



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Débora Correia Justo Cerqueira

Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas orientado pelo Dr. António Ferreira Neves e pela Professora Doutora Maria do Céu Sousa e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Outubro de 2020



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Débora Correia Justo Cerqueira

Relatório de Estágio

Mestrado em Análises Clínicas

**Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas
orientado pelo Dr. António Ferreira Neves e pela Professora Doutora Maria do
Céu Sousa e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra**

Outubro 2020

AGRADECIMENTOS

Ao meu amoroso marido, que vê sempre o meu potencial mesmo quando eu própria duvido. Por me apoiar incondicionalmente, por viver comigo todas as aventuras a que me proponho e por me mostrar sempre o que realmente importa nesta vida.

À nossa bebé, Eva, que mesmo ainda não nascida, já nos dá uma alegria e força de vontade imensuráveis através da sua personalidade.

Aos meus pais, que sempre se empenharam, de forma abnegada, em educar-me com amor e o desejo de querer ser melhor, e que continuam a motivar-me e apoiar-me incondicionalmente a buscar o máximo de conhecimento que conseguir obter.

À minha irmã, que me motiva a ser um exemplo de coragem, empenho, persistência e bondade através do seu próprio exemplo.

Aos meus sogros, que nos acompanham, nos dão força e autoestima para continuarmos com as nossas lutas diárias e nunca desistirmos dos nossos objetivos.

Aos meus cunhados, por nos transmitirem sempre alegria, esperança e o espírito de união.

Ao Laboratório AVELAB, por me dar todas as condições necessárias, quer em termos de condições materiais quer em termos de sensibilidade, compreensão e sabedoria. Agradeço especialmente às Técnicas Esther, Fátima, Inês, Luzia, Elisabeth e Gisela por todo o cuidado sem medida que tiveram em ensinar-me com toda a sua alma e paixão por esta área, bem como por toda a amizade e humanismo que me transmitiram. Aprendi com elas não apenas a ser uma profissional de excelência, mas também a ser uma pessoa mais humana na área da saúde.

Aos meus orientadores, Dr. António Ferreira Neves e Professora Doutora Maria do Céu Sousa e à orientadora de curso Professora Doutora Ana Miguel por toda a ajuda, disponibilidade e sensibilidade que mostraram ao longo deste tempo.

Às minhas colegas de estágio, Beatriz e Filipa, por toda a disponibilidade, sensibilidade e companheirismo.

Por fim, mas não menos importante, à Cris e à Carina que me deram esperança, elevaram, motivaram e alegraram. Obrigada por partilharem comigo esta jornada, sem vocês, com certeza, não teria sido o mesmo.

Índice

Índice de Figuras	VII
Índice de Imagens	VII
Índice de Tabelas	VIII
Abreviaturas e Siglas	IX
Resumo e Abstract	XI
1. Introdução	I
2. Caracterização do Laboratório AVELAB	I
3. Processo Analítico	2
3.1. Fase Pré-Analítica.....	3
Colheitas no Laboratório AVELAB	3
Triagem no Laboratório AVELAB	3
3.2. Fase Analítica.....	4
3.3. Fase Pós-Analítica	4
4. Gestão de Qualidade	5
4.1. Controlo de Qualidade Interno (CQI).....	5
4.2. Controlo de Qualidade Externo (CQE).....	5
5. Imunologia.....	6
6. Hematologia.....	6
7. Microbiologia.....	7
7.1. Triagem das Amostras do Laboratório de Microbiologia	8
7.2. Exame Bacteriológico.....	9
7.2.1. Exame Macroscópico	9
7.2.2. Exame Microscópico Direto	9
7.2.3. Exame Cultural	11
7.2.4. Provas de Identificação	13
7.2.5. Antibiograma ou Teste de Sensibilidade aos Antibióticos	14
7.3. Principais Amostras Biológicas do Laboratório.....	16
7.3.1. Urina.....	16
7.3.2. Fezes	19
7.3.3. Exsudados Uretrais, Vaginais e Retais.....	21
7.3.4. Exsudados Faríngeos e Nasais.....	25
7.3.5. Expetoração	27
7.3.6. Unhas.....	28
7.4. Serologia Infeciosa	30
7.4.1. Reação Weil-Felix e Pesquisa de <i>Brucella melitensis</i> (Reação de Wright).....	31
7.4.2. COVID-19.....	32
7.5. Validação de Resultados em Microbiologia.....	33
8. Bioquímica.....	33
8.1. Principais Amostras Biológicas do Laboratório de Bioquímica	33

8.1.1.	Sangue	33
8.1.2.	Urina	34
8.2.	Triagem das Amostras do Laboratório de Bioquímica	34
8.3.	Controlo de Qualidade no Laboratório de Bioquímica	35
8.4.	Parâmetros Bioquímicos	36
8.4.1.	Avaliação do Equilíbrio Hidro-Electrolítico	36
8.4.2.	Avaliação da Função Pancreática	37
8.4.3.	Avaliação da Função Hepática	39
8.4.4.	Avaliação da Função Renal	41
8.4.5.	Avaliação do Metabolismo dos Hidratos de Carbono	43
8.4.6.	Avaliação do Metabolismo dos Lípidos	45
8.4.7.	Avaliação do Metabolismo Ósseo e Mineral	47
8.4.8.	Cinética do Ferro	48
8.4.9.	Avaliação da Função Tiroideia	49
8.4.10.	Endocrinologia Reprodutiva	49
8.4.11.	Biomarcadores Inespecíficos	50
8.4.12.	Doseamento de Fármacos	51
8.5.	Validação de Resultados em Bioquímica	51
9.	Uma “Ponte” entre a Bioquímica e a Microbiologia.....	52
10.	Conclusão.....	54
	Bibliografia.....	55
	Anexos.....	57

Índice de Figuras

Figura I - Circuito das amostras de urinárias no setor de Microbiologia	8
--------------------------------------------------------------------------------------	---

Índice de Imagens

Imagem I - TSA pelo método de Kirby-Bauer.....	15
Imagem II - Teste de KPC positivo.....	16
Imagem III - Observação microscópica do sedimento urinário: células epiteliais normais e de transição, leucócitos, eritrócitos e cocos em agrupamento estafilococos. (Esquerda: ampliação 100x; Direita: ampliação 400x).....	18
Imagem IV - Colónias pequenas cor-de-rosa no meio de cultura CHROMagar Orientation.	18
Imagem V - Observação de poucos eritrócitos e estruturas leveduriformes em esfregaço de fezes.....	20
Imagem VI - Colónias fúngicas em meio Sabouraud (esquerda) e colónias bacterianas com centro negro em meio SS (direita).	20
Imagem VII - Teste de aglutinação para distinção entre Salmonella spp. e Proteus spp: (3) controlo positivo (aglutinação); (6) amostra em estudo (ausência de aglutinação).....	21
Imagem VIII - Exame microscópico a fresco de um exsudado vaginal: observação de protozoário flagelado (ampliação 400x).....	24
Imagem IX - Coloração de Gram de um exsudado vaginal: observação de cocobacilos Gram variáveis em clue cells (ampliação 1000x).....	24
Imagem X - Cultura em chromID StreptoB: observação de colónias azuis, em maioria, e presença de poucas colónias rosa (incubação a 36°C durante 24h).....	24
Imagem XI - Cultura em chromID StreptoB: observação de inúmeras colónias cor-de-rosa (incubação a 36°C durante 48h).....	24
Imagem XII - Cultura em chromID MRSA SMART – observação de colónias rosas pálidas e colónias brancas.....	26
Imagem XIII - Cultura em chromID MRSA SMART – observação de colónias cor-de-rosa.	26
Imagem XIV - Teste de coagulase: esquerda - teste coagulase positivo; direita: controlo negativo.....	27
Imagem XV - Coloração de Ziehl-Neelsen: observação de Bacilos Ácido-Álcool-Resistentes (BAAR) corados de vermelho.	28

Imagem XVI - Estruturas fúngicas em meio Sabouraud vista de frente (esquerda) e do reverso (direita).....	29
Imagem XVII - Estruturas fúngicas ao microscópio ótico com coloração de Azul de Lactofenol.....	30
Imagem XVIII - Reação de Weil-Felix positiva a título 1:80 (em cima), 1:160 (no meio) e negativa a 1:320 (em baixo).....	31
Imagem XIX - Teste cromatográfico COVID-19. Controlo positivo e teste negativo para IgM e IgG.	32
Imagem XX - Teste Imunocromatográfico de Adenovírus e Rotavírus. Controlo positivo e testes negativos.....	32
Imagem XXI - Soro hemolisado (esquerda) e soro lipémico (direita).	34

Índice de Tabelas

Tabela I - Erros das diferentes fases do processo analítico ^{1,3}	5
Tabela II - Meios e caldos utilizados no laboratório AVELAB e as suas funções e características ¹⁰	12
Tabela III - Provas bioquímicas manuais, as suas funções e resultados esperados ¹⁰	14
Tabela IV – Procedimentos e resultados de dois exsudados vaginais rececionados no Avelab.....	23
Tabela V - Resultados macroscópicos de colónias fúngicas em meio Sabouraud.....	30
Tabela VI - Causas do aumento e diminuição dos valores séricos do Ferro e Transferrina.	49
Tabela VII - Resultados obtidos na análise de urina: testes bioquímicos e microbianos.....	52

Abreviaturas e Siglas

Ac	Anticorpo
Ag	Antigénio
ALP	Fosfatase Alcalina, <i>do inglês Alkaline phosphatase</i>
ALT	Alanina Aminotransferase
ASO	Antiestreptolisina O
AST	<i>Aspartato Aminotransferase</i>
BAAR	Bacilos Álcool-Ácido Resistentes
BMP	Bacteriológico-Micológico-Parasitológico
CHGM	Concentração de Hemoglobina Globular Média
CQE	Controlo de Qualidade Externo
CQI	Controlo de Qualidade Interno
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético, <i>do inglês Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
EPI's	Equipamentos de Proteção Individual
GGT	<i>Gama-glutamyltransferase</i>
hCG	Gonadotropina Corionica Humana, <i>do inglês Human Chorionic Gonadotropin</i>
HGM	Hemoglobina Globular Média
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana, <i>do inglês Human Immunodeficiency Virus</i>
IAPMEI	Instituto de Apoio às Pequenas e Médias Empresas e à Inovação
INR	<i>International Normalized Ration</i>
ITU	Infeção do Trato Urinário
KESC	<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia e Citrobacter</i>
LH	Hormona Luteínica, <i>do inglês Luteinizing Hormone</i>
MRSA	Meticilina-resistentes <i>Staphylococcus aureus</i>
PME	Pequenas e Médias Empresas
PMP	<i>Proteus-Morganella-Providencia</i>
PTOG	Prova de Tolerância Oral da Glicose
RDW	<i>Red Cell Distribution Width</i>
rpm	Rotações por minuto
RIQAS	<i>Randox International Quality Assesement Scheme</i>
SS	Salmonella-Shigella agar

T3	Tri-iodotironina
T4	Tiroxina
TSA	Teste de Sensibilidade aos Antibióticos
TSH	Hormona Estimulante da Tireoide, <i>do inglês Thyroid Stimulating Hormone</i>
TRH	Hormona Libertadora de Tireotrofina, <i>do inglês Thyrotropin-releasing Hormone</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colónia
UK NEQAS	<i>United Kingdom National External Quality Assessement Service</i>
VGM	Volume Globular Médio
ZN	Ziehl-Neelsen

Resumo

O presente relatório visa descrever as atividades desenvolvidas ao longo do estágio curricular realizado no Laboratório de Análises Clínicas AVELAB localizado em Aveiro, no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas lecionado na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Ao longo do estágio tive a oportunidade trabalhar nas áreas de Imunologia, Hematologia, Bioquímica e Microbiologia. No entanto, no presente documento apenas estarão mais amplamente descritas as últimas duas áreas.

Com a evolução dos métodos e técnicas de diagnóstico laboratorial ao longo dos tempos estes passam a ter cada vez mais importância no diagnóstico clínico bem como no acompanhamento da terapêutica do doente. Assim, é de extrema importância que os profissionais de saúde se encontrem sensibilizados para as boas práticas no laboratório de análises clínicas bem como dos procedimentos e dos controlos que oferecem qualidade ao serviço.

Palavras-chave: Microbiologia, Bioquímica, Qualidade, Análises Clínicas, Diagnóstico Laboratorial.

Abstract

Held within the scope of the master's in Clinical Analysis taught at the Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, this report aims to describe the activities developed during the curricular internship held at the AVELAB Clinical Analysis Laboratory located in Aveiro.

Throughout the internship I had the opportunity to work in the areas of Immunology, Hematology, Biochemistry and Microbiology. However, in this document only the last two mentioned will be more widely described. With the evolution of laboratory diagnostic methods and techniques, these have become increasingly important in the clinical diagnosis as well as in monitoring the patient's therapy. Therefore, it is extremely important that professionals are aware of good practices in the clinical analysis laboratory, as well as the procedures and controls that offer quality to the service.

Keywords: Microbiology, Biochemistry, Quality, Clinical Analysis, Laboratory Diagnostic.

I. Introdução

Em tempos antigos, a identificação de uma determinada patologia era baseada apenas nos sinais observados pelo médico bem como na interpretação dos sintomas. Apesar da experiência e do muito conhecimento que o clínico possuísse poderiam sempre existir erros no diagnóstico e, conseqüentemente, no tratamento implementado. É de senso comum que a saúde é não só um bem essencial ao ser Humano mas também um direito. De modo a que exista mais exatidão no diagnóstico, tratamento e monitorização de patologias, a ciência tem vindo a desenvolver-se na área das Análises Clínicas tornando-se quase imprescindível a requisição da avaliação de parâmetros Bioquímicos, Hematológicos, Microbiológicos e Imunológicos a fim de auxiliar o diagnóstico clínico.

