.

Geralmente, evolui de forma benigna como se verifica pela redução dos parâmetros laboratoriais no dia 31/05/2023.

5.2 MICROBIOLOGIA

A Microbiologia é o ramo da ciência caracterizado pelo estudo taxonómico, genético, metabólico, fisiológico e etiológico de microrganismos não visíveis a olho nu. Os microrganismos mais comuns estão divididos em procariotas (incluem as bactérias) e eucariotas (onde se incluem os fungos e parasitas). Para além destes, ainda se incluem os vírus, que são parasitas intracelulares obrigatórios ^{26, 27, 28}.

A valência de Microbiologia do laboratório Labovedras (Trevi) é a menos automatizada e a que requer um maior sentido de responsabilidade pelo contacto direto com microrganismos potencialmente patogénicos. Nesta valência, as amostras rececionadas mais comuns são a urina asséptica, as fezes e os exsudados, principalmente os exsudados vaginais. Em todas as amostras, os processos de transporte e de triagem asseguram a qualidade de todos os testes realizados sejam eles culturais, microscópicos, imunocromatográficos, diretos, parasitológicos ou procedimentos automatizados.

Sendo assim, o estudo detalhado de cada agente patogénico é importante para a determinação do diagnóstico e aplicação da terapêutica adequada.

5.2.1 Colorações utilizadas na valência de Microbiologia

A observação microscópica de lâminas coradas, providencia uma avaliação preliminar da qualidade das amostras, a identificação presuntiva de vários microrganismos e a avaliação do tipo e quantidade de células inflamatórias ^{26, 27}.

5.2.1.1 Coloração de Gram

A coloração de Gram é uma técnica diferencial baseada na distinção morfológica e química da parede celular entre bactérias Gram-positivas (GP) e Gram-negativas (GN).

A parede celular é um elemento essencial na manutenção da estrutura bacteriana constituída essencialmente, por um polímero rico em açúcares e aminoácidos, o peptidoglicano ²⁶.

As bactérias GP possuem uma camada espessa de peptidoglicano e as extensas ligações de ácidos teóicos, conferem resistência ao processo de descoloração. Em contrapartida, a camada de peptidoglicano das bactérias GN é menos densa e a membrana externa é neutralizada pela ação do descolorante. Como resultado, as bactérias coradas a roxo (bactérias GP), retêm o complexo, violeta genciana - lugol, enquanto as bactérias coradas a rosa (bactérias GN), não retêm este complexo ²⁷.

5.2.2 Meios de cultura

Os meios de cultura permitem o diagnóstico in vitro dos microrganismos presentes nas amostras clínicas.

A composição de cada meio de cultura depende dos requisitos nutricionais de cada microrganismo. Assim, de acordo com a disponibilidade de nutrientes, as bactérias dividem-se em fastidiosas, exigentes a nível nutricional, e não fastidiosas, com critérios nutricionais pouco exigentes.

Mediante o exposto, os vários tipos de meios podem ser agrupados como meios enriquecidos, meios nutritivos, meios seletivos e meios diferenciais. Os meios de enriquecimento são suplementados com nutrientes específicos para o crescimento de agentes bacterianos fastidiosos. Em contrapartida, os meios nutricionais, suportam o crescimento de microrganismos nutricionalmente pouco exigentes, sem que haja uma priorização de uns relativamente a outros. O suplemento de substâncias inibidoras aos meios de cultura, promove o crescimento de algumas bactérias em detrimento de outras, caracterizando assim os meios seletivos. Por último, os meios diferenciais impregnam fatores diferenciadores das características metabólicas e culturais entre bactérias. Os meios seletivos e diferenciais são utilizados na inoculação de amostras polimicrobianas. Os meios seletivos podem ter características diferenciais, pela utilização de fatores como indicadores de pH e a lactose, para a distinção entre bactérias fermentadoras de lactose e bactérias não fermentadoras de lactose ^{26, 27}.

As amostras biológicas correspondentes a cada meio de cultura utilizados no laboratório central encontram-se descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Meios de cultura utilizados no laboratório central Labovedras (Trevi).

AMOSTRA BIOLÓGICA	MEIOS DE CULTURA
Urina	CLED, CPS
Exsudado vaginal e vaginal/retal	COS, VCAT3, SGC e apenas COS para a pesquisa de <i>Streptococcus agalactiae</i>
Exsudado purulento superficial	COS, PVX, SGC
Fezes	MCK, SS, SGC, SELENITO-F

5.2.3 Testes de identificação

5.2.3.1 Prova da filimentação ou teste da blastese

A prova de filimentação ou teste da blastese é um teste rápido e preliminar na identificação de fungos leveduriformes.

A realização deste teste exige a inoculação de colónias isoladas numa amostra de soro e a incubação a uma temperatura de 37°C por um período entre 2-3 horas. Posteriormente, a visualização de uma projeção emergente e alongada que origina o tubo germinativo, permite a diferenciação de *Candida albicans* e *Candida dubliniensis* de outras espécies do género *Candida* (Figura 2) ²⁹.



Figura 2 – Prova da filimentação positiva. Observação realizada em Labovedras (Trevi).

5.2.3.2 Teste da catalase

O teste da catalase é um teste semiquantitativo baseado numa reação enzimática. A catalase é uma enzima antioxidante que catalisa o peróxido de hidrogénio em oxigénio e água. A formação de bolhas de gás devido à libertação de oxigénio indica um resultado positivo ²⁶.

Na prática clínica, o teste da catalase é utilizado na diferenciação das espécies *Staphylococcus* (catalase positiva) e *Streptococcus* (catalase negativa) ³⁰.

5.2.4 Testes automatizados de identificação e suscetibilidade aos antibacterianos – VITEK® 2 Compact (Biomérieux)

O equipamento automatizado VITEK® 2 Compact da Biomérieux está adaptado para a identificação e determinação dos perfis de suscetibilidade antibacteriana dos isolados clínicos com maior prevalência na prática clínica ³¹.

Os testes de identificação e suscetibilidade aos antibacterianos podem ser executados isoladamente ou em simultâneo a partir da mesma amostra. As leituras das reações colorimétricas e turbidimétricas são realizadas com base num sistema ótico de transmitância³².

Protocolarmente, as colónias isoladas de cada amostra são suspensas numa solução salina estéril (0,45% NaCl) e a turvação medida, deverá encontrar-se dentro de intervalos específicos da escala de Macfarland, estipulados pela casa comercial. Posteriormente, as cartas são inseridas na estação de enchimento e a inoculação das cartas ocorre através de um sistema de vácuo. Os resultados são emitidos num período máximo de 15 horas e as cartas ejetadas na secção de resíduos³¹.

As cartas de identificação e sensibilidade estão descritas nas Tabelas 8 e 9, respetivamente.