Assim, é extremamente necessário que os profissionais de diagnóstico e terapêutica sejam cada vez mais competentes, sábios e exigentes consigo mesmos, tanto a nível prático quer a nível teórico, uma vez que a qualidade de diagnóstico, monitorização da patologia e da terapêutica se encontra, em certa parte, nas suas mãos.

Com a finalidade de preparar profissionais na área das Análises Clínicas, a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra proporciona aos alunos do Mestrado a oportunidade de realizar um estágio curricular num laboratório que reúne todas as condições necessárias à aprendizagem e consolidação de conhecimentos anteriormente adquiridos.

O meu estágio foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas AVELAB, localizado na cidade de Aveiro, entre os dias 6 de janeiro e 10 de março e de 2 de junho a 31 de junho. A pausa ocorrida entre os dois períodos foi devido à pandemia de COVID-19 existente. Durante o mesmo, tive a oportunidade de trabalhar e aprender nas áreas de Imunologia, Hematologia, Bioquímica e Microbiologia e também nas Colheitas. Neste relatório poderão ser encontradas descritas as atividades e aprendizagens adquiridas ao longo do estágio sendo que apenas serão mais amplamente abordadas as áreas da Bioquímica e Microbiologia.

2. Caracterização do Laboratório AVELAB

O Laboratório de Análises Clínicas AVELAB é constituído pelo seu laboratório central situado na cidade de Aveiro e por mais de cem postos de colheita localizados pela região centro de modo a abranger o maior número de utentes possível.

O Laboratório AVELAB é caracterizado como um laboratório de comunidade que presta serviços nas áreas da Imunologia, Hematologia, Bioquímica e Microbiologia. O Laboratório

central encontra-se sediado num edifício com quatro pisos de maneira a que haja uma subdivisão física dos vários sectores. No piso -1 encontra-se um armazém e uma sala de pausa, no piso 0 uma receção e salas de colheitas, no piso 1 gabinetes médicos de validação e áreas administrativas, no piso 2 laboratórios de bioquímica, imunologia e sala de triagem e no piso 3 laboratórios de microbiologia e hematologia.

O laboratório possui um horário de funcionamento de segunda a sexta das 7:30h às 19:00h e sábados das 8:00h às 13:00h, sendo que as colheitas funcionam apenas da parte da manhã. Existe também serviço ao domicílio, marcado previamente, e serviços em lares, universidades e em serviços de Medicina do trabalho.

A Direção Clínica é assegurada pelos Médicos Especialistas Dr. Alberto Ferreira Neves, Dr. Américo Freitas e Dra. Teresa Raposo e pelo Farmacêuticos Especialistas Dr. António Ferreira Neves, Dra. Irene Sá e Dra. Lurdes Pereira.

Sendo o Laboratório AVELAB um laboratório de ambulatório, o tipo de amostras rececionadas são, na sua maioria, diferentes das rececionadas em meio hospitalar. Assim, os produtos biológicos recebidos com mais frequência são a urina, o sangue venoso, as fezes, os exsudados vaginais, uretrais e retais, e exsudados nasais. O fluxo de utentes é elevado e por isso o laboratório está equipado com vários aparelhos automatizados de modo obter o maior número de resultados num tempo de resposta curto. Os aparelhos existentes no Laboratório de Análises Clínicas AVELAB bem como as suas funcionalidades estão descritos em anexo (Anexo I). É importante referir que estes equipamentos se encontram agrupados por sectores e não pelo tipo de análises realizadas nos mesmos.

De modo a existir um rastreio pormenorizado das amostras, o laboratório possui o sistema informático Apollo 3. Este é um sistema que se encontra instalado na rede de computadores existente, que por sua vez se encontra conectado aos aparelhos automáticos, aos sistemas de entrada e aos de arquivo, de modo a não perder nenhuma amostra nem falhar a realização de nenhuma análise no processo do doente.

3. Processo Analítico

Segundo Lundberg, o “processo analítico” é todo o procedimento que é realizado com o objetivo de obter um diagnóstico correto, começando na observação clínica do doente, passando pela escolha do teste analítico a realizar até à interpretação dos resultados obtidos.¹ De modo a que um correto diagnóstico seja providenciado ao doente e, conseqüentemente, uma correta terapêutica, é de extrema importância que os erros laboratoriais sejam

minimizados e que os profissionais de saúde sejam cada vez mais aptos e conscientes para as boas práticas laboratoriais. De modo a oferecer qualidade nos resultados laboratoriais, o processo analítico foi dividido em três fases distintas - Fase Pré-Analítica, Fase Analítica e Fase Pós-Analítica - o que permite que os possíveis erros sejam categorizados cronologicamente e assim facilmente detetados e resolvidos.

3.1. Fase Pré-Analítica

A fase pré-analítica engloba todo o processo anterior ao da análise da amostra biológica propriamente dita, iniciando na requisição de exames laboratoriais pelo clínico, passando pela colheita da amostra biológica e transporte/acondicionamento da mesma para os laboratórios^{1,2}.

De acordo com estudos realizados, esta fase pré-analítica é uma das fases mais suscetível ocorrerem de erros que, por sua vez, comprometem o resultado final do trabalho laboratorial pois é uma fase com bastante intervenção humana². De modo a que esses erros sejam minimizados, é necessário que os laboratórios se assegurem que os profissionais de saúde responsáveis pelas colheitas possuem formação e consciência das práticas que oferecem qualidade ao resultado final bem como estabelecer padrões de aceitação das amostras, tornando-se então imprescindível a existência de um bom sistema de triagem dos produtos biológicos ao darem entrada no laboratório.

Colheitas no Laboratório AVELAB

Durante o estágio, tive a oportunidade de trabalhar na área das colheitas. Neste período pude fazer parte e realizar o processo de colheitas de amostras biológicas como o sangue, urina, fezes e ar expirado para testes de pesquisa *in vivo* de *Helicobacter pylori*. Devido a esta oportunidade, pude verificar como algumas das práticas mal realizadas nesta fase, tal como má etiquetagem/identificação da amostra, falta da assinatura do técnico responsável pela colheita, omissão ou má explicação das condições de preparação do utente para a colheita, tempo de garrote incorreto, agitação incorreta de tubos de amostras sanguíneas, tempo de retração incorreto, ordem incorreta de colheita, etc. condicionam realmente os resultados obtidos (Tabela I).

Triagem no Laboratório AVELAB

No AVELAB, tanto as amostras colhidas centralmente como as colhidas nos postos são encaminhadas para a triagem. As amostras de postos são recebidas em arcas refrigeradoras, devidamente acondicionadas, identificadas e acompanhadas de uma folha de trabalho onde constam todas as amostras que deram saída no posto, identificadas pelos seus respetivos

números mecanográficos. Relativamente às amostras colhidas no laboratório central, estas são identificadas na receção ou na sala de colheitas. De seguida, todas as amostras são introduzidas no sistema Apollo, iniciando-se o processo a nível do laboratório central. Posteriormente, as amostras são divididas por sectores, de acordo com as análises requisitadas, e por isso, processadas de diversas formas. Por motivos de estrutura do relatório, o processamento e a triagem de cada amostra serão explicados no capítulo da área correspondente.

3.2. Fase Analítica

Designa-se por fase analítica todos os processos que estão diretamente relacionados com a análise laboratorial. A verificação dos equipamentos, reagentes, condições ambientais e o estabelecimento de critérios de validação de resultados - CQI e CQE - são exemplos de processos englobados por esta fase. Devido ao aumento crescente de equipamentos automatizados nos laboratórios, esta fase tem tido cada vez menos erros, uma vez que quase todos os erros humanos são eliminados (Tabela I) ³.

3.3. Fase Pós-Analítica

A fase pós-analítica engloba os processos subsequentes aos exames laboratoriais, tais como a validação de resultados de acordo com o historial clínico do doente e reportar esses mesmos resultados aos clínicos. Segundo as estatísticas, esta é outra das fases em que mais erros são cometidos (Tabela I) ³. De modo a minimizar esses erros, muitos laboratórios por todo o mundo têm implementado sistemas de validação automáticos. No laboratório AVELAB, sistemas de validação automática já se encontra estabelecido em alguns sectores, porém, em outros, ainda se encontra em experimentação, tal como será abordado mais adiante neste relatório.

Tabela I - Erros das diferentes fases do processo analítico ^{1,3}.

Fase do Processo Analítico	Tipo de Erro	Percentagem de Frequência
Pré-Analítica	<ul style="list-style-type: none"> - Requisição de Teste Inapropriada - Má Identificação da Amostra - Má Colheita (hemólise, volume insuficiente, etc.) - Armazenamento Inapropriado - Transporte em condições incorretas - Centrifugação incorreta (tempo excessivo, etc.) 	46-68%
Analítica	<ul style="list-style-type: none"> - Falha no controlo de qualidade - Falha no funcionamento dos aparelhos - Mistura de amostras 	7-13%
Pós-Analítica	<ul style="list-style-type: none"> - Validação e Interpretação de dados incorreta - Atraso na obtenção de resultados - Falha em reportar os resultados - Erro da emissão do boletim de resultados 	25-46%

4. Gestão de Qualidade

Entende-se por “Qualidade” a aptidão de um serviço para satisfazer as necessidades do utilizador⁴. Durante o estágio pude constatar que o laboratório AVELAB se preocupa com a qualidade dos serviços prestados. Deste modo, obedece a um sistema de qualidade implementado que consiste no controlo da mesma através de parâmetros internos bem como de parâmetros externos.

4.1. Controlo de Qualidade Interno (CQI)

Para que haja o controlo da qualidade a nível interno, ou seja, um controlo da qualidade dos resultados obtidos ao longo de todo o processo analítico, é necessário que haja um conjunto de procedimentos pré-estabelecidos que é colocado em prática pelos profissionais de saúde do laboratório⁴. No laboratório AVELAB, existe a prática de controlar e calibrar os aparelhos e os reagentes periodicamente. A avaliação da qualidade é realizada através de cartas de controlo que são avaliadas através das regras de Westgard. Assim, se os valores se encontrarem fora dos limites de -2 ou +2 desvio padrão é necessário proceder a uma reavaliação de modo a melhorar a *performance* dos testes laboratoriais. Exemplos de ações que podem ser tomadas são realizar novo controlo, nova calibração e mudança de reagentes.

4.2. Controlo de Qualidade Externo (CQE)

O Controlo de Qualidade Externo (CQE) refere-se à avaliação da qualidade dos resultados obtidos no laboratório por parte de uma organização externa⁴. Periodicamente o laboratório AVELAB executa testes específicos, indicados pelo organismo exterior. O laboratório a ser avaliado recebe da organização externa CQE uma amostra biológica que é analisada de acordo com os ensaios requeridos. Após a obtenção dos resultados estes são reportados à organização de CQE que irá avaliar a qualidade dos mesmos. No caso de os resultados não se encontrarem em conformidade com os previstos, é então enviada uma notificação por parte da entidade avaliadora ao laboratório de modo a que medidas e práticas de correção possam ser tomadas.

Os programas de CQE em que o laboratório AVELAB é participante são o *United Kingdom National External Quality Assessment Service* (UK NEQAS) e o *Randox International Quality Assessment Scheme* (RIQAS). É importante também referir que o mesmo possui o selo de reputação “PME Líder” criado pela IAPMEI, e ainda se encontra certificado de acordo com a norma ISO 9001 pela Bureau Veritas Certification.

5. Imunologia

O sistema imunitário é o conjunto de células que tem por objetivo proteger organismos multicelulares de possíveis agentes patogénicos, processos inflamatórios e até mesmo de processos tumorais. No entanto, não é um sistema que trabalha sozinho, mas sim interagindo com muitos outros sistemas do organismo, como por exemplo o sistema endócrino, nervoso e metabólico⁵.

Por norma, a amostra biológica mais utilizada para a realização dos testes imunológicos é o sangue, nomeadamente o soro, no entanto pode também ser utilizado plasma e em alguns ensaios a urina. Deste modo, uma vez o sangue colhido e aquando da entrada na triagem do laboratório central AVELAB este é centrifugado ficando separado em duas fases distintas: as células sanguíneas propriamente ditas e o soro.

No laboratório de Imunologia são utilizados dois aparelhos para a realização dos testes. O aparelho Phadia 250 é destinado à realização de testes de alergias e autoimunidade através da tecnologia ImmunoCAP (Anexo III) e no Architect ci8200 executam-se testes tais como Ac Anti HIV 1 e 2 e Ag p24, HBsAc, HBsAg, AFP, beta-hCG, Ac Anti-CMV IgG e IgM, Ac Anti-*Toxoplasma gondii* IgG e IgM, PSA livre e total, Ac Anti-Vírus da Rúbeola IgG e IgM, etc. (Anexo II). Os testes são realizados de modo a detetar reações de Ag-Ac. No laboratório de Imunologia, os controlos para todas as análises são realizados diariamente, através de um kit disponibilizado pela marca dos aparelhos (Multichem IA). Este kit possui três níveis de controlo, sendo o nível 1 o nível não patológico, o nível 2 o intermediário e o nível 3 o patológico. Estes níveis são controlados alternadamente nos vários dias de trabalho. As calibrações são realizadas apenas quando o aparelho deteta que são necessárias ou quando existe mudança de lotes de reagentes.

6. Hematologia

A Hematologia é a área na qual se estudam as células sanguíneas, nomeadamente os eritrócitos, leucócitos e plaquetas, bem como a sua produção e os órgãos onde estas são produzidas. Através deste estudo, baseado na medição de constantes hematimétricas, velocidade de sedimentação, coagulação e na visualização ao microscópio ótico de um esfregaço sanguíneo, podem ser detetadas e caracterizadas várias patologias.

No laboratório de Hematologia da AVELAB, os controlos e as calibrações são realizados todos os dias como primeira tarefa.

Diariamente são rececionados dois tipos de tubos de sangue total. Um contém EDTA, que é utilizado como anticoagulante; o outro contém citrato de sódio, utilizado como tampão. De acordo com as requisições, cada amostra é submetida a análises diferentes. Os tubos com EDTA são utilizados para a realização de análises tais como hemograma, velocidade de sedimentação e avaliação da hemoglobina A_{1c} (parâmetro que será desenvolvido no capítulo da Bioquímica, no entanto, por motivos de logística do laboratório, o aparelho destinado para esta análise encontra-se localizado no sector de hematologia). Enquanto que os tubos com citrato de sódio são utilizados para a realização de estudos da coagulação, estudos de grupos sanguíneos, provas de Coombs e testes de dímero D.

Nos aparelhos Sysmex XT-2000i e Sysmex XE-2100 é efetuado o hemograma, onde são quantificadas as células sanguíneas, tais como os eritrócitos, leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos), plaquetas e reticulócitos. São também avaliados parâmetros hematimétricos como VGM, HGM, CHGM e RDW, bem como outros parâmetros como o hematócrito e quantificação de hemoglobina. As alterações no hemograma são detetadas pelo aparelho e, caso se justifique, é realizado um esfregaço sanguíneo manual de modo a observar a morfologia das células direcionando-se o diagnóstico para determinadas patologias, sendo as mais comuns as anemias.

Quanto ao estudo da coagulação, diferentes parâmetros são avaliados, tais como o tempo de protrombina, com o seu respetivo *International Normalized Ratio* (INR), doseamento de fibrinógeno, tempo de tromboplastina parcial ativada, etc.

Quando finalizadas as análises requeridas pelo clínico, estas são validadas por técnicos superiores e por médicos através do sistema Apollo.

7. Microbiologia

A Microbiologia é a área da ciência que estuda a biologia de vários microrganismos tais como bactérias, vírus, parasitas e fungos. Estudos efetuados mostram que os seres humanos possuem uma relação muito estreita com estes microrganismos⁶. Estes organismos que coabitam com as células humanas são denominados de microbiota e constroem uma relação de simbiose com o nosso organismo protegendo-nos de agentes patogénicos e de agentes externos agressores. No entanto, baixa de imunidade, barreiras físicas destruídas ou efeitos secundários relacionados à toma de fármacos estão entre os inúmeros fatores que podem fazer com que a microbiota deixe de exercer efeitos protetores e passe a ser responsável por processos

patológicos. É por esta razão que atualmente a área da microbiologia é tão importante na saúde pública.

Num laboratório de microbiologia, de modo geral, os agentes microbianos causadores de patologias são isolados, identificados e determinadas as resistências e sensibilidades a antibióticos de modo a que a terapia seja o mais direcionada possível.

De igual modo, o controlo de qualidade interno e externo de cada laboratório, constitui uma parte fundamental e imprescindível no correto diagnóstico laboratorial. Isto é tão importante para a saúde individual como também para a melhoria da saúde pública.

7.1. Triagem das Amostras do Laboratório de Microbiologia

Ao laboratório de Microbiologia do AVELAB chegam vários tipos de amostras para exame microbiológico, nomeadamente amostras de urina, fezes, expetoração, exsudados vaginais, rectais e uretrais, exsudados nasofaríngeos, exsudados de feridas, raspados de unhas, entre outros. As amostras de urina são as mais frequentemente rececionadas.

No setor de triagem da microbiologia verifica-se o correto acondicionamento das amostras, bem como se se encontram bem identificadas com etiqueta associada, que contém nome do utente e número mecanográfico interno e o volume, no caso de uma amostra de urina. Caso algum destes parâmetros não se encontre em concordância com as regras de boas práticas, a amostra é rejeitada ou assinalada no livro de ocorrências. É dada a entrada de cada amostra individualmente no sistema Apollo onde começam a ser rastreadas.

As amostras urinárias são divididas por setores conforme as análises a serem realizadas (Figura I). Relativamente às outras amostras acima mencionadas, estas são colocadas em tabuleiros e seguem para análise.

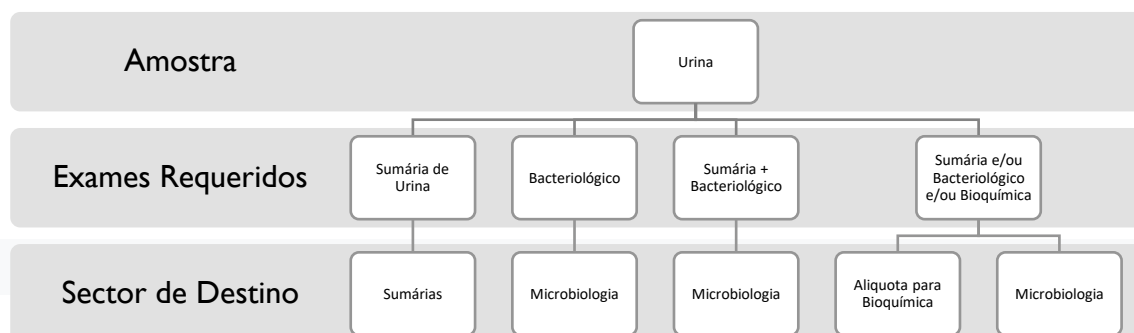


Figura I - Circuito das amostras de urinárias no setor de Microbiologia

7.2. Exame Bacteriológico

A maior parte dos exames microbiológicos realizados no laboratório de Microbiologia do AVELAB são bacteriológicos. O Exame bacteriológico engloba vários procedimentos desde a observação morfológica das bactérias, o isolamento bacteriano em meios de cultura apropriados, identificação e posterior teste de sensibilidade a antibióticos. Por esse motivo, explicarei, nos subcapítulos que se seguem, o procedimento de um exame bacteriológico com mais pormenor. No entanto, posteriormente será apresentado o processamento efetuado para cada tipo de amostra, incluindo outros exames como o parasitológico ou micológico com base em alguns casos reais com os quais tive a oportunidade de trabalhar durante o meu estágio neste setor.

7.2.1. Exame Macroscópico

O exame macroscópico consiste na observação a olho nú das características da amostra, como por exemplo a cor, turvação, consistência, existência de muco ou sangue (porções de amostra que devem ser as eleitas para recolha e posterior processamento). A recolha de toda esta informação auxilia o microbiologista na orientação de todo o processamento para um diagnóstico final ⁷. Por estas razões, o exame macroscópico marca a primeira etapa do exame bacteriológico.

7.2.2. Exame Microscópico Direto

O exame microscópico direto consiste na observação direta da amostra biológica ao microscópio ótico, fornecendo informações sobre a qualidade da amostra e a morfologia da(s) bactéria(s) presente(s), característica esta determinante na seleção do meio de cultura para isolamento.

Este exame é realizado a fresco e/ou através de técnicas de coloração diferencial. Em situações críticas, que ocorrem com mais frequência a nível hospitalar, como seja uma suspeita de meningite, a prática do exame microscópico pode orientar a terapia a ser administrada mesmo antes da bactéria ser isolada e identificada. É muito útil por ser uma técnica rápida e de baixo custo ¹⁰.

No laboratório AVELAB, o exame a fresco é realizado em primeiro lugar para alguns tipos de amostra e de seguida é complementado com técnicas auxiliares de coloração diferencial, as quais tive a oportunidade de realizar. São elas a coloração de Gram, coloração de Ziehl-Neelsen e coloração de Azul de Lactofenol que se encontram, seguidamente, descritas ao pormenor.

Exame a Fresco

O exame a fresco, tal como indica o nome, é realizado sem a adição de nenhum reagente ou corante. É realizado através da observação microscópica de uma preparação entre lâmina e lamela da suspensão do material biológico. Este tipo de exame permite avaliar a qualidade da colheita (procedendo-se à contagem de células epiteliais), o grau de infeção e invasão do agente etiológico (contagem de células leucocitárias e eritrocitárias) e ainda a semi-quantificação de bactérias (muitas ou raras).

No laboratório AVELAB, as amostras biológicas de rotina que são observadas pelo exame a fresco são as amostras de urina, fezes e exsudatos uretrais, vaginais e/ou retais. A observação a fresco de algumas amostras, como é o caso de amostras nasofaríngeas, não apresenta nenhuma vantagem para a escolha do procedimento a ser tomado.

Coloração de Gram

A Coloração de Gram é a coloração mais utilizada no laboratório de microbiologia para bactérias e é realizada em amostras onde existe uma suspeita de infeção. Esta técnica tem por objetivo auxiliar o profissional de saúde na identificação da morfologia das bactérias presentes (cocos, bacilos ou cocobacilos) bem como na sua classificação (Gram positivas ou Gram negativas) e agrupamento (como por exemplo estafilococos ou estreptococos). Todas estas informações vão orientar o microbiologista para a escolha do(s) meio(s) de cultura a selecionar ou prova(s) de identificação a realizar ^{6,7}.

Na Coloração de Gram, um primeiro corante é aplicado (violeta de cristal ou de genciana) corando todas as bactérias presentes na amostra. Ao ser aplicado o diferenciador (álcool-acetona), algumas bactérias possuem a capacidade de reter o primeiro corante devido à rica composição de ácido teicóico e peptidoglicano da sua parede celular. Estas bactérias são classificadas de Gram positivas e apresentam uma coloração arroxeadada. Já o outro tipo de bactérias, não possui essa capacidade devido ao facto de ter uma parede celular com composição diferente. Quando são submetidas ao diferenciador, estas descoram e coram de rosa aquando da aplicação do corante de contraste (fucsina). Estas são classificadas de Gram negativas. Este tipo de classificação é bastante importante, uma vez que a parede celular das bactérias está muito ligada ao seu metabolismo e biossíntese proteica. Tendo este conhecimento, permite ao clínico orientar uma terapêutica adequada ao utente ^{6,7}.

Com esta coloração é possível também observarem-se fungos, tanto a sua forma leveduriforme como a filamentosa, que se apresentam corados de roxo. No entanto, é importante salientar que estes microrganismos não podem ser classificados de Gram positivos

ou Gram negativos. Este tipo de coloração para leveduras é muito útil na medida em que auxilia na distinção de artefactos existentes nas amostras biológicas.

Coloração de Ziehl-Neelsen

Algumas bactérias contêm longas cadeias de ácidos gordos conhecidas como ácido micólico, impedindo que corantes básicos, como o cristal de violeta ou genciana, penetrem a sua parede celular. Deste modo, outro tipo de técnicas de coloração deve ser utilizado para visualizar e identificar estas bactérias, como é o caso da coloração de Ziehl-Neelsen (ZN).

Neste tipo de bactérias, o corante primário (fucsina) liga-se ao ácido micólico e este é retido mesmo após a diferenciação por álcool-ácido. Por este motivo, estas bactérias denominam-se “álcool-ácido resistentes”. Esta técnica pode recorrer ao calor (técnica a quente) para ajudar a fucsina a entrar com mais facilidade no interior das células. O corante de contraste (azul de metileno) tem a função de corar todas as outras células e estruturas não álcool-ácido resistentes presentes na amostra, formando um contraste para a visualização das micobactérias ^{7,8}.

No Laboratório de microbiologia da AVELAB, esta coloração é utilizada em amostras de expectoração para a pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis*.

Coloração de Azul de Lactofenol

A coloração de azul de lactofenol baseia-se na utilização do corante Azul de Lactofenol para corar estruturas fúngicas. Utilizam-se amostras de unhas, escamas de pele, pelos e cabelos ou culturas fúngicas (com o auxílio de fita-cola) ⁹.

As amostras que mais frequentemente são submetidas a esta técnica no laboratório AVELAB são os raspados de unhas.

7.2.3. Exame Cultural

Após a observação da morfologia das bactérias através do exame microscópico, que forneceu informação preliminar acerca da bactéria potencialmente envolvida na infeção, segue-se o exame cultural. O objetivo deste exame é promover o crescimento das bactérias e isolá-las, de modo obter quantidade suficiente da bactéria clinicamente relevante e, posteriormente, proceder à sua identificação através de provas de identificação ¹⁰.

O crescimento bacteriano in vitro é conseguido através da utilização de meios de cultura que fornecem todos os nutrientes necessários, do ponto de vista metabólico, à proliferação e desenvolvimento das bactérias ⁶.

No Laboratório AVELAB são utilizados três tipos de meios: meios de enriquecimento, diferenciais e seletivos. Os meios de enriquecimento possuem nutrientes específicos para certas bactérias patogênicas, favorecendo o seu crescimento mais rápido. Os diferenciais, para além de potenciarem o crescimento das colónias, diferenciam-nas visualmente, com mudanças de cor, por exemplo, através de reações bioquímicas. Os meios seletivos possuem agentes inibitórios específicos para a maioria dos microrganismos, exceto para aqueles que se consideram suspeitos e patológicos nessa amostra ¹⁰.

No laboratório AVELAB a escolha do meio de cultura a ser utilizado depende da amostra em questão, do tipo de morfologia, agrupamento e da classificação de Gram que se observou no exame microscópico. Os meios de cultura e caldos de enriquecimento que são utilizados neste laboratório encontram-se mencionados na Tabela II.

Após inoculação da amostra no meio de cultura, vários fatores podem influenciar o crescimento bacteriano, tais como, temperatura, pH, percentagem de CO₂, etc. A maior parte dos microrganismos patogênicos crescem a uma temperatura compreendida entre os 35°C e 37°C (temperatura corporal média do ser humano) e num ambiente atmosférico normal. Assim, no laboratório de microbiologia da AVELAB, os meios inoculados são colocados numa estufa que se encontra com uma temperatura de 36°C. Para culturas em que existe suspeita da presença de *Neisseria gonorrhoeae* ou *Streptococcus pneumoniae* é extremamente importante que estas sejam incubadas a 5-10% de CO₂, uma vez que estas espécies são fastidiosas. No laboratório da AVELAB esta condição é conseguida através da técnica da vela. O tempo médio de incubação, de acordo com as boas práticas laboratoriais é de 18-24h.