Tabela 8 – Cartas de identificação.

NOME DA CARTA	IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA
GN	Bacilos GN fermentadores e não fermentadores de lactose
GP	Bactérias GP

Tabela 9 – Cartas de suscetibilidade.

NOME DA CARTA	CARTA DE SENSIBILIDADE
AST-N426	Bacilos GN aeróbios
AST-N427	Bacilos GN, nomeadamente <i>Pseudomona</i> spp.
AST-P648	Bactérias GP, nomeadamente <i>Staphylococcus</i> spp.
AST-P586	Bactérias GP, nomeadamente <i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus agalactiae</i>

5.2.5 Análise cito-bacteriológica de amostras de urina

As infeções do trato urinário (ITU) são comuns na comunidade e predominantemente de origem monobacteriana. As infeções urinárias podem ser classificadas como uretrites, cistites, ureterites, pielonefrites, cervicites/vaginites ou prostatites, de acordo com a localização da infeção no trato urinário feminino ou masculino²⁷.

As manifestações clínicas são variadas, desde quadros sintomáticos até assintomáticos. Assim, o rastreio de bacteriúria assintomática é importante, uma vez que existem fatores de risco associados ao hospedeiro como a idade, o género, a presença de alterações

geniturinárias, doenças associadas e a gravidez que aumentam o risco de desenvolvimento de ITU ²⁷.

Os agentes etiológicos mais comuns, adquiridos na comunidade, são as bactérias colonizadoras do trato gastrointestinal, principalmente a bactéria gram-negativo *Escherichia coli*. As restantes bactérias gram-negativo como *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa* surgem também com alguma frequência como agentes causadores de ITU. As bactérias gram-positivo, surgem com menor prevalência, sendo *Staphylococcus saprophyticus* e *Enterococcus* spp. os mais associados a infeções urinárias. A nível fúngico, o envolvimento patogénico de *Candida* spp. também é frequente ²⁷.

A amostra de urina assética deve ser acondicionada num recipiente estéril e a colheita deverá seguir os seguintes passos: proceder à higienização da zona íntima, descartar as primeiras gotas da micção e recolher a porção intermédia do jato da primeira urina da manhã.

O transporte deste tipo de amostras, deverá ser efetuado o mais rápido possível, de modo a prevenir a proliferação bacteriana ²⁷.

Assim, a amostra rececionada e o processo de análise microbiológica é iniciado.

5.2.5.1 Urocultura

Métodos físicos e químicos

Os parâmetros físicos e químicos, embora não específicos, são auxiliares no diagnóstico de ITU. Os parâmetros descritos no ponto 5.1.1 - Análise sumária de urina tipo II, são comuns aos realizados na valência de Microbiologia pelo equipamento AUTION MAX AX-4060 (Tabela 2).

Exame microscópico do sedimento urinário

A urina é centrifugada a 1100 rpm durante 10 minutos, o sobrenadante descartado e o sedimento urinário observado ao microscópio com a objetiva de 40x. Apesar de presuntiva, a visualização do sedimento urinário permite a contagem de bactérias, células, leucócitos e eritrócitos. O procedimento da observação microscópica do sedimento urinário é semelhante ao descrito no ponto 5.1.1 – Análise sumária de urina tipo II.

A Figura 3 exemplifica um quadro de infeção, através da observação microscópica de uma grande quantidade de leucócitos por campo no sedimento urinário.



Figura 3 – Observação microscópica de leucócitos no sedimento urinário a uma ampliação de 400x. Observação realizada em Labovedras (Trevi).

Cultura quantitativa de urina

A cultura quantitativa de urina é o procedimento *gold standard* no diagnóstico de ITU³³. A inoculação da amostra de urina (Figura 4) é realizada em meio CLED (Anexo I) com a utilização de uma ansa calibrada de 1 µl. De seguida, a placa é incubada a 37°C durante 24 horas e a interpretação dos resultados deverá apenas efetuada no dia seguinte.

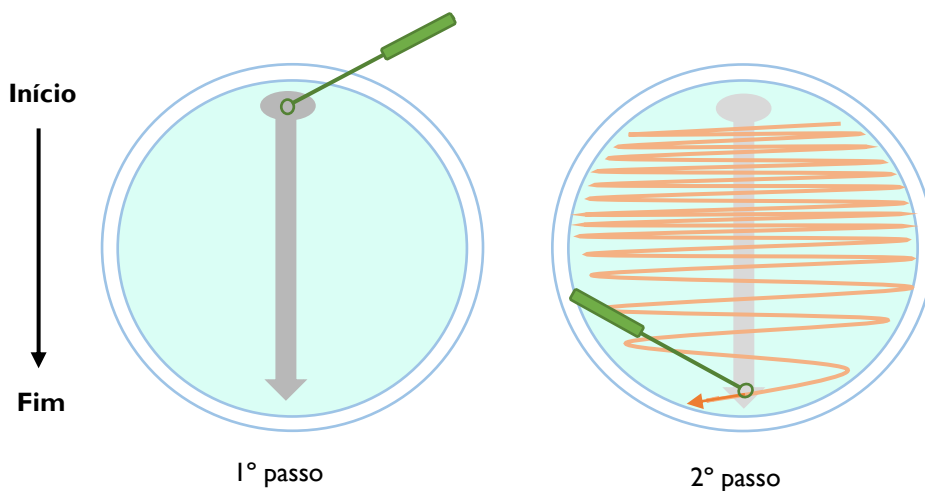


Figura 4 - Representação esquemática da técnica de inoculação utilizada no Labovedras (Trevi).

A interpretação de um resultado positivo deve considerar o número de células epiteliais, paralelamente à contagem de leucócitos e ao crescimento bacteriano superior a 10^5 UFC/mL. A sintomatologia, a idade, o género, os cateterizados ou a gravidez, poderão ser fatores importantes na avaliação dos resultados obtidos. Todavia, o resultado deve ser reportado como contaminação, quando há crescimento de três ou mais agentes uropatogénicos no meio de cultura.

As colónias formadas em meio CLED (Anexo I) são analisadas quanto à morfologia, cor e odor. De acordo com esta avaliação, diferenciam-se as bactérias fermentadoras de lactose das não fermentadoras de lactose e os testes de identificação são selecionados consoante esta distinção.

5.2.5.2 Testes de identificação e suscetibilidade aos antibacterianos

A gelose chromID™ CPS® Elite (CPS) (Anexo I), devido à sua composição é o meio utilizado na valência de Microbiologia para o isolamento de *Escherichia coli* (Figura 5).

Adicionalmente, os restantes agentes patogénicos são identificados e os testes de sensibilidade efetuados através do equipamento automatizado VITEK® 2 Compact (Tabelas 8 e 9).



Figura 5 – Utilização do meio chromID™ CPS® Elite para a identificação de *Escherichia coli*.
Observação realizada em Labovedras (Trevi).