Tabela II - Meios e caldos utilizados no laboratório AVELAB e as suas funções e características ¹⁰.

Meios de Cultura	Função e Características
Levine	Meio seletivo e diferencial para bacilos entéricos fermentadores e não fermentadores da lactose.
Gelose CLED	Meio diferencial para microrganismos fermentadores e não fermentadores de lactose.
Manitol Salgado	Meio seletivo para <i>Staphylococcus</i> spp. e identificação presuntiva de <i>Staphylococcus aureus</i> .
chromID MRSA SMART	Meio seletivo para <i>Staphylococcus aureus</i> e diferencial para meticilina resistentes ou não resistentes.
chromID StreptoB	Meio cromogénico seletivo para <i>Streptococcus</i> do grupo B, nomeadamente <i>Streptococcus agalactea</i> .
Sabouraud com cloranfenicol	Meio de isolamento para fungos leveduriformes e filamentosos com inibição de crescimento bacteriano.
Gelose de Sangue	Meio enriquecido e diferencial para microrganismos com necessidades nutricionais específicas. (observação de reações de hemólise).
PVX (Gelose de Chocolate)	Meio que favorece o crescimento de <i>Haemophilus</i> spp. e <i>Neisseria</i> spp.

Salmonella-Shigella agar (SS)	Meio seletivo e diferencial para <i>Salmonella</i> spp. e <i>Shigella</i> spp.
CHROMOagar Orientation	Meio cromogénico para diferenciação de bactérias patogénicas do trato urinário. Faz diferenciação direta de <i>Escherichia coli</i> e presuntiva de Enterobacteriaceae (grupo PMP spp. e grupo KESC), e de Enterococcus (<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus saprophyticus</i>).
Mueller-Hinton	Meio usado para realização de TSA por método de difusão em disco.
Candida Select	Meio cromogénico seletivo e diferencial para leveduras. Diferenciação direta entre <i>Candida albicans</i> e outras espécies patogénicas de leveduras (<i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> e <i>C. krusei</i>).
Campyloset	Meio seletivo para <i>Campylobacter</i> spp. em amostras de fezes.
Columbia	Meio seletivo para bactérias Gram-positivas.
Caldo TODD	Meio de enriquecimento para isolamento de <i>Streptococcus agalactiae</i> em exsudados vaginais/retais e inibição da flora comensal.
Caldo de Selenito	Meio de enriquecimento para <i>Salmonella</i> spp.

7.2.4. Provas de Identificação

Como referido anteriormente, o tempo médio de incubação das culturas bacterianas e de leveduras é de 18-24h. Por este mesmo motivo, no laboratório de microbiologia do AVELAB, as culturas incubadas são observadas na manhã seguinte. Caso as culturas sejam positivas, são anotadas as suas características macroscópicas tais como cor, forma, formação de pigmento, produção de H₂S, muco, etc. na requisição com identificação do doente e seguem para os testes de identificação. Caso não se observe crescimento, é anotado o tempo de incubação a que está a ser feita a observação e é novamente colocada na estufa. Tal prática é realizada pois a cultura poderá positivar às 48h de incubação. Os fungos filamentosos crescem a uma temperatura ótima de 30°C durante um período de 21 a 30 dias.

Após a obtenção de culturas positivas são realizadas provas de identificação (baseadas em provas fisiológicas e bioquímicas), caso o meio de cultura utilizado não diferencie espécies bacterianas.

No laboratório de microbiologia do AVELAB são realizadas provas manuais e provas automatizadas. Estas últimas são realizadas no aparelho BD 100 Phoenix. As provas de identificação automatizadas são sempre realizadas, exceto quando em amostras de urina cultivadas em CHROMOagar Orientation é possível identificar com confiança a bactéria envolvida na infeção, como por exemplo *Escherichia coli*. As provas manuais são realizadas apenas quando nos meios seletivos e cromogéneos não foi possível, através da observação macroscópica da colónia, identificar a bactéria patogénica envolvida.

Métodos Manuais

Os métodos manuais mais utilizados no laboratório de microbiologia da AVELAB, e com os quais tive oportunidade de realizar encontram-se descritos na Tabela III.

Tabela III - Provas bioquímicas manuais, as suas funções e resultados esperados ¹⁰.

Prova	Função	Resultado
Indol	Identificação presuntiva de Enterobacteriaceae através da pesquisa da enzima triptofanase.	<i>E. coli</i> e PMP – Indol (+) (azul) <i>Proteus mirabilis</i> e outras Enterobacteriaceae – Indol (-) (rosa)
TDA	Identificação presuntiva de Enterobacteriaceae através da pesquisa da enzima triptofano deaminase.	PMP e <i>Proteus mirabilis</i> – TDA (+) (colónias castanhas) Outras Enterobacteriaceae – TDA (-) (nenhuma reação)
Oxidase	Diferenciação entre as bactérias Gram-negativas.	<i>Pseudomonas</i> spp. – Oxidase (+) (coloração azul na tira teste).
Catalase	Identificação de bactérias Gram-positivo.	<i>Staphylococcus</i> – Catalase (+) (produção de efervescência) <i>Streptococcus</i> e <i>Enterococcus</i> – Catalase (-) (sem produção de gás)
Coagulase	Diferenciação entre <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus saprophyticus</i> .	<i>Staphylococcus aureus</i> – coagulase (+) (com produção de coágulo) <i>Staphylococcus saprophyticus</i> – coagulase – (sem produção de coágulo)

Métodos Automatizados

Tal como descrito anteriormente, o aparelho utilizado para a identificação bacteriana no laboratório AVELAB é o Phoenix 100 BD. Todas as manhãs, após observação macroscópica das culturas, selecionam-se as colónias isoladas, preparam-se as suspensões bacterianas, com turvação 0.5 na escala de McFarland, que contém as bactérias específicas a serem analisadas, prosseguindo-se para as provas de identificação automáticas. Cada suspensão é colocada num painel específico para as bactérias que se suspeita estarem envolvidas na infeção. Esse painel contém poços (por onde a suspensão bacteriana se vai impregnar) com substratos específicos para as provas bioquímicas necessárias à identificação bacteriana. Todos os painéis são devidamente identificados com uma etiqueta onde se encontra um código de barras com o número mecanográfico do utente. Um esquema dos painéis existentes no laboratório de microbiologia da AVELAB encontra-se em anexo (Anexo IV).

7.2.5. Antibiograma ou Teste de Sensibilidade aos Antibióticos

Após identificação da bactéria envolvida na infeção, é necessário conhecer a suscetibilidade aos antibióticos de modo a orientar o tratamento do doente. Esse tratamento tem por objetivo a erradicação do agente patogénico através da antibioterapia.

Uma vez que, a maioria das bactérias clinicamente relevantes adquirem resistência a certos antibióticos, é extremamente importante que o laboratório realize o Teste de Sensibilidade aos Antibióticos (TSA) para as bactérias identificadas¹⁰.

Para determinadas bactérias são bem conhecidas as resistências intrínsecas, como é o caso da resistência natural da *Klebsiella pneumoniae* à amoxicilina e à nitrofurantoína. Esse conhecimento poderia dispensar a realização do TSA para estes dois antibióticos. No entanto, no laboratório de microbiologia do AVELAB, esse teste é realizado de modo automatizado, através do aparelho Phoenix 100 BD, paralelamente à realização dos testes de identificação bacteriana. Deste modo, o TSA é realizado para todas as amostras biológicas. A suspensão efetuada para a identificação bacteriana é utilizada para inocular um caldo enviado pela marca do aparelho, que depois é colocado no painel de antibióticos a serem realizadas. Apesar da existência de automatização no laboratório, existem alguns casos em que técnicas manuais precisam ser efetuadas, como por exemplo a falha do aparelho na realização do teste ou no caso de o aparelho identificar *Klebsiella spp.* com probabilidade de produção de carbapenemases. Para o primeiro caso, realiza-se o TSA pelo método de Kirby-Bauer, em gelose de Mueller-Hinton. A escolha dos antibióticos, impregnados em discos, a serem utilizados é realizada de acordo com o tipo de bactéria que foi identificada. Uma tabela do painel de antibióticos que é utilizado no laboratório AVELAB para este tipo de teste manual encontra-se em anexo (Anexo V).

Após incubação, são medidos, em milímetros, os halos obtidos em torno dos discos e posteriormente comparados com as tabelas de EUCAST para determinação de sensibilidade ou resistência. Quanto maior o halo, mais sensível é a bactéria ao antibiótico. Na Imagem I é possível observar diferentes halos, todos com sensibilidade aos antibióticos em questão.

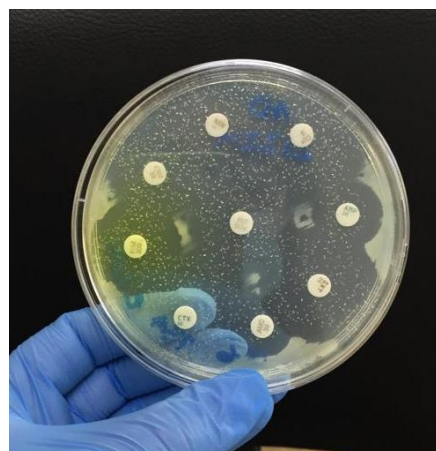


Imagem I - TSA pelo método de Kirby-Bauer

No segundo caso, é realizado um teste fenotípico, denominado de KPC, baseado no Teste de Hodge Modificado, que visa identificar se a bactéria em questão, neste caso *Klebsiella* (enterobactéria Gram negativa), é ou não produtora de carbapenemases. As carbapenemases são enzimas que hidrolisam antibióticos utilizados no tratamento, os carbapenemos, conferindo resistência. A realização deste teste é muito importante, uma vez que a frequência da infecção por parte de enterobactérias resistentes aos carbapenemos está a aumentar significativamente nas unidades de saúde portuguesas bem como no mundo, podendo levar à morte dos doentes^{11,12}. O teste realiza-se utilizando uma gelose de Mueller-Hinton onde se semeia, através da técnica de sementeira em toalha, uma estirpe de *E. coli*. Posteriormente é colocado um disco de

antibiótico do grupo dos carbapenemos, como por exemplo o imipenem, no centro da gelose. É semeada então a cultura de *Klebsiella* em quatro estrias com início no disco de antibiótico. Após um período de 18-24h, se *Klebsiella* for produtora de carbapenemases, estas enzimas hidrolisam o antibiótico possibilitando assim o crescimento de *E. coli* em torno do disco de antibiótico, conferindo ao teste a positividade, tal como como se pode observar na Imagem II. Caso contrário não se verifica crescimento da mesma.

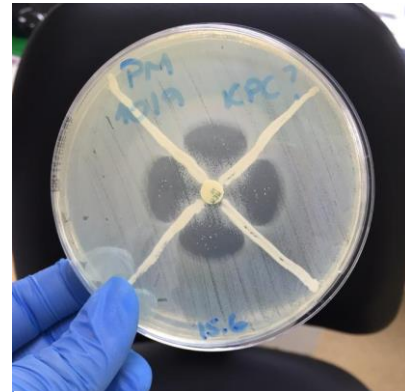


Imagem II - Teste de KPC positivo.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de preparar e efetuar tanto as técnicas automatizadas como as técnicas manuais.

7.3. Principais Amostras Biológicas do Laboratório

Neste subcapítulo serão abordados os procedimentos de rotina realizados no laboratório de microbiologia do AVELAB para cada tipo de amostra biológica. Serão apresentados casos clínicos em contexto real, com os quais tive a oportunidade de participar no processo laboratorial durante o estágio. Por este motivo, os resultados apresentados serão específicos para determinados agentes microbianos. Sempre que possível serão apresentadas imagens dos resultados. É importante ressaltar que, por questões de privacidade, os nomes dos utentes não serão mencionados assim como os números mecanográficos associados.

7.3.1. Urina

Uma das infeções mais frequentes na comunidade é a infeção do trato urinário. Apresenta maior incidência nas mulheres, uma vez que a uretra feminina é anatomicamente mais curta, podendo existir outros fatores determinantes para a infeção do trato urinário (ITU) tais como gravidez, idade, pacientes cateterizados, etc. A causa de ITU pode ser tanto bacteriana como micológica. No entanto, a bacteriana continua a ser a mais prevalente.

O diagnóstico clínico de uma ITU baseia-se nos sintomas, na análise sumária da urina e na urocultura, sendo que o laboratório desempenha um papel muito importante em relação à realização dos últimos dois testes ¹³.

A análise sumária da urina consiste na realização de dois procedimentos: análise da urina não centrifugada através de uma tira-teste, onde se analisam parâmetros como nitritos, leucócitos, pH, eritrócitos, proteínas, glucose, etc. e análise microscópica a fresco do sedimento urinário de urina centrifugada que permite a observação da presença ou não de bactérias, células epiteliais, leucócitos, eritrócitos e cristais. Apesar desta análise avaliar

parâmetros da área da Bioquímica, realiza-se no laboratório de Microbiologia da AVELAB e por esta razão encontra-se descrito neste subcapítulo a sua importância.

Colheita

Uma vez que a colheita da urina é frequentemente realizada pelos próprios utentes através de métodos não invasivos, como é o caso da colheita pelo método do jato intermédio, torna-se extremamente importante a transmissão de instruções corretas sobre a colheita, por parte do técnico ao paciente. A urina é um fluido biológico estéril, pelo que, quando é observada contaminação do trato urinário inferior pode indicar uma má colheita. Deste modo, para um diagnóstico laboratorial fidedigno torna-se imprescindível a diferenciação, por parte do profissional de saúde, entre colonização, contaminação ou infeção.

De modo a garantir a qualidade dos exames a serem executados, existem algumas normas a ser cumpridas, tais como: o volume mínimo recomendado de urina é de 10ml para os adultos e 5ml para as crianças; a colheita deve ser realizada para um frasco esterilizado; a amostra biológica deve ser refrigerada se a colheita foi efetuada num tempo superior a duas horas; o recipiente deve ser devidamente identificado e deve estar bem acondicionado e não vertido; em doentes algaliados a urina não deve ser colhida dos sacos coletores mas sim através de métodos invasivos como a colheita suprapúbica. Se algum destes requisitos não for cumprido, a amostra poderá ser rejeitada.

Exame Microscópico e Cultural

Como mencionado anteriormente, as urinas que dão entrada no laboratório de microbiologia com indicação para a realização de sumária de urina e urocultura são submetidas, em primeiro lugar, a análise bioquímica no aparelho Aution Max AX-4030. Se o aparelho não detetar sinal de infeção, a amostra é arquivada e é dada como resultado negativo. Caso o aparelho detete possível infeção, a amostra é centrifugada e segue para análise do sedimento urinário.

Num dos casos que tive a oportunidade de participar no procedimento, o indivíduo era do sexo feminino e na requisição pedia-se sumária de urina e exame bacteriológico. Deste modo, foi colocada uma alíquota da amostra de urina no aparelho e detetou-se possível infeção. Assim, centrifugou-se a urina e analisou-se microscopicamente o sedimento urinário numa ampliação de 100x onde se observaram 5-10 células epiteliais normais e de transição, e numa ampliação de 400x onde foram observados 25-50 leucócitos e 5-10 eritrócitos e cocos agrupados em estafilococos (Imagem III). Não foram observados cristais nem fungos ou parasitas.

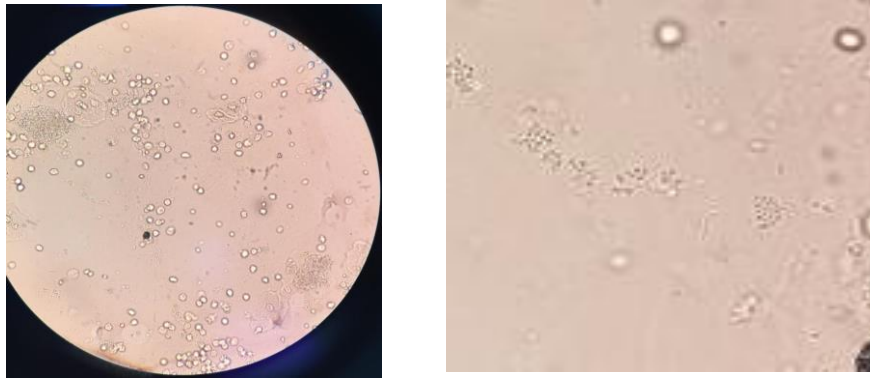


Imagem III – Observação microscópica do sedimento urinário: células epiteliais normais e de transição, leucócitos, eritrócitos e cocos em agrupamento estafilococos. (Esquerda: ampliação 100x; Direita: ampliação 400x)

Posteriormente, foi realizada uma coloração de Gram onde se observaram células epiteliais de transição, leucócitos e cocos Gram positivos em agrupamento estafilococos. A quantificação dos microrganismos foi registada na folha de trabalho que acompanha a amostra.

De seguida, foi feita uma urocultura, semeando entre 1 a 10 μ l de amostra, com o auxílio de uma ansa calibrada, os meios de cultura CHROMagar Orientation (que é utilizado para a maioria das bactérias encontradas na urina) e o Manitol Salgado, que foram selecionados de acordo com o microrganismo observado na coloração de Gram. Os meios de cultura foram incubados a 36°C durante 18-24h após o qual se procedeu à observação e interpretação dos resultados obtidos.

Interpretação de Resultados

No meio de cultura CHROMagar Orientation observaram-se colónias pequenas de cor rosa (Imagem IV) e no meio de Manitol Salgado observaram-se colónias amarelas.

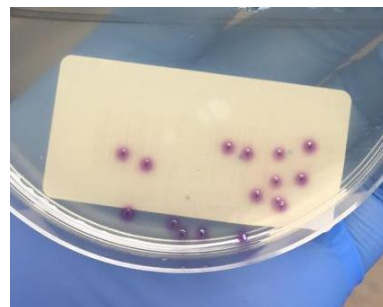


Imagem IV - Colónias pequenas cor-de-rosa no meio de cultura CHROMagar Orientation.

Atendendo às informações obtidas no sedimento urinário, coloração de Gram e nos meios de cultura, suspeitou-se de uma infeção por *Staphylococcus*

saprophyticus, uma vez que estas bactérias são cocos Gram positivos que se apresentam em grupos estafilococos, as colónias apresentam tamanho pequeno e cor rosa em meio CHROMagar Orientation e fermentam o manitol no meio de Chapman (característica de *Staphylococcus*) apresentando uma cor amarela neste meio. Adicionalmente, este tipo de bactéria é uma das mais comuns, juntamente com *Escherichia coli*, nas ITU, causando uma infeção severa compatível com a observação de eritrócitos, leucócitos e células de transição

no sedimento urinário e coloração de Gram. De modo a complementar a informação, poderia ser realizado um teste de coagulase, onde o resultado esperado seria negativo.

Todas estas informações foram anotadas na requisição do utente, inclusive o número de colónias observadas e se a cultura foi monomórfica ou polimórfica. Neste caso, foi uma cultura monomórfica (Imagem IV), o que significa que não houve contaminação durante a colheita e que pode ser dada como fidedigna. Por fim, foi preparado o painel para teste automatizado de identificação e TSA adequado para o tipo de microrganismo que foi observado. O aparelho confirmou a identificação realizada anteriormente bem como determinou a suscetibilidade aos antibióticos.

7.3.2. Fezes

O intestino Humano é colonizado por inúmeras espécies de bactérias da família Enterobacteriaceae (bacilos Gram negativos). No entanto, em determinadas situações, algumas dessas bactérias podem causar infeção ao hospedeiro, como por exemplo *Escherichia coli*. Em contraste, outras espécies, como é o caso de *Salmonella spp.* ou de *Shigella spp.*, não colonizam em momento algum o intestino Humano, pelo que a sua presença possui sempre um carácter patológico. O ser humano fica contaminado com estas bactérias patogénicas através da ingestão de alimentos ou águas contaminadas ¹⁴.

Apesar de as causas mais comuns de gastroenterite serem devido a agentes bacterianos, outros microrganismos podem estar envolvidos como por exemplo vírus, parasitas ou fungos. Deste modo, torna-se extremamente importante a realização do exame laboratorial (coprocultura, micológico, parasitológico e serológico) não só para identificar o agente etiológico da doença, mas também para orientar a terapêutica através da realização de TSA.

Colheita

A colheita deve ser realizada, com o auxílio de uma espátula, para um recipiente estéril. Deve ser colhida uma amostra de fezes com tamanho aproximado a uma noz e em dias diferentes, especialmente para pesquisa de parasitas. O frasco deve ser hermeticamente fechado e entregue no laboratório o mais rápido possível.

Exame Macroscópico, Microscópico e Cultural

Durante o estágio, rececionei uma amostra de fezes que se encontrava nas condições apropriadas de transporte e condicionamento. Tratava-se de uma criança do género masculino com 16 meses de idade. No exame macroscópico verificou-se que a amostra apresentava uma consistência normal, cor acastanhada e ausência aparente de zonas com muco ou sangue. É importante salientar, que caso existam tais elementos na amostra, estes devem ser

selecionados, pelo profissional de saúde, para observação do esfregaço. Na requisição do utente era pedido a realização de um exame Bacteriológico-Micológico-Parasitológico (BMP), que é o exame de rotina realizado com mais frequência neste tipo de amostra. Para tal foi necessária a observação a fresco de um esfregaço de fezes, a fim de se detetar a presença de fungos e/ou parasitas, leucócitos e eritrócitos, e proceder à cultura em caldo Selenito, SS e Sabouraud agar para a deteção e identificação de bactérias e fungos. A cultura em meio Campyloset para pesquisa de *Campylobacter spp.*, é realizada apenas quando o clínico o sugerir. Aquando da observação do esfregaço ao microscópio ótico, foi possível a observação de elementos celulares com estruturas leveduriformes e muito poucos eritrócitos (Imagem V). A alteração da flora intestinal é muito frequente em crianças que frequentemente ingerem açúcares uma vez que após fermentação, por parte das bactérias, o pH é alterado, permitindo o crescimento anormal de estruturas fúngicas.

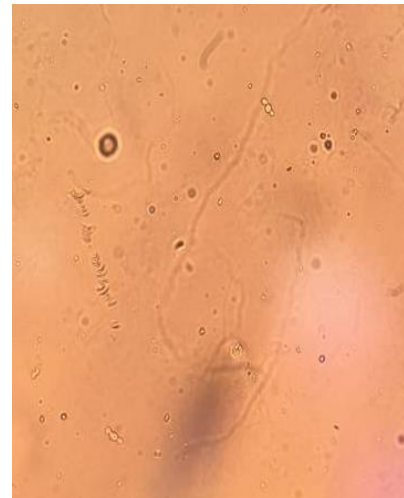


Imagem V - Observação de poucos eritrócitos e estruturas leveduriformes em esfregaço de fezes.

De seguida, foi realizada a coprocultura em meios adequados. Semeou-se, com o auxílio de uma ansa, a amostra de fezes em Caldo Selenito, SS e Sabouraud e incubou-se a 36°C durante um período de 18-24h, em ambiente de aerobiose. Após esta incubação observaram-se as culturas: o meio Sabouraud apresentava inúmeras colónias brancas sugestivas de *Candida spp.* e o meio SS apresentava colónias incolores com centro negro (Imagem VI).

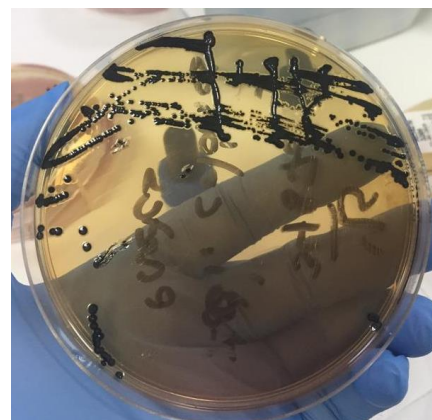
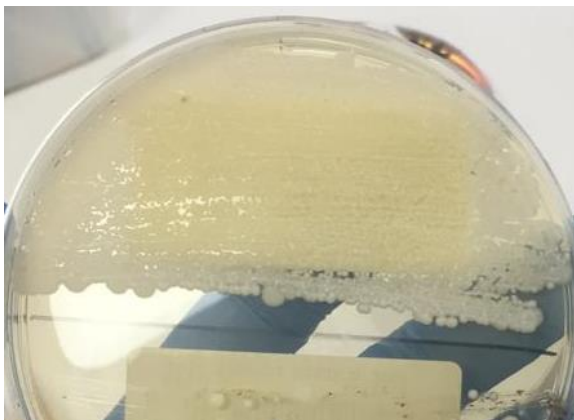


Imagem VI - Colónias fúngicas em meio Sabouraud (esquerda) e colónias bacterianas com centro negro em meio SS (direita).

Estes resultados foram anotados na requisição do doente e foi repicada a amostra do Caldo Selenito para um novo meio SS. Todas as placas (dois meios SS e um meio Sabouraud) foram incubadas novamente em condições semelhantes à incubação efetuada anteriormente.

Após período de incubação foram observadas novamente as colónias obtidas que não apresentaram alterações nos resultados.

Interpretação de Resultados

Pelas colónias observadas no meio de Sabouraud juntamente com a informação obtida no esfregaço de fezes é possível concluir-se que existe a presença de fungos sugestivos de *Candida spp* e não existe presença de parasitas. Através do meio SS foi possível observar colónias com centro negro sugestivas de *Salmonella spp.* ou *Proteus spp.*. As duas espécies apresentam as mesmas características visuais (colónias incolores com centro negro) pois ambas não são fermentadoras da lactose e são produtoras de sulfureto de hidrogénio (H₂S). Foi necessário então recorrer-se a técnicas manuais para distinção das bactérias suspeitas. O teste realizado foi o teste da aglutinação através do kit Microgen® que se baseia no uso de partículas de látex revestidas de soro de ratinho anti-Ag de *Salmonella*. Deste modo, quando a amostra é adicionada a estas partículas, se *Salmonella* estiver presente na amostra observa-se a olho nú a aglutinação das partículas. No teste realizado à amostra referente a este caso clínico, não se observou aglutinação (Imagem VII), que, por exclusão nos permitiu concluir que a bactéria envolvida na infeção seria um *Proteus spp.*



Imagem VII - Teste de aglutinação para distinção entre *Salmonella spp.* e *Proteus spp.*: (3) controlo positivo (aglutinação); (6) amostra em estudo (ausência de aglutinação).

Deste modo, foi escolhido o painel apropriado para testes automatizados de identificação e TSA que não só nos permitiu confirmar tratar-se de um *Proteus spp.* bem como identificar a espécie e susceptibilidade a antibióticos.

7.3.3. Exsudados Uretrais, Vaginais e Retais

Vários microrganismos podem causar infeções vaginais e uretrais tais como vírus, bactérias, parasitas e fungos. Em algumas situações, como por exemplo sistema imune deprimido, alteração de pH ou a idade, poderão alterar as bactérias presentes na microbiota provocando uma infeção. Um exemplo, que será abordado mais adiante, são o caso das vaginoses bacterianas. Este tipo de infeção ocorre por existir um desequilíbrio da microbiota vaginal, havendo a diminuição de *Lactobacillus* (bactérias pertencentes à microbiota). Esta alteração origina um aumento de pH da mucosa vaginal, permitindo que outro tipo de bactérias, como por exemplo *Gardnerella vaginalis*, prolifere em excesso.