5.2.6 Análise cito-bacteriológica de exsudados vaginais e vaginal/retal

O aparelho reprodutor feminino é constituído pelos ovários, trompas de Falópio, útero, vagina e estruturas genitais exteriores ¹⁵.

A identificação das estruturas anatómicas e o conhecimento da microbiota residente é importante para o processamento da amostra e interpretação do resultado microbiológico ²⁷.

A flora vaginal é um microambiente dinâmico e a colonização da superfície pela microbiota residente, nos vários locais do sistema reprodutor, impede a invasão de agentes patogénicos ^{27, 34}. Em condições fisiológicas, a microbiota depende da localização, da higienização, do pH, da idade e por consequência, da quantidade de estrogénio na mucosa ^{27, 28}.

A microbiota vaginal, durante o período reprodutivo é composta essencialmente por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. e predominantemente por *Lactobacillus* spp., importantes na manutenção do pH vaginal ácido ²⁷. Portanto, a proliferação descontrolada de microrganismos patogénicos, contribui para o desequilíbrio da microbiota vaginal e o risco de desenvolvimento de infeção aumenta.

As infeções do trato genital embora possam ser de origem endógena, a maioria dos casos devem-se a infeções sexualmente transmissíveis (IST) ²⁷. A maioria dos agentes patogénicos isolados na valência de Microbiologia são fastidiosos e as manifestações clínicas

nos indivíduos do sexo feminino, são pouco frequentes ²⁶. Porém, a presença de sintomas relaciona-se com a estrutura do trato genital afetado (Tabela 10):

Tabela 10 – Patologias vaginais.

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	AGENTES ETIOLÓGICOS (mais comuns)
Vaginite	<i>Candida albicans</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i>
Vaginose	<i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Mycoplasma</i> spp.
Uretrite/ cervicite/ endocervicite	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i>
Bartolinite	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> e <i>Chlamydia trachomatis</i>

Além destas, outras bactérias podem colonizar os órgãos reprodutores femininos, nomeadamente durante o período pré-natal e natal, através da via ascendente ²⁷. A pesquisa de *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus* do grupo B de Lancefield, entre as 35-37 semanas de gestação é muito importante de modo a despistar a possível colonização gastrointestinal e geniturinária ³⁵. O feto ao ser infetado, pode desenvolver quadros como meningite, bacteremia ou pneumonia ²⁷.

A zaragatoa seca é utilizada para a realização do exame a fresco e de um esfregaço em lâmina corado com a coloração de Gram. A colheita da segunda zaragatoa, deverá ser colocada no meio de transporte (Stuart), para a preservação de microrganismos fastidiosos, como a *Neisseria gonorrhoeae*. Porém, para a pesquisa específica de *Streptococcus* β-hemolíticos, a colheita do exsudado vaginal/retal consiste apenas na utilização de uma zaragatoa e posteriormente inserida no meio de transporte (Stuart).

Para a identificação de *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma* spp., a colheita do exsudado vaginal consiste apenas na utilização de uma zaragatoa seca.

Contudo, as zaragatoas são transportadas para o laboratório central e mantidas à temperatura ambiente até à realização da análise microbiológica das amostras ²⁷.

5.2.6.1 Análise microscópica

O exame a fresco é um indicador presuntivo e complementar ao diagnóstico. A uma ampliação de 400x é possível observar bactérias, estruturas parasitárias, leucócitos e células epiteliais, indicativas da representatividade da amostra.

Apesar da observação do esfregaço corado com a coloração de Gram, não substituir o exame cultural é possível observar microscopicamente as diferenças morfológicas entre bactérias GP e GN. Além disso, na presença de *Neisseria gonorrhoeae* e *Gardenerella vaginalis*, a lâmina corada tipicamente apresenta diplococos GN no interior de leucócitos polimorfonucleares e a presença de *clue cells*, respetivamente.

5.2.6.2 Testes de identificação e suscetibilidade aos antibacterianos

Exame cultural

As amostras colhidas pelas zaragatoas são inoculadas diretamente nos meios de cultura. A amostra do exsudado vaginal é inoculada nos meios COS, VCAT3 e SGC (Tabela 7). Para a pesquisa isolada de *Streptococcus agalactiae*, o exsudado vaginal/retal é apenas inoculado no meio COS (Tabela 7).

Para a pesquisa de *Neisseria gonorrhoeae*, utiliza-se o meio VCAT3, devido à sua composição (Anexo I). O meio inoculado é colocado numa saqueta que proporciona condições de microaerofilia, GENbag microaer da Biomérieux, e incubada a 37°C por um período de 48 horas. Os restantes meios, são incubados à mesma temperatura, mas por um período de 24 horas. Os resultados culturais obtidos são avaliados paralelamente aos valores de leucócitos e de células epiteliais, observados no exame microscópico. O teste da catalase pode ser útil na avaliação preliminar das colónias formadas (ver ponto 5.2.3.2 – Teste da catalase). Assim, caso haja valorização dos resultados, procede-se à realização do teste de identificação e de suscetibilidade no equipamento VITEK® 2 Compact através das cartas (Tabelas 8 e 9).

O meio SGC é incubado a 37°C durante 24 horas e a primeira leitura é efetuada. Posteriormente, o meio SGC é colocado à temperatura ambiente e a segunda leitura é efetuada após 24 horas. Do ponto de vista clínico, a identificação de crescimento valorizável no meio SGC, requer a realização da prova de filamentação. Contudo, na valência de Microbiologia, a prova de filamentação positiva indica a presença de *Candida albicans*, caso contrário o resultado é reportado como *Candida* spp. (ver ponto 5.2.3.1 – Prova da filamentação ou teste da blastese).

Mycoplasma IST 3

Mycoplasma hominis e *Ureaplasma urealyticum*, da família *Mycoplasmataceae*, são os isolados clínicos com mais relevância nas IST. Microrganismos fastidiosos e de crescimento

lento, caracterizam-se principalmente pela presença de ácidos micólicos e ácidos gordos ramificados na parede celular^{26, 27, 36}.

Para o diagnóstico de infecções por micoplasmas urogenitais é utilizada na valência de microbiologia, a galeria de identificação Mycoplasma IST 3 (Biomérieux), quando solicitado pelo médico. A galeria permite a identificação, nomeadamente de *Ureaplasma* spp. e *Mycoplasma hominis*, e a realização de testes de sensibilidade aos antibacterianos.

A zaragatoa seca do exsudado vaginal é colocada no caldo seletivo Ureia-Arginina LYO 2, que favorece as condições necessárias para o crescimento dos micoplasmas é semeado de imediato na galeria. Após inoculada, o caldo seletivo e a galeria, são incubados a 37°C durante 24-48 horas.