No laboratório de microbiologia da AVELAB são realizados exames a exsudados uretrais, vaginais e vaginorretais. Nos exsudados uretrais, é realizado um BMP, permitindo a observação de bactérias causadoras de uretrites, sendo *Neisseria gonorrhoeae* a mais comum, bem como a observação de parasitas envolvidos neste tipo de infeções tais como *Trichomonas vaginalis*. Quando se observa ao microscópio a presença de diplococos Gram negativos, com possibilidade de serem intracelulares, sugestivos de *Neisseria gonorrhoeae*, é extremamente importante ter em atenção o género do utente. As mulheres possuem uma flora vaginal que pode ser confundida com a morfologia desta bactéria e por isso, para que o diagnóstico laboratorial de *Neisseria gonorrhoeae* seja válido é obrigatório a realização de um exame cultural em meio de cultura PVX, em substituição da Gelose de Sangue (uma vez que este microrganismo não cresce neste meio), e respetiva identificação e TSA. No caso de a amostra pertencer a um indivíduo do género masculino, a observação de diplococos Gram negativos intracelulares seria suficiente para se validar o diagnóstico, no entanto realiza-se o mesmo procedimento por questões de qualidade.

Nos exsudados vaginais é realizado também um BPM. Este tem o objetivo de diagnosticar a origem de patologias da mucosa vaginal, sendo a mais comum a vaginite. Esta patologia pode ser de origem bacteriológica, sendo *Gardnerella vaginalis* a bactéria mais comum, de origem parasitológica, sendo *Trichomonas vaginalis* o agente etiológico mais comum, e ainda de origem micológica como é o caso da candidíase vulvovaginal causada por *Candida spp*. No entanto, outras bactérias são pesquisadas neste tipo de amostra nomeadamente bacilos Gram negativos, cocos Gram positivo em cadeia, cocos Gram positivo em cacho e diplococos.

Os exsudados vaginorretais são efetuados, na maioria dos casos, em mulheres grávidas que se encontram entre as 35 e 37 semanas de gestação. O objetivo da análise a este tipo de amostra biológica é detetar precocemente a possível presença de *Streptococcus agalatae* (cocos Gram positivos pertencentes ao grupo B de Lancefield), uma vez que este microrganismo é o principal agente etiológico de infeções neonatais.

Neste subcapítulo, serão apresentados três casos clínicos. A amostra biológica em dois dos casos é um exsudado vaginal (Caso 1 e Caso 2) e no outro caso a amostra biológica é um exsudado vaginorretal (Caso 3).

Colheita

O exsudado vaginal é colhido com o auxílio de uma zaragatoa, através de movimentos circulares nas paredes da mucosa vaginal. A colheita não deve ser efetuada durante o período menstrual e a mulher deve fazer uma higienização da área com água e sabão sem uso de

antissépticos ou antimicrobianos, de modo a que o ambiente microbiano seja preservado para um melhor diagnóstico. A zaragatoa é colocada num recipiente estéril com meio de conservação apropriados.

A colheita do exsudado vaginorretal é realizado também com o auxílio de uma zaragatoa que é introduzida na vagina e reto e colocada em recipiente estéril com meio de conservação adequados. Os mesmos cuidados de higienização mencionados anteriormente são válidos também para este tipo de colheita.

Exame Microscópico e Cultural

Os dois primeiros casos (Caso 1 e 2) que serão abordados referem-se a amostras de exsudados vaginais. Tal como mencionado anteriormente, para este tipo de amostra é realizado um BMP. A Tabela IV explica sucintamente o procedimento executado para cada uma das amostras rececionadas bem como os resultados obtidos.

Tabela IV - Procedimentos e resultados de dois exsudados vaginais rececionados no Avelab.

Caso	Procedimentos	Resultados
Caso 1	Preparação a fresco para observação micológica e parasitológica ao microscópio ótico.	Ausência de fungos e parasitas. Com 5-10 células epiteliais, leucócitos - 25 e eritrócitos <2.
	Coloração de Gram e visualização ao microscópio ótico para pesquisa bacteriana.	Observação de cocobacilos Gram variáveis em <i>clue cells</i> com poucos <i>lactobacillus</i> (Imagem VIII).
	Exame cultural não foi realizado porque não se observaram parasitas e fungos e as bactérias observadas não carecem de realização deste tipo de exame.	-
Caso 2	Preparação a fresco para observação micológica e parasitológica ao microscópio ótico.	Ausência de fungos e observação de protozoários flagelados (Imagem IX). Com 5-10 células epiteliais, leucócitos 2-5 e eritrócitos <2.
	coloração de Gram e visualização ao microscópio ótico para pesquisa bacteriana.	Ausência de bactérias consideradas relevantes e patogénicas.
	Exame cultural não foi realizado porque não se observaram bactérias ou estruturas fúngicas que precisassem da realização deste exame.	-

É importante salientar que de acordo com as observações na coloração de Gram não houve a necessidade de realizar um exame cultural. No entanto, caso tivessem sido observados microrganismos com morfologias consideradas relevantes, tais como bacilos Gram negativos e cocos Gram positivos em cadeia ou em cacho, seria extremamente importante a realização de sementeira em Gelose de Sangue. Adicionalmente, se tivessem sido observados diplococos (intracelulares ou não) seria extremamente importante fazer um exame cultural

em meio PVX e se tivessem sido observadas estruturas fúngicas o meio Sabouraud seria o mais indicado para a cultura.



Imagem IX - Exame microscópico a fresco de um exsudado vaginal: observação de protozoário flagelado (ampliação 400x).

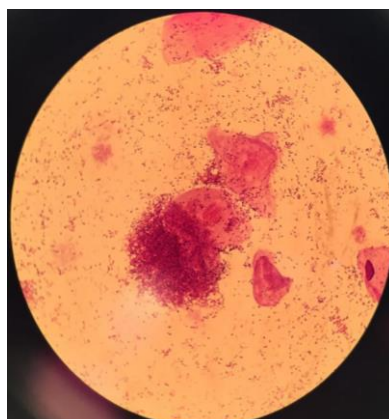


Imagem VIII - Coloração de Gram de um exsudado vaginal: observação de cocobacilos Gram variáveis em clue cells (ampliação 1000x).

O terceiro caso (Caso 3) refere-se a uma amostra vaginorretal e, tal como mencionado anteriormente, destina-se à pesquisa precoce de Streptococcus do grupo B, nomeadamente *Streptococcus agalatae*. Primeiro realizou-se

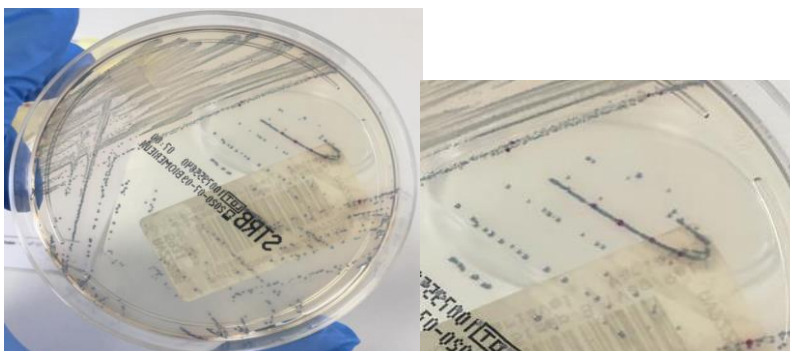


Imagem X - Cultura em chromID StreptoB: observação de colónias azuis, em maioria, e presença de poucas colónias rosa (incubação a 36°C durante 24h).

-se a inoculação da amostra em Caldo TODD, meio que inibi o crescimento da flora comensal e enriquece o crescimento de *S. agalatae*, caso este esteja presente. O caldo foi incubado na estufa a 36°C durante 24h e depois procedeu-se à repicagem do caldo para o meio de cultura chromID StreptoB e foi colocado novamente na estufa a 36°C durante um período de 24h. Após esta incubação foram observadas muitas colónias azuis e poucas colónias rosa (Imagem X). Perante os resultados obtidos foi necessário prolongar a incubação por mais 24h e observarem-se inúmeras colónias cor-de-rosa (Imagem XI).

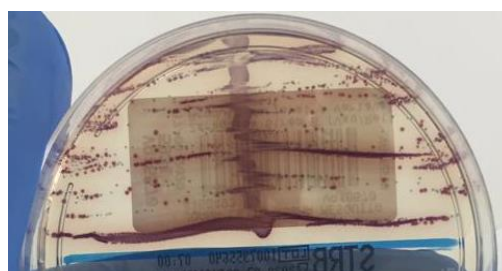


Imagem XI - Cultura em chromID StreptoB: observação de inúmeras colónias cor-de-rosa (incubação a 36°C durante 48h).

Interpretação de Resultados

A interpretação dos resultados será apresentada por casos clínicos:

Caso I: A presença de bactérias com morfologia de cocobacilos Gram variáveis dispostas em *clue cells* (células epiteliais escurecidas por bactérias), juntamente com a diminuição do número

de *Lactobacillus* e presença de numerosos leucócitos (sugerem infecção) são dados sugestivos de um diagnóstico de *Gardnerella vaginalis*. Por não existirem estruturas fúngicas, parasitárias ou outro tipo de morfologia bacteriana podemos concluir que *Gardnerella vaginalis* seria a origem da infecção em questão.

Caso 2: No exame a fresco, observaram-se trofozoítos de *Trichomonas vaginalis* que é um parasita responsável pela tricomoníase, uma infecção sexualmente transmissível. Este parasita é um protozoário flagelado e apenas a sua forma vegetativa, o trofozoito, pode ser observada uma vez que este não possui quistos. O facto de não terem sido observadas bactérias sugestivas de patologia bem como fungos fez-nos concluir que *Trichomonas vaginalis* é o agente etiológico da infecção.

Caso 3: Na placa chromID StreptoB ao fim de 24h de incubação foram detetadas e observadas colónias de cor rosa em pequena quantidade. Estas colónias são sugestivas de *Streptococcus agalatae* e este resultado seria suficiente para ser dado como positivo uma vez que basta uma colónia cor-de-rosa para se considerar o teste positivo. De facto, o objetivo desta análise é o diagnóstico precoce deste microrganismo, de modo a evitar infeções neonatais com a máxima eficácia. No entanto, para que houvesse uma total confiança na identificação do microrganismo envolvido neste caso, prolongou-se a incubação por mais 24h onde se puderam obter inúmeras colónias positivas de *S. agalatae*. Pelo mesmo motivo, caso às 24h de incubação, se observassem apenas colónias de cor azul (sugestivas de negatividade), a incubação seria prolongada por mais 24h e caso apresentasse às 48h de incubação crescimento exclusivo de colónias azuis, o resultado seria dado e validado como negativo.

7.3.4. Exsudados Faríngeos e Nasais

No laboratório de microbiologia do AVELAB existem dois tipos de protocolos para processar os exsudados faríngeos e nasais, a pesquisa direta de *Staphylococcus aureus* em amostras da orofaringe e pesquisa de metilina-resistentes *Staphylococcus aureus* (MRSA) em colheita nasal.

S. aureus é uma das três espécies de *Staphylococcus* com relevância clínica que mais frequentemente se observa nos exsudados faríngeos e nasais, juntamente com *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus*. A bactéria *S. aureus* apresenta positividade no teste da coagulase, característica que a distingue das outras duas espécies, e as infeções por ela causadas podem variar desde pouco graves a muito graves ¹⁴.

Um dos problemas mais emergente na saúde pública é a resistência bacteriana aos antibióticos. A resistência mais conhecida e que mais preocupa as organizações de saúde é a

resistência de *S. aureus* à meticilina, significando que a gama de tratamento para este microrganismo é muito menor. A colonização por MRSA não causa impacto no ser humano a menos que as barreiras de proteção física (como a pele) não estejam intactas. Assim, em pessoas que estejam hospitalizadas ou entregues aos cuidados de saúde por parte de lares de terceira idade, as MRSA têm um grande impacto e causa patologias muito graves. Isto deve-se ao facto de estes indivíduos possuírem um sistema imunitário mais debilitado por doença ou por terapias administradas e estarem sujeitos a procedimentos médicos, muitas vezes invasivos, que comprometem as barreiras físicas de proteção. Deste modo, o laboratório de microbiologia desempenha um papel extremamente importante no combate, deteção e diagnóstico precoce deste tipo de bactérias.

A maior parte das amostras nasofaríngeas rececionadas no laboratório de microbiologia da AVELAB são colhidas de utentes institucionalizados em lares de terceira idade e destinam-se à pesquisa de MRSA. Assim, o caso clínico apresentado neste subtópico será sobre essa análise.

Colheita

A colheita nasal foi realizada com o auxílio de uma zaragatoa. A zaragatoa é introduzida pelo orifício nasal até sentir resistência efetuando movimentos circulares. Seguidamente, a zaragatoa é acondicionada em meio Stuart por possuir características apropriadas para MRSA.

Exame Microscópico e Cultural

Em exsudados nasais e faríngeos, a coloração de Gram não demonstra grande utilidade no auxílio do diagnóstico laboratorial e

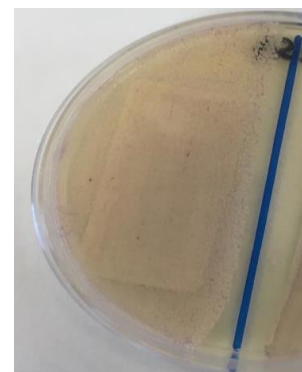


Imagem XII - Cultura em chromID MRSA SMART – observação de colónias rosas pálidas e colónias brancas.