A mudança de cor, devido ao indicador de pH e a turvação do meio, são indicadores importantes na determinação de uma amostra positiva para estes microrganismos (Figura 6).

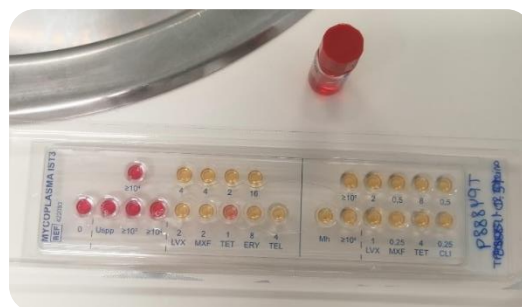


Figura 6 – Amostra positiva para *Ureaplasma* spp. Observação realizada em Labovedras (Trevi).

5.2.7 Análise bacteriológica de exsudados purulentos superficiais

A pele é um órgão constituído por várias camadas protetoras de fatores ambientais externos. Os microrganismos colonizadores, o pH e as defesas químicas da pele, previnem a colonização de agentes invasores. No entanto, alterações da microbiota, lesões pré-existentes ou manifestações de infeções sistémicas, poderão comprometer a função protetora da pele. Devido à grande variedade de agentes etiológicos, as lesões da pele podem manifestar-se como mácula, pápula, nódulo, pústula, vesícula, bolhas ou até mesmo úlceras, de acordo com a camada da pele afetada.

A análise microbiológica é selecionada consoante a manifestação clínica de cada lesão. Na valência de Microbiologia, apenas os exsudados purulentos superficiais são analisados e a colheita consiste na passagem de uma zaragatoa seca na base da lesão. Contudo, devido à natureza da amostra, o transporte não requer condições de anaerobiose.

Antes da realização do exame cultural, o exame a fresco e o esfregaço em lâmina (corado através da coloração de Gram), são analisados microscopicamente a uma ampliação de 400x.

5.2.7.1 Exame cultural

O exame cultural consiste na inoculação da amostra do exsudado purulento nos meios COS, PVX e SGC (Tabela 7). De seguida, os meios são incubados a 37°C durante 24 horas e analisados após este período. Paralelamente à observação de colónias sugestivas, a natureza e o local de amostra são fatores importantes para a identificação do agente patogénico. Assim, a determinação da identificação e suscetibilidade aos antibacterianos são realizados pela utilização das cartas do equipamento VITEK® 2 Compact (Tabelas 8 e 9).

5.2.8 Análise bacteriológica de fezes – Coprocultura

As infeções gastrointestinais podem ser causadas por vários microrganismos, nomeadamente, bactérias, vírus ou parasitas, mas também através da ingestão de toxinas bacterianas ou processos não infecciosos, tendo as crianças, idosos, doentes crónicos e imunocomprometidos um maior risco de desenvolvimento de alterações gastrointestinais ³⁷.

A relação simbiótica entre os microrganismos colonizadores do trato gastrointestinal e o hospedeiro, providencia a influência do sistema imunitário na proteção da superfície das mucosas de cada local, tal como a manutenção do estado fisiológico do hospedeiro. A composição da microbiota varia de acordo com o local, a idade, a genética dos indivíduos, o estado nutricional e a prescrição de terapêutica antibacteriana, podendo alterar a composição da microbiota intestinal ^{27, 38}.

As infeções entéricas, caracterizam-se pelo desequilíbrio da microbiota intestinal que provoca alterações da atividade metabólica do hospedeiro, destruição celular ou invasão da mucosa intestinal pelo microrganismo. No entanto, as infeções gastrointestinais também podem ser provocadas pela ingestão de alimentos contaminados por toxinas bacterianas. A produção de neurotoxinas está associada a bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium peringens* e *Bacillus cereus* ²⁷.

Os principais sintomas de gastroenterite incluem dores abdominais, náuseas, febre e a manifestação mais comum, diarreia ³⁹. Nos indivíduos imunocompetentes, os episódios diarreicos são autolimitantes e caracterizados pelo aumento da frequência ou urgência de evacuações das dejeções, normalmente de consistência líquida ou mole. Quadros de diarreia aguda tem uma duração máxima de quatro semanas, enquanto a diarreia crónica consiste na eliminação de dejeções por mais de quatro semanas ⁴⁰.

Os agentes etiológicos das infeções gastrointestinais são maioritariamente de origem bacteriana, incluindo *Bacillus cerus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinis enterocolitica*, *Escherichia coli* enterotoxigénica e *Vibrio cholerae* ^{27, 37}.

A avaliação das infeções gastrointestinais e intoxicações alimentares devem analisar a história clínica do paciente, o exame físico cuidadoso, tal como o histórico de viagens recentes e a ingestão de alimentos/água contaminados. Dessa forma, a realização da análise microbiológica de fezes (coprocultura) é importante na identificação do agente etiológico da infeção ³⁷.

No laboratório Labovedras (Trevi), a coprocultura é realizada essencialmente para a pesquisa de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. através de amostras de fezes acondicionadas num recipiente estéril. De seguida, uma pequena porção de cada amostra é homogeneizada numa solução de soro fisiológico e inoculada nos meios MCK, SS, SGC e Selenito-F (Tabela 7), com uma ansa calibrada 10 µL. Todos os meios são colocados na estufa a uma temperatura 37°C durante 24 horas e analisados posteriormente. Após o período de incubação, as placas são analisadas e realiza-se a passagem de meio líquido, mais precisamente os meios MCK e SS são inoculados, a partir do caldo Selenito-F e incubados a 37°C durante 24 horas.

Posteriormente, o crescimento de colónias com morfologia sugestiva, requer apenas a identificação no sistema automatizado VITEK[®] 2 Compact (Tabela 8). Assim, as amostras de fezes serão enviadas para o exterior, caso o equipamento automatizado identifique as bactérias *Salmonella* spp. e *Shigella* spp.

5.2.9 Teste rápido - *Campylobacter jejuni*

A bactéria *Campylobacter jejuni*, pertencente à família *Campylobacteraceae*, caracteriza-se por um bacilo gram-negativo encurvado de pequenas dimensões, microaerófilico e móvel ⁴¹.

A bactéria *C. jejuni* é a causa mais frequente de gastroenterite nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, devido à ingestão de alimentos pouco confeccionados, água não potável e leite não pasteurizado ^{26, 41}. A produção de exotoxinas citolíticas provoca alterações na mucosa intestinal e conseqüentemente, o desenvolvimento de enterite aguda com diarreia, febre e fortes dores abdominais. Deste modo, as amostras de fezes acondicionadas num frasco estéril, são utilizadas para o diagnóstico de campilobacteriose ²⁶.

A valência de Microbiologia, utiliza o teste imunocromatográfico *Campylobacter MonlabTest*[®] (*Monlab*), para a deteção de antigénios de *C. jejuni*. Durante o teste, a amostra irá reagir com o conjugado colorido e migrar na membrana por ação capilar. A ligação dos anticorpos conjugados aos anticorpos específicos, resulta na formação de uma linha na região teste. Assim, a visualização de duas linhas na região teste e controlo, indica um resultado positivo, enquanto apenas uma linha na região controlo, um resultado negativo.

5.2.10 Teste rápido - Pesquisa de sangue oculto nas fezes

O cancro colorretal tem maior incidência nos homens e a deteção precoce de alterações intestinais, pode ser revelada a partir do teste de pesquisa de sangue oculto ⁴². No Labovedras (Trevi), a pesquisa de sangue oculto nas fezes é realizada com o auxílio do kit NADAL[®] FOB (*nal von minden*). O princípio da técnica qualitativa consiste na reação entre os componentes específicos da amostra com anticorpos monoclonais conjugados. Esta ligação percorre a membrana por capilaridade e reage com anticorpos anti-hemoglobina, fixados na zona teste. Após 5 minutos, a presença de uma linha colorida na zona teste e na zona controlo, indica um resultado positivo, enquanto apenas uma linha na zona controlo evidencia um resultado negativo ⁴³.

5.2.11 Exame parasitológico de fezes

Existem uma grande variedade de microrganismos responsáveis pelo desenvolvimento de perturbações intestinais, incluindo os parasitas. Principalmente, pelos grupos de Protozoários e Metazoários, nomeadamente helmintes e platelmintes. A via fecal-oral direta ou indireta, são as principais vias de transmissão das parasitoses intestinais.

O exame parasitológico de fezes inclui a pesquisa de quistos, trofozoítos, ovos, larvas e vermes adultos nas fezes. Uma vez que a eliminação de estruturas parasitárias não é constante, deverão ser colhidas três amostras consecutivas, para que a probabilidade de deteção seja maior. Assim, os três recipientes sem conservantes, devem ser transportados de imediato para o laboratório ²⁷.

Na valência de microbiologia, ParasiTrap[®] (Biosepar) é o teste qualitativo e quantitativo utilizado para a concentração, fixação e coloração das estruturas parasitárias ⁵². O tubo com a suspensão é centrifugado a 1000 rpm durante 5 minutos e o sedimento visualizado ao microscópio com a objetiva de 10x e 40x.

5.2.12 Caso clínico de Microbiologia

Uma utente do sexo feminino de 83 anos encontrava-se aos cuidados de um serviço de lar, localizado na região Oeste. A utente encontrava-se assintomática, mas devido à idade avançada e ao cateter colocado, o estabelecimento solicitou a realização de uma urocultura.

Na Microbiologia, realizou-se a análise sumária de urina tipo II e observou-se apenas um ligeiro aumento dos leucócitos. Posteriormente, procedeu-se à quantificação dos microrganismos presentes na urina, em meio CLED e a contagem das colónias foi superior a 10⁵ UFC/mL. De acordo com a análise macroscópica (colónias de tonalidade azul) e odor característico (“*cheiro a lixo*”) das colónias formadas, utilizou-se a carta GN para a identificação

do microrganismo e a carta AST-N426 para o teste de sensibilidade aos antibacterianos no equipamento automatizado VITEK® 2 Compact. A bactéria identificada foi *Proteus mirabilis*.

Assim, o diagnóstico mais provável seria bacteriúria assintomática, caracterizada pelo isolamento e contagem quantitativa de colônias na ausência de sintomatologia ou piúria significativa. A incidência é maior no gênero feminino, principalmente em idades mais avançadas^{27, 45}.

5.3 IMUNOLOGIA

A Imunologia estuda os vários processos imunológicos na defesa do organismo. Nesta valência, as alterações imunológicas são detetadas através de testes automatizados ou manuais. O sistema imunológico é constituído por órgãos linfóides primários e secundários, por barreiras físicas/químicas e uma grande variedade de células produtoras de elementos essenciais nos mecanismos de defesa do organismo⁴⁶. Como tal, as substâncias que não são reconhecidas pelo organismo resultam na ativação do sistema imunológico inato (primeira linha de defesa) e do sistema imunológico adquirido (última linha de defesa).

A resposta imunológica pode desencadear consequências positivas, tais como a ativação da resposta inflamatória e a resposta especializada em função do tipo de agente patogénico. Todavia, fatores como a suscetibilidade genética ou o ambiente, contribuem para a alteração da resposta imunológica, resultando em processos autoimunes.

A COVID-19 é uma doença respiratória grave derivada da infeção pelo vírus SARS-CoV-2. Dessa forma, o diagnóstico laboratorial de SARS-CoV-2 é realizado com base na metodologia *Polymerase Chain Reaction* (PCR), executada no equipamento VitaPCR™, ou pela deteção do Antígeno da Doença Coronavírus 2019 (COVID-19), a partir de uma amostra de exsudado da nasofaringe.

Na valência de Imunologia, os equipamentos VIDAS® e ARCHITECT i1000SR são utilizados no estudo imunológico, através da reação antígeno-anticorpo. No equipamento VIDAS®, as amostras de soro são pipetadas para barretes específicas e analisadas de acordo com o princípio Imunoenzimático por Fluorescência (ELFA) (Tabela 11). Em contrapartida, no autoanalisador ARCHITECT i1000SR as amostras são colocadas em *racks* e a leitura do código de barras confirma a posição do tubo e as determinações analíticas respetivas. Este equipamento, baseia-se na tecnologia de Imunoensaio de Quimiluminescência Amplificada por Enzima (CLIA) para a determinação dos parâmetros laboratoriais (Tabela 12).

Tabela 11 – Determinações analíticas realizadas no equipamento VIDAS®.

DIAGNÓSTICO	DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS
Doenças infecciosas	Citomegalovírus para Imunoglobulina M e G (CMV IgM e CMV IgG); Rubéola IgM e IgG; Toxoplasma IgG e IgM
Tiroide	Anticorpos Anti-tireoglobulina e Anticorpos Anti-tireoperoxidase
Gravidez	Gonadotrofina coriônica humana, subunidade β
Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)	Antigénio p24 e Anticorpos anti-HIV-1/ anti-HIV-2
Metabolismo ósseo	Hormona Paratiroide

Tabela 12 – Determinações analíticas realizadas no equipamento ARCHITECT i1000SR.