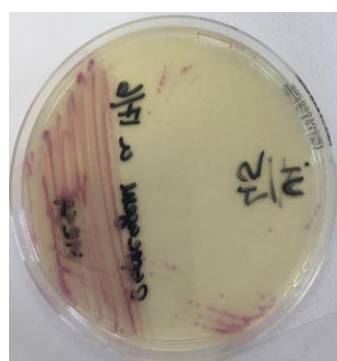


Imagem XIII - Cultura em chromID MRSA SMART – observação de colónias cor-de-rosa.

por isso não foi executada ⁷. Assim, começou-se pela realização do exame cultural. Com a zaragatoa foram efectuadas estrias numa placa com meio de cultura chromID MRSA SMART. A placa foi a incubar a uma temperatura de 36°C durante 24h. Após este período foram observadas algumas colónias com cor rosa muito ténue e algumas colónias de cor branca/cinza (Imagem XII). Uma vez que os resultados obtidos não foram claros efetuou-se a inoculação da amostra numa nova placa com meio chromID MRSA SMART e incubou-se nas mesmas condições anteriores. Após as 24h de incubação, foi analisado o crescimento microbiano, onde se observaram colónias cor-de-rosa (Imagem XIII). De modo a complementar os resultados

obtidos e para identificar o microrganismo de forma mais segura, foi efetuado um teste manual da coagulase (Imagem XIV).

Interpretação de Resultados

No meio de cultura chromID MRSA SMART espera-se que colónias de MRSA apresentem a cor rosa. Na primeira placa, a cor das colónias obtida não se apresentava muito bem definida (Imagem XII). Por este motivo, uma nova placa foi incubada durante mais 24h e nesta, as colónias apresentaram cor rosa, sugestivas de MRSA (Imagem XIII). Uma vez que os resultados obtidos com o primeiro meio de cultura não foram conclusivos foi realizado o teste manual da coagulase de modo a poder ser



Imagem XIV - Teste de coagulase: esquerda - teste coagulase positivo; direita: controlo negativo.

dado um diagnóstico de MRSA mais seguro, o qual deu positivo. Como mencionado anteriormente, o *Staphylococcus aureus* é a única espécie de *Staphylococcus* coagulase positiva.

Assim, concluiu-se que se tratava de *Staphylococcus aureus* pelo teste da coagulase e que era resistente à meticilina pelo crescimento de colónias rosa no meio de cultura chromID MRSA SMART.

7.3.5. Expetoração

As infeções do trato respiratório inferior podem ser causadas tanto por microrganismos pertencentes à microbiota, em situações de supressão do sistema imunitário, como por microrganismos que, quase sempre, são considerados agentes etiológicos da doença. No laboratório de microbiologia da AVELAB existem dois procedimentos a serem realizados quando se receciona uma amostra biológica de expetoração: o exame direto e cultural geral e o exame direto (baciloscopia) e cultural para pesquisa de micobactérias. O primeiro tem como objetivo diagnosticar laboratorialmente infeções do trato respiratório inferior, nomeadamente pneumonias, identificando o agente etiológico e o respetivo perfil de suscetibilidade aos antibióticos. O segundo tem o objetivo de pesquisar diretamente a presença de Bacilos Álcool-Ácido Resistentes (BAAR) uma vez que *Mycobacterium tuberculosis*, agente etiológico da tuberculose, são BAAR.

Durante o meu estágio, tive e oportunidade de executar a baciloscopia. Deste modo, o caso clínico que apresento será referente à pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis*.

Colheita

Para que a pesquisa laboratorial de BAAR seja bem-sucedida é necessário que a colheita seja devidamente realizada de modo a que as contaminações do trato respiratório superior

sejam nulas. Para tal, é recomendado que a colheita seja realizada de manhã, em jejum, e que não haja saliva presente na amostra, mas apenas as secreções respiratórias desencadeadas por tosse profunda. A amostra é acondicionada em recipiente estéril e enviada para o laboratório o mais rapidamente possível para processamento imediato.

Exame Microscópico

Em primeiro lugar preparou-se o esfregaço, tendo em atenção todas as regras de segurança, tais como utilização da *hotte* e Equipamentos de Proteção Individual (EPI's). De seguida, selecionou-se a porção mais purulenta da amostra e com o auxílio de uma zaragatoa colheu-se essa parte e efetuou-se um esfregaço o mais fino possível, deixando-o a secar à temperatura ambiente. Uma vez seco foi realizada a coloração de Ziehl-Neelsen (ZN), sempre seguindo as normas de segurança do laboratório. Seguidamente, o esfregaço foi observado ao microscópio ótico. Nesta etapa é muito importante a observação de pelo menos 300

campos antes de reportar como negativo, caso não se verifique a presença de bacilos corados de vermelho. Neste caso clínico específico, visualizaram-se bacilos corados de vermelho em fundo azul (Imagem XV).

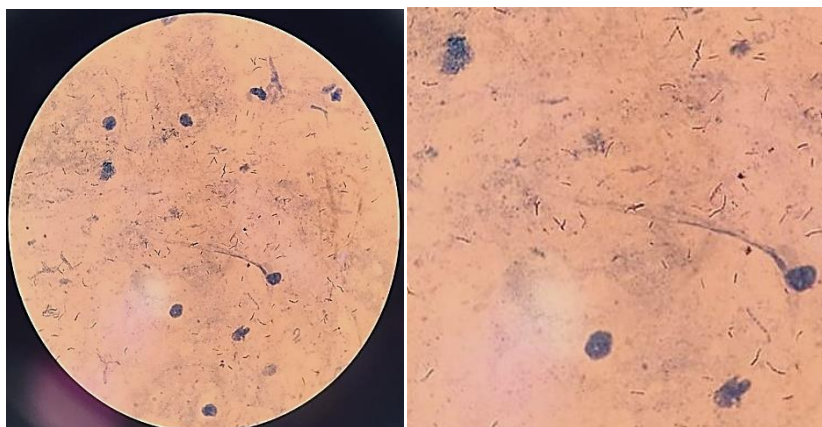


Imagem XV - Coloração de Ziehl-Neelsen: observação de Bacilos Ácido-Álcool-Resistentes (BAAR) corados de vermelho.

Interpretação de Resultados

No exame direto visualizaram-se algumas células epiteliais, sugerindo contaminação da amostra com secreções do trato respiratório superior. No entanto, a semiquantificação dos bacilos corados de vermelho, característicos de BAAR, mostrou que existiam mais de 10 bacilos por campo (numerosos BAAR). Esta semiquantificação é importante de modo a estimar o grau de excreção de bacilos e assim, avaliar o grau de infecciosidade do doente. Por fim, é de extrema importância reportar imediatamente os resultados obtidos ao clínico, de modo a que este possa instituir uma terapia ou monitorar a mesma.

7.3.6. Unhas

As unhas são estruturas queratinizadas sujeitas a infeções causadas por fungos, sendo os mais frequentes as leveduras e os dermatófitos. Essas infeções denominam-se genericamente por micoses superficiais ou micoses cutâneas, dependendo da camada de tecido que é afetada.

Por norma, as leveduras tendem a causar micoses superficiais e os dermatófitos a causar micoses cutâneas. Por esta razão, estas últimas podem ser designadas também por dermatofitoses ou dermatomicoses¹⁵.

No decorrer do meu estágio tive a oportunidade de realizar o exame cultural e a identificação fúngica numa amostra de raspado de unha. Por este motivo, o caso clínico aqui apresentado será baseado nessa atividade.

Colheita

Para colheita do raspado da unha é necessário que tenha sido previamente higienizada com água e sabão. De seguida, com um bisturi raspam-se as áreas mais profundas e pulverulentas da mesma (neste caso específico de duas zonas diferentes). Os fragmentos obtidos foram colocados numa caixa de Petri devidamente identificada com uma etiqueta com o nome do utente, o tipo de amostra e o respetivo número mecanográfico. A amostra foi conservada à temperatura ambiente.

Exame Cultural

O exame cultural foi realizado através da inoculação da amostra no meio de cultura

Sabouraud com cloranfenicol (de modo a que o crescimento bacteriano seja inibido e os fungos cresçam). Com o auxílio de uma zaragatoa semeou-se,

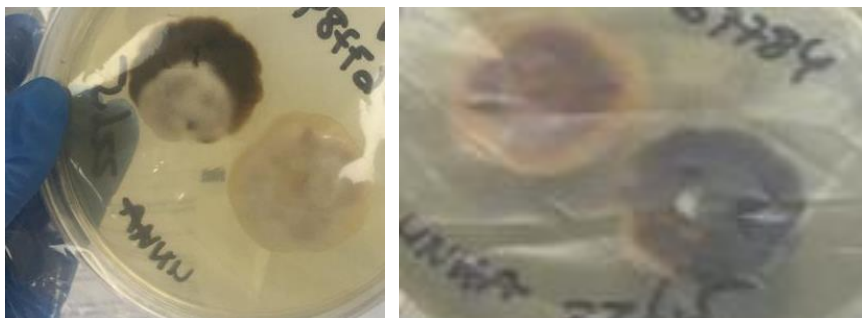


Imagem XVI - Estruturas fúngicas em meio Sabouraud vista de frente (esquerda) e do reverso (direita).

por estrias, a amostra no meio de cultura em duas zonas (correspondentes à colheita das duas zonas diferentes da unha). A placa foi colocada num saco transparente e selada, de modo a que a dispersão dos esporos seja evitada. De seguida a placa foi incubada a uma temperatura entre os 22 e os 30°C durante quatro semanas, sendo que a verificação do crescimento fúngico foi efetuada semanalmente. Ao fim desse período, a cultura apresentou crescimento de estruturas fúngicas (Imagem XVI) e por isso, procedeu-se à identificação das mesmas. Após análise da cor e textura das colónias obtidas, procedeu-se à preparação a fresco com azul de lactofenol para observação ao microscópio ótico (Imagem XVII).



Imagem XVII - Estruturas fúngicas ao microscópio ótico com coloração de Azul de Lactofenol.

Interpretação de Resultados

Ao observar o aspeto morfológico das colónias fúngicas formadas no meio de Sabouraud (frente e reverso), foi possível concluir que não se tratava de um fungo leveduriforme, mas sim que a de um fungo dermatófito. A Tabela V demonstra os resultados obtidos aquando da observação das colónias.

Tabela V - Resultados macroscópicos de colónias fúngicas em meio Sabouraud.

Colónia Fúngica	Frente da Colónia		Reverso da Colónia
	Cor	Textura	Cor
1	Verde acastanhado	Feltro	Amarelo- acastanhado
2	Branco	Algodão	Amarelo-vermelho

Com base nos resultados obtidos no exame macroscópico das colónias fúngicas, seria presumível que a colónia 1 fosse de *Epidermophyton floccosum* e a colónia 2 de *Tricophyton rubrum*. No entanto, ao observar as estruturas ao microscópicas não foi possível identificar os fungos. Deste modo, uma vez que o laboratório de microbiologia AVELAB não possui tecnologia para identificação automática de microrganismos fúngicos, reportou-se o caso para o clínico como inconclusivo, sugerindo assim uma nova pesquisa.

7.4. Serologia Infeciosa

A Serologia Infeciosa visa detetar microrganismos causadores de patologias através da realização de testes que se baseiam em reações antigénio-anticorpo. Durante o meu estágio tive a oportunidade de realizar testes imunocromatográficos bem como testes de aglutinação.

É importante referir que estes testes possuem a enorme vantagem de se conseguir um diagnóstico num espaço de tempo muito curto (minutos). No entanto, para que estes possam ser validados é necessário existir um controlo, tal como em todos os ensaios que se realizam em laboratório. No caso dos testes de aglutinação, é realizado um ensaio controlo, onde se possa observar aglutinação (controlo positivo) ou ausência dela (controlo negativo). Já no caso

dos testes imunocromatográficos, o controlo é, geralmente positivo, e aparece representado com uma linha corada no próprio teste.

7.4.1. Reação Weil-Felix e Pesquisa de *Brucella melitensis* (Reação de Wright)

As Rickettsias são bactérias Gram negativas e são intracelulares obrigatórios. A sua transmissão ao Homem é realizada através da picada de artrópodes, sendo estes vetores e reservatórios, ou pela inalação de aerossóis. As Rickettsias encontram-se divididas em três grupos distintos de acordo com o tipo de infeções que provocam: o grupo Tifo, que engloba patologias tais como o Tifo Endémico; o grupo da Febre Exantemática, que engloba patologias como a Febre das Montanhas Rochosas; e o grupo da Febre Q. Com exceção do último grupo mencionado, que não apresenta lesões cutâneas, todas as rickettsioses se caracterizam clinicamente por febre, cefaleia, hepatoesplenomegalia e exantema cutâneo ^{7, 14}.

Brucella melitensis é igualmente uma bactéria Gram negativa, intracelular obrigatória. A sua transmissão ao Homem é realizada através do contacto com os fluidos ou tecidos de animais infetados, tais como ovelhas, cabras, porcos e cães, e ainda por inalação de aerossóis. A patologia associada a infeção por *Brucella melitensis* é designada por Brucelose ou Febre de Malta ¹⁴.

Tanto as Rickettsioses como a Brucelose, são laboratorialmente diagnosticadas através de testes de aglutinação. No laboratório AVELAB as Rickettsioses são detetadas através da reação Weil-Felix. No kit para esta reação são fornecidos um controlo positivo, um controlo negativo e três suspensões de antígenios preparados a partir de *Proteus* spp. (*Proteus* OX2, OX19 e OXK). A Brucelose é detetada através da reação de Wright. O kit, para tal teste, fornece um controlo positivo, um negativo e uma suspensão de antígeno de *Brucella melitensis*. Em ambos os testes, é necessário realizar-se a junção do soro do utente com a suspensão de Ag. Caso exista a ligação antígeno-anticorpo, poderá ser visível, a olho nú, aglutinação. Também em ambos os casos, quando o teste é positivo com um título de 1:80 é necessário realizar-se diluições, tal como demonstrado na Imagem XVIII, de modo a confirmar a positividade e também para indicar o grau de severidade da infeção.