DIAGNÓSTICO	DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS
Hepatites	Anticorpos anti-Hepatite B, Antígenos de superfície e do core (Hepatite B) e Anticorpo anti-Hepatite C
Endocrinologia	Progesterona, Estradiol, Hormona Luteinizante e Hormona Folículo-estimulante
Tiroide	Hormona Estimulante da Tiroide, Triiodotironina total e Tiroxina
Marcadores tumorais	Alfa-fetoproteína, CA 125, Ca 15-3, Antigénio Carcino-Embrionário, Antigénio Prostático Específico Total e Livre
Anemias	Vitamina B12 e Folatos
Metabolismo ósseo	25-hidroxivitamina D

Não obstante, as técnicas manuais realizadas no laboratório central englobam a prova globular para a determinação do sistema AB0/RhD, o teste de antiglobulina humana, a deteção de anticorpos heterófilos relacionados com a Mononucleose Infecciosa e o teste não treponémico, denominado de *Veneral Disease Research Laboratory* (VDRL).

5.4 HEMATOLOGIA

A valência de Hematologia abrange a capacidade de diagnosticar e monitorizar todas as alterações no processo de formação e desenvolvimento dos diversos tipos de células sanguíneas. A hematopoiese é o processo de proliferação, diferenciação e maturação das células estaminais até aos diferentes tipos de elementos figurados do sangue. No adulto, os órgãos hematopoiéticos são essencialmente a medula óssea, o fígado e o baço.

O sangue total consiste numa suspensão de células que por sua vez ao ser colocado nos diferentes tubos de colheita é possível obter, posteriormente à centrifugação, diferentes

tipos de sobrenadantes, tais como soro e plasma. Dessa forma, as amostras de sangue total e de plasma são utilizadas na prática clínica para a realização do hemograma, da velocidade eritrocitária e do estudo da cascata de coagulação. Os equipamentos, as metodologias e as determinações analíticas da valência de Hematologia encontram-se descritas na Tabela 13.

Tabela 13 – Equipamentos utilizados na valência de Hematologia.

EQUIPAMENTOS	METODOLOGIAS	DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS
Mindray BC – 5800	Citometria de fluxo	<u>Eritrograma:</u> Eritrócitos; Hemoglobina; Hematócrito; Volume globular médio; Hemoglobina globular média; Concentração média da hemoglobina globular; Distribuição do diâmetro dos eritrócitos.
		<u>Leucograma:</u> Leucócitos; Neutrófilos; Eosinófilos; Basófilos; Linfócitos; Monócitos.
		<u>Trombocitograma:</u> Plaquetas; Plaquetócrito; Volume plaquetário médio; Índice de dispersão plaquetária.
STA Satellite®	Deteção baseada na viscosidade	Tempo de tromboplastina parcial ativado Tempo de protrombina/ <i>Internacional normalised ratio</i>
VES-MATIC CUBE 30	Leitura ótica	Velocidade de sedimentação

De acordo com os resultados do hemograma obtidos, o esfregaço de sangue periférico corado pelo método May-Grünwald-Giemsa é realizado quando solicitado pelo clínico ou para confirmar alterações, como leucocitose e leucopenia.

6. FASE PÓS-ANALÍTICA

De acordo com a Norma ISO 15189 de 2022 a fase pós-analítica consiste na validação e emissão dos resultados, no armazenamento das amostras e na eliminação de resíduos ¹.

Segundo o despacho n.º 8835/2001 (2ª série), a validação de resultados compreende a análise da conformidade dos parâmetros analíticos e a validação biopatológica dos resultados ⁴⁷. A conformidade dos parâmetros analíticos consiste na verificação da concordância de todos os procedimentos operativos, de acordo aos resultados obtidos no C.Q.I. Por outro lado, a validação biopatológica avalia a coesão dos resultados entre a validação analítica e a história clínica do utente. A validação é realizada no sistema informático *eDeiaLab* e todas as informações analíticas dos utentes são guardadas confidencialmente, de acordo com a

legislação em vigor do Regulamento Geral de Proteção de Dados (RGPD). Posto isto, os resultados são expressos através do Sistema Internacional de Unidades (SI) ou em intervalos de referência e os boletins analíticos enviados para o utente.

Todas as amostras, com exceção das amostras enviadas para o exterior, amostras de fezes utilizadas no exame cultural e parasitológico, são descartadas em contentores devidamente identificados.

7. CONCLUSÃO

A realização do estágio curricular no laboratório de Análises Clínicas Labovedras (Trevi), em Torres Vedras, foi um forte elemento agregador das bases científicas e práticas adquiridas durante o Mestrado de Análises Clínicas, pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

A participação ativa na receção do utente, manuseamento e processamento das amostras, calibração e controlo dos vários equipamentos, proporcionou-me o desenvolvimento do espírito crítico sobre o processo analítico. Consequentemente, a participação na receção e no processo de colheitas de amostras de sangue, deu-me uma visão mais ampla sobre o funcionamento de um laboratório de Análises Clínicas.

A receptividade por parte de todos os colaboradores contribuiu para a minha integração, crescimento nas relações humanas, motivação nas atividades propostas e admiração pela área das Análises Clínicas.

No entanto, devido ao reduzido fluxo de amostras, não realizei alguns procedimentos e técnicas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. STERRY, David - ISO 15189:2022: Medical laboratories, atual. 2022. [Consult. 27 ago. 2023]. Disponível na Internet: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15189:ed-4:vl:en>
2. NEOGI, SohiniSengupta *et al.* - Pre-analytical phase in clinical chemistry laboratory. *Journal of Clinical and Scientific Research*. ISSN 2277-5706. 5:3 (2016) 171. doi: 10.15380/2277-5706.jcsr.15.062.
3. PLEBANI, Mario *et al.* - Harmonization of pre-analytical quality indicators. *Biochimica Medica*. ISSN 13300962. 24:1 (2014) 105–113. doi: 10.11613/BM.2014.012.
4. AFONSO, Alameda D. *et al.* - DIRECÇÃO-GERAL DA SAÚDE Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus. Disponível na Internet: www.dgs.pt
5. GAW, Allan *et al.* - *Clinical Biochemistry: An Illustrated colour text*. 5ª Ed. [S.l.]: Churchill Livingstone, 2013. ISBN 978-0-7020-5179-1.
6. BURTIS, A. Carl; BRUNS, E. David - *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis*. 7. ed. ISBN 978-1-4557-4165-6.
7. MCPHERSON, Richard; PINCUS, Matthew - *Henry's: Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22ª ed. Philadelphia : Saunders, 2011. ISBN 978-1-4377-0974-2.
8. GABINETE DO SECRETÁRIO DE ESTADO ADJUNTO E DA SAÚDE, Saúde - Diário da República nº 212/2019, Série II de 2019-11-05 [Consult. 27 ago. 2023]. Disponível na Internet: <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/despacho/10009-2019-125879568>
9. KINNS, Helen *et al.* - Internal quality control: Best practice. *Journal of Clinical Pathology*. ISSN 00219746. 66:12 (2013) 1027–1032. doi: 10.1136/jclinpath-2013-201661.
10. ZEMLIN, Annalise E. - Errors in the Extra-Analytical Phases of Clinical Chemistry Laboratory Testing. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. ISSN 09740422. 33:2 (2018) 154–162. doi: 10.1007/s12291-017-0657-2.
11. KENNELLY, Peter *et al.* - *Harper's Illustrated Biochemistry*. 32ª Ed. [S.l.]: Mc Graw Hill, 2022. ISBN 978-1-260-46994-3.

- 12.** SCOTTI, Adriana; COLOMBELLI, Silva; FALKENBERG2, Miriam - Comparison of product labelings of two marks of reagent strips for the chemical examination of urine
- 13.** ECHEVERRY, Germán; HORTIN, Glen L.; RAI, Alex J. - Introduction to urinalysis: historical perspectives and clinical application. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.). ISSN 19406029. 641:2010) 1–12. doi: 10.1007/978-1-60761-711-2_1.
- 14.** SIMERVILLE, Jeff; MAXTED, William; PAHIRA, John - Urinalysis: A Comprehensive Review - American Family Physician. Disponível na Internet: www.aafp.org/afp
- 15.** GRUYTER, Walter DE *et al.* - Evaluation of Aution Max AX-4280 Automated Urine Test-Strip Analyser
- 16.** ARNESON, Wendy; BRICKELL, Jean - Clinical Chemistry - A Laboratory Perspective. 1^a Ed. [S.l.]: F. A. Davis Company, 2007
- 17.** MALATHI, Thevarajah T. *et al.* - Performance evaluation of the Arkray Adams HA-8160 HbA IC analyser
- 18.** SEELEY, Rod; STEPHENS, Trent; TATE, Philip - Anatomia e Fisiologia . 8^a Ed. ISBN 9789728930622.
- 19.** LIEBERMAN, Michael; PEET, Alisa - Marks' Basic Medical Biochemistry- A Clinical Approach. 5^a Ed. [S.l.] : Wolters Kluwer, 2018. ISBN 9781496324818.
- 20.** CAQUET, René - Análises Clínicas - Guia Prático de Medicina . ISBN 978-972-796-024-8.
- 21.** BARMORE, Walker; AZAD, Farhan; STONE, William L. - Physiology, Urea Cycle. StatPearls. 2023.
- 22.** SAMANT, Hrishikesh *et al.* - Cholestatic liver diseases: An era of emerging therapies. *World Journal of Clinical Cases*. ISSN 23078960. 7:13 (2019) 1571–1581. doi: 10.12998/wjcc.v7.i13.1571.
- 23.** OGUN, Aminat S.; ADEYINKA, Adebayo - Biochemistry, Transferrin. StatPearls. 2022.
- 24.** SAGOO, Manpreet K.; GNUDI, Luigi - Diabetic Nephropathy: An Overview. *Methods in Molecular Biology*. . ISSN 19406029. 2067:2020) 3–7. doi: 10.1007/978-1-4939-9841-8_1/COVER.

- 25.** Artrite Reumatóide (AR) | Artrite | CDC, atual. 27 jul. 2020. [Consult. 28 ago. 2023]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/arthritis/basics/rheumatoid-arthritis.html>
- 26.** MURRAY, R. Patrick; ROSENTHAL, S. Ken; PFALLER, A. Michael - Medical Microbiology. 8ª Ed. ISBN 978-0-323-29956-5.
- 27.** TILLE, M. Patricia - Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 14ª Ed. ISBN 978-0-323-35482-0.
- 28.** RYAN, Kenneth J. (Kenneth James); RAY, C. George - Sherris medical microbiology. 6ª Ed. ISBN 9780071818261.
- 29.** MACKENZIE, D. W. R. - Serum tube identification of *Candida albicans*. doi: 10.1136/jcp.15.6.563.
- 30.** REINER, Karen - Catalase Test Protocol. Disponível na Internet: www.asmscience.org
- 31.** GARCIA-GARROTE, Fernando; CERCENADO, Emilia; BOUZA, Emilio - Evaluation of a New System, VITEK 2, for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Enterococci. Disponível na Internet: <https://journals.asm.org/journal/jcm>
- 32.** PINCUS, David H. - MICROBIAL IDENTIFICATION USING THE BIOMÉRIEUX VITEK[®] 2 SYSTEM. Disponível na Internet: www.pda.org/bookstore
- 33.** KARAH, Nabil *et al.* - Guideline for urine culture and biochemical identification of bacterial urinary pathogens in low-resource settings. *Diagnostics*. ISSN 20754418. 10:10 (2020). doi: 10.3390/diagnostics10100832.
- 34.** SARAF, Viqar Sayeed *et al.* - Vaginal microbiome: normalcy vs dysbiosis. *Archives of Microbiology*. . ISSN 0302-8933. 203:7 (2021) 3793–3802. doi: 10.1007/s00203-021-02414-3.
- 35.** NEONATOLOGIA, Seção De - Rastreamento e Prevenção da Doença Perinatal causada pelo *Streptococcus agalactiae*
- 36.** MARTIN, David H. - Genital Mycoplasmas: *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma* Species
- 37.** BURD, Eileen M.; HINRICHS, Benjamin H. - Gastrointestinal infections. Em *Molecular Pathology in Clinical Practice: Second Edition*. [S.l.]: Springer International Publishing, 2016. ISBN 9783319196749. p. 707–734.

- 38.** Controlling the Spread of Infections|Health and Safety. [Consult. 28 ago. 2023]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/disasters/disease/infectevac.html>
- 39.** SCHILLER, Lawrence R.; PARDI, Darrell S.; SELLIN, Joseph H. - Chronic Diarrhea: Diagnosis and Management. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. ISSN 15427714. 15:2 (2017) 182-193.e3. doi: 10.1016/j.cgh.2016.07.028.
- 40.** SNELLING, William John *et al.* - Under the microscope: *Campylobacter jejuni*. *Letters in Applied Microbiology*. ISSN 02668254. 41:4 (2005) 297–302. doi: 10.1111/j.1472-765X.2005.01788.x.
- 41.** KAUR, Kuljit; ZUBAIR, Muhammad; ADAMSKI, Jamie J. - Fecal Occult Blood Test
- 42.** HARE, Janelle M. - Sabouraud Agar for Fungal Growth. *Em Laboratory Protocols in Fungal Biology*. [S.l.] : Springer New York, 2013. p. 211–216.
- 43.** MIRANTE, Clara *et al.* - Comparing concentration methods: Parasitrap[®] versus Kato-Katz for studying the prevalence of helminths in Bengo province, Angola. *African Health Sciences*. ISSN 16806905. 16:3 (2016) 698–703. doi: 10.4314/ahs.v16i3.9.
- 44.** JORDANO, Queralt - Bacteriuria revisited. *Medicina Clínica*. ISSN 15788989. 159:9 (2022) 437–439. doi: 10.1016/j.medcli.2022.05.005.
- 45.** LUU, Tyler; ALBARILLO, Fritzie S. - Asymptomatic Bacteriuria: Prevalence, Diagnosis, Management, and Current Antimicrobial Stewardship Implementations. *The American Journal of Medicine*. . ISSN 00029343. 135:8 (2022) e236–e244. doi: 10.1016/j.amjmed.2022.03.015
- 46.** DELVES, J. Peter *et al.* - *Roitt's Essential Immunology*. 13^a Ed.
- 47.** SAÚDE, Da Ministério - Despacho n.º 8835/2001 - Direito da Medicina, atual. 15 jun. 2001.
- 48.** CLINIQUE, Microbiologie - Salmonella Shigella Agar | SS agar
- 49.** SACHU, Arun; SAMUEL, Abel K. - Evaluation of chromogenic agar medium, can it be a suitable alternative to conventional culture system for identification of uropathogens? Disponível na Internet: <http://ijm.tums.ac.ir>
- 50.** PARVEEN, R. *et al.* - Detection of Uropathogens by Using Chromogenic Media (Hicrome UTI agar), CLED agar and other Conventional Media

51. FILIUS, P. M. G. *et al.* - Comparative evaluation of three chromogenic agars for detection and rapid identification of aerobic Gram-negative bacteria in the normal intestinal microflora. *Clinical Microbiology and Infection*. ISSN 1198743X. 9:9 (2003) 912–918. doi: 10.1046/j.1469-0691.2003.00667.x.

52. INTRA, J. *et al.* - Reducing time to identification of aerobic bacteria and fastidious microorganisms in positive blood cultures. *Letters in Applied Microbiology*. ISSN 1472765X. 63:6 (2016) 400–405. doi: 10.1111/lam.12682.

53. NG, Lai-King; MARTIN BSC, Irene E. The laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*

Anexo I - Descrição detalhada dos meios de cultura utilizados no laboratório Labovedras (Trevi), mencionados no ponto 3. Fase pré-analítica – Colheita das amostras.

a) **Gelose Mac Conkey (MCK) (Biomérieux)**

A gelose Mac Conkey é utilizada para a realização do exame cultural, a coprocultura. De acordo com a composição, apresenta características seletivas e diferenciais. A base do meio é constituída por peptonas, sais biliares, cristal de violeta, lactose e vermelho neutro, como indicador de pH. A formação à base de sais biliares e cristal de violeta, restringe o crescimento de bactérias GP e GN fastidiosas. As bactérias GN fermentadoras de lactose, formam colónias vermelhas^{26,28}.

b) **Gelose Salmonella Shigella (SS) (Biomérieux)**

A gelose Salmonella Shigella é um meio seletivo e diferencial para o isolamento de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp., particularmente. A composição à base de sais biliares e de citrato de sódio (características seletiva), permite a inibição do crescimento de *Proteus* spp. e de bactérias da família *Enterobacteriaceae*. Por outro lado, a presença de lactose e de tiosulfato redutase são elementos diferenciadores⁴⁸.

c) **Gelose Columbia + 5% de sangue de carneiro (COS) (Biomérieux)**

A inoculação de amostras no meio Columbia + 5% de sangue de carneiro (COS) é útil para o isolamento de bactérias, principalmente fastidiosas. O meio é composto por soja tríptica, por exemplo, e sangue de carneiro desfibrinado que possibilita a diferenciação dos processos hemolíticos. A produção de enzimas bacterianas extracelulares, pode resultar na destruição completa dos glóbulos vermelhos (β -hemólise), lise parcial das células (α -hemólise) ou ausência de hemólise (γ -hemólise). Assim, os tipos de hemólise são importantes na diferenciação de *Streptococcus* spp^{26,27,28}.

d) **Gelose Sabouraud Gentamicina Cloranfenicol (SGC) (Biomérieux)**

O meio de cultura Sabouraud Gentamicina Cloranfenicol (SGC) é um meio seletivo que permite o isolamento de várias espécies de leveduras e fungos filamentosos, presentes em amostras polimicrobianas. O crescimento fúngico é sustentado pelos constituintes do meio, tais como a base de peptonas e a glicose. As características seletivas, devem-se à adição de

gentamicina que inibe bactérias GN e de cloranfenicol, fármaco de largo espectro que atua sobre bactérias GP e GN ⁴².

e) Gelose cistina lactose deficiente em eletrólitos (CLED) (Biomérieux)

O meio cistina lactose deficiente em eletrólitos (CLED) é utilizado para a diferenciação e determinação quantitativa de bactérias uropatogénicas. A presença de lactose, permite a distinção entre bactérias fermentadoras de lactose, *Escherichia coli* e bactérias não fermentadoras de lactose, como o *Proteus* spp. Assim, as colónias de tonalidade amarela ou amarelo-pálido são representativas de bactérias fermentadoras de lactose e as colónias de cor azul ou verde, identificam as bactérias não fermentadoras de lactose ^{49, 50}.

A ausência de eletrólitos no meio permite a inibição do *swarming*, característico do *Proteus* spp ²⁷.

f) Gelose chromID™ CPS® Elite (CPS) (Biomérieux)

As colónias formadas no meio CLED são inoculadas no meio chromID™ CPS® Elite (CPS) para a identificação presuntiva de bactérias aeróbicas GN. Os substratos cromogénicos incorporados são clivados por enzimas bacterianas específicas como a beta-galactosidase (colónias de tonalidade vermelha ou rosa), a beta-glucosidase (colónias de cor azul ou verde) e o triptofano desaminase (colónias acastanhadas) ⁵¹.

g) Gelose de Chocolate (Biomérieux)

A gelose de chocolate PolyViteX (PVX) e PolyViteX VCAT3 (VCAT3) são os meios utilizados para o isolamento de bactérias fastidiosas.

No meio PVX, a composição rica em vitaminas, de aminoácidos, de glicose, do fator X (hemina) e do fator V (NAD - nicotinamida adenina dinucleótido), favorece o crescimento de bactérias do género *Haemophilus* e *Neisseria* ^{26, 52}.

Por último, o meio gelose chocolate VCAT3 (vancomicina, colimicina, anfotericina B e trimetoprim), é um meio mais seletivo para o isolamento principalmente de *Neisseria gonorrhoeae*, devido à adição de fármacos que inibem o crescimento de outras bactérias e fungos ^{26, 53}.

h) Meio líquido Selenito-F (Biomérieux)

Numa amostra polimicrobianas, o meio líquido Selenito-F é um meio de enriquecimento para o isolamento de *Salmonella* spp. O meio líquido é constituído por peptonas e por um composto tóxico, selenito de sódio, para as bactérias da família

Enterobacteriaceae. Posteriormente, a passagem de meio líquido é realizada para meios especializados na identificação de *Salmonella* spp²⁷.