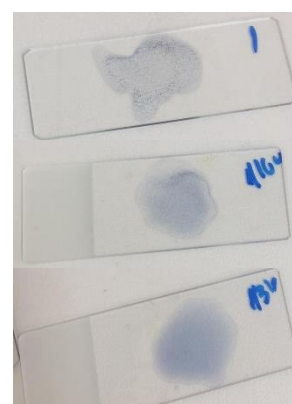


Imagem XVIII - Reação de Weil-Felix positiva a título 1:80 (em cima), 1:160 (no meio) e negativa a 1:320 (em baixo).

7.4.2. COVID-19

O Coronavírus é um vírus envelopado, com cadeia simples de RNA, que está envolvido em várias patologias de diferentes graus de severidade. A mais grave, conhecida até à atualidade, designa-se por Síndrome Respiratório Agudo Severo (SARS) e caracteriza-se por sintomas clínicos tais como febre alta, pneumonia e, em alguns doentes, stress respiratório agudo. O agente causador de tal patologia foi designado por SARS-CoV-1 e foi também o responsável pela pandemia de Coronavírus existente em 2002¹⁶. No decorrer do estágio, foi declarada uma pandemia causada por um novo Coronavírus, designado SARS-CoV-2, responsável pela doença COVID-19. Para responder com eficácia à comunidade e ao novo problema de saúde pública instalado, o laboratório de microbiologia da AVELAB implementou a realização de testes serológicos, baseados em métodos imunocromatográficos, para a sua deteção. Para tal, uma amostra de sangue total é colhida, centrifugada e uma alíquota é colocada numa cassete de cromatografia onde são detetadas IgM (infecção recente), IgG (infecção tardia ou contacto prévio com o agente etiológico) e controlo através de uma reação antigénio-anticorpo (Imagem XIX). Este tipo de testes não tem mostrado tanta eficácia como os testes moleculares e por esta mesma razão foram implementados, mais tarde, no laboratório AVELAB os testes moleculares.



Imagem XIX - Teste cromatográfico COVID-19. Controlo positivo e teste negativo para IgM e IgG.

7.4.3. Adenovírus e Rotavírus

O Adenovírus é um vírus que está na origem de patologias do sistema gastrointestinal, ocular e respiratório. O Rotavírus apresenta maior incidência em patologias do trato gastrointestinal. Ambos são vírus muito frequentes em crianças em idade escolar estando associados a gastroenterites infantis¹⁶. Por este mesmo motivo, a amostra de eleição para a realização deste teste são as fezes. No laboratório de microbiologia da AVELAB é realizado um teste imunocromatográfico, baseado em reações antigénio-anticorpo, à semelhança do teste de COVID-19. A cassete de teste optada por este laboratório deteta simultaneamente anticorpos para Adenovírus e Rotavírus no soro do doente (Imagem XX) uma vez que, os clínicos requisitam, com frequência, a deteção dos dois microrganismos em paralelo. Esta escolha diminui o tempo de diagnóstico e os gastos do laboratório.



Imagem XX - Teste Imunocromatográfico de Adenovírus e Rotavírus. Controlo positivo e testes negativos.

7.5. Validação de Resultados em Microbiologia

Após realização de todo o processamento das amostras de rotina é necessário validar os resultados obtidos bem como reportar os mesmos ao clínico. No final dos testes realizados as informações são enviadas automaticamente para o sistema Apollo, exceto os dados relativo às observações do sedimento urinário ou da coloração de Gram, que são introduzidos manualmente no sistema. No entanto, existem amostras de carácter mais urgente, que são validadas e reportadas assim que algum tipo de resultado seja obtido, como é o caso da presença de BAAR em amostras de expetoração. Outro ponto muito importante que é tomado em conta no laboratório de microbiologia do AVELAB é a validação do TSA de *E. coli*, quando o aparelho deteta a bactéria como produtora de b-lactamases. Sabe-se que esta bactéria resistente aos antibióticos b-lactamicos, pode também adquirir resistência aos carbapenemos (produzindo carbapenemases). Atendendo a que o aparelho BD 100 Phoenix não deteta bactérias resistentes aos carbapenemos, se *E.coli* é detetada como produtora de b-lactamases, aquando da validação do TSA, a bactéria vai ser reportada ao clínico como resistente aos b-lactamicos e aos carbapenemos. Outra bactéria que carece de muita atenção na validação dos resultados obtidos é *Pseudomonas spp.* uma vez que quando é resistente à colistina é também resistente a todos os outros antibióticos e, por isso, é de notificação obrigatória.

Para que a validação seja realizada com fidedignidade é necessário que todos os controlos, internos e externos, sejam verificados e realizados.

8. Bioquímica

A Bioquímica Clínica tem como principal objetivo avaliar parâmetros metabólicos com a finalidade de direccionar o diagnóstico de inúmeras patologias, bem como orientar e monitorizar a terapêutica administrada ao doente.

Neste capítulo, será abordado o método de trabalho, bem como os parâmetros que são avaliados no laboratório de Bioquímica do AVELAB.

8.1. Principais Amostras Biológicas do Laboratório de Bioquímica

No laboratório de Bioquímica do AVELAB são rececionados dois tipos de amostra biológica: o sangue e a urina.

8.1.1. Sangue

Para a maioria dos parâmetros analisados no laboratório de Bioquímica (ionogramas, marcadores tumorais, proteínas, monitorização de terapêutica, etc.) é necessário obter soro.

Para que tal seja conseguido, é necessário que o sangue seja colhido para um tubo que contenha gel e sílica. A sílica favorece a retração do coágulo (no entanto não dispensa colocar o tudo na vertical para respeitar o tempo de retração) e o gel vai permitir a separação física entre o soro e a porção celular. Isto é importante dado que a glicose é um dos parâmetros bioquímicos analisados com maior frequência. Ao promover a separação física dos Glóbulos Vermelhos (GV) do soro, a glicose não pode ser consumida pelos GV permanecendo com os valores semelhantes aos que teria *in vivo*.

No entanto, para a avaliação de outros parâmetros tais como o doseamento da HbA_{1c}, é necessário trabalhar com plasma ou sangue total. Deste modo, a colheita deve ser realizada para um tubo com EDTA e anticoagulante e este deve ser levemente invertido para que o sangue possa ser misturado corretamente com todo o anticoagulante existente no tubo, mantendo a proporção anticoagulante:plasma correta.

8.1.2. Urina

A urina é utilizada para a avaliação de múltiplos parâmetros bioquímicos. Quando o objetivo é a avaliação de indicadores bioquímicos de rotina, como é o caso dos ionogramas, glicose, etc., a urina pode ser colhida para um frasco esterilizado de tamanho regular, podendo ser a primeira urina da manhã ou aleatória, dependendo do parâmetro a analisar. No entanto, quando o objetivo é a avaliação da microalbuminúria, é necessário que haja uma colheita da urina de 24 horas para um recipiente de maior volume.

8.2. Triagem das Amostras do Laboratório de Bioquímica

Uma vez rececionada uma amostra de sangue num tubo de gel com sílica, esta é centrifugada a 2500rpm durante 15 minutos. A centrifugação é um passo muito importante uma vez que permite a separação física anteriormente mencionada. Após centrifugação, é extremamente importante observar-se macroscopicamente a amostra. Amostras em que o tempo de retração do coágulo não foi respeitado ou que a colheita não foi devidamente executada, podem originar fibrina e/ou hemólise (Imagem XXI). Estes fatores podem afetar a avaliação de parâmetros bioquímicos, quer por alteração do próprio parâmetro em si, como é o caso da hemólise que afeta a quantificação

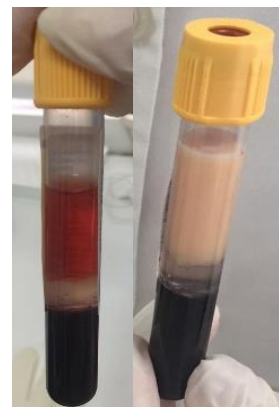


Imagem XXI - Soro hemolisado (esquerda) e soro lipêmico (direita).

de Potássio ou da Alanina Transferase (AST), quer por erros de aspiração no aparelho automático, como é o caso da fibrina. Amostras de sangue que se encontrem altamente lipêmicas (Imagem XXI) também afetam a avaliação de parâmetros, como por exemplo o colesterol total. Por estas razões, todas as características, acima mencionadas, que são

observadas macroscopicamente, são registadas num livro de ocorrências, de modo a manter a qualidade do serviço e servir de informação para a validação de resultados. Ao inserir as amostras no sistema é também muito importante, saber se existem alíquotas a serem retiradas para outro tipo de análises. O Laboratório AVELAB envia amostras para laboratórios externos para se realizar análises aos oligoelementos, por exemplo. Quanto ao sangue total que é rececionado para avaliação da HbA_{1c}, não deve ser centrifugado.

As urinas após receção, são centrifugadas a 2500rpm durante 15 minutos de modo a que os elementos celulares sejam separados dos componentes bioquímicos que se encontram em suspensão. É importante realçar que na urina de 24h é necessário o registo no sistema informático do volume da amostra total, de modo a que os cálculos efetuados após a avaliação bioquímica sejam corretos e válidos. As urinas que, na sua requisição, mencionam a análise sumária de urina são também centrifugadas nas mesmas condições e seguem para o teste de Combur e avaliação do sedimento urinário.

8.3. Controlo de Qualidade no Laboratório de Bioquímica

Após a receção das amostras no laboratório de Bioquímica é necessário proceder-se às calibrações e controlos dos aparelhos e reagentes de modo a garantir que os valores obtidos em cada análise são os corretos.

No laboratório de Bioquímica do AVELAB as calibrações são realizadas no final do dia de trabalho. No entanto, são apenas realizadas as calibrações dos parâmetros bioquímicos que se encontram a expirar o prazo de validade. O próprio aparelho emite sinais de alerta para tais prazos. Quanto às calibrações para os ionogramas no soro e na urina, estas são as únicas que devem ser realizadas diariamente, uma vez que possuem um prazo de validade muito inferior às mencionadas anteriormente (aproximadamente 24h). As calibrações são realizadas sempre com o auxílio de dois reagentes - o reagente de nível baixo e o reagente de nível alto.

Os controlos são efetuados diariamente para todas as análises bioquímicas realizadas no laboratório com o auxílio de três reagentes diferentes, correspondendo a três níveis de patologia distintos: o nível 1 - baixo; o nível 2 - intermédio; nível 3 - alto. No entanto, existem exceções, como é o caso das análises à colinesterase e fosfatase ácida, que por existirem poucas requisições não são efetuados os controlos diariamente. Assim, todos os dias são analisadas as listas de trabalho, que se indicarem a necessidade da avaliação destes parâmetros bioquímicos o controlo é efetuado. Esta decisão, tomada pelos técnicos do laboratório e aprovada pela direção técnica, demonstra como é importante o espírito crítico dos profissionais de saúde para que as técnicas sejam realizadas com qualidade, mas que ao mesmo

tempo haja uma boa gestão de recursos de tempo e financeiros do laboratório. Uma outra situação que ocorreu no laboratório de bioquímica do AVELAB que demonstra a necessidade de espírito crítico do profissional de saúde para que haja uma boa qualidade do serviço, foi a percepção de que os valores de lipase se encontravam sempre alterados quando, na mesma amostra, eram efetuadas análises ao colesterol imediatamente antes. Deste modo, foram programadas mais lavagens das agulhas de aspiração entre as duas análises de modo a não haver contaminações devido à porção lipídica.

Finalizada a realização dos controlos e das calibrações, é necessário analisar as cartas de controlo para verificar que tudo se encontra dentro dos parâmetros (ver capítulo “Controlo de Qualidade” deste relatório). Estando todos os valores dentro dos limites de desvio padrão recomendados, procede-se à realização da avaliação dos parâmetros bioquímicos.

8.4. Parâmetros Bioquímicos

Neste subcapítulo serão abordados apenas os parâmetros bioquímicos avaliados no laboratório de bioquímica do AVELAB com mais frequência e com os quais tive a oportunidade de contactar frequentemente. Em cada parâmetro, quando oportuno, serão apresentados factos importantes para a correta validação dos seus resultados.

8.4.1. Avaliação do Equilíbrio Hidro-Electrolítico

O corpo humano é composto por água que contém quatro principais eletrólitos: Sódio, Potássio, Cloreto e Bicarbonato. Estes existem tanto no espaço extracelular como no espaço intracelular e devem estar em constante equilíbrio (homeostase). O seu desequilíbrio pode ser a causa ou a consequência de várias patologias, como por exemplo patologias renais ou disfunções no equilíbrio ácido-base. Por esta razão, é muito importante que este equilíbrio seja monitorizado e, por isso, o laboratório de bioquímica desempenha aqui um papel muito importante.

O Ionograma é a análise realizada para a monitorização do equilíbrio hidro-electrolítico e tem como objetivo a avaliação da concentração do sódio, potássio e cloreto ¹⁷. Esta análise pode ser efetuada tanto no soro como na urina, dependendo da patologia em estudo.

Sódio

O Sódio (Na^+) é o catião mais abundante no fluido extracelular. A maior parte da sua concentração é proveniente da dieta, sendo absorvido pelo trato gastrointestinal, reabsorvido após filtração glomerular e excretado na urina pelo sistema renal através do processo de entrada e saída de água passivamente ¹⁷. Este processo é regulado pela aldosterona e hormona antidiurética. Desta forma, o Na^+ tem um papel muito importante na manutenção do equilíbrio

da pressão osmótica e na regulação do fluido corporal. A saída desregulada deste eletrólito é acompanhada pela perda de água, originando um desequilíbrio significativo da concentração de sódio bem como do volume de água no organismo. Situações de hipernatremia podem ser causadas por excesso de Na^+ na dieta, desidratação severa, Síndrome de Cushing, etc. Situações de hiponatremia podem ser causadas pelo uso prolongado de diuréticos ou diarreias, causando acidoses metabólicas ¹⁷.

Potássio

Ao contrário do sódio, o potássio (K^+) é o catião mais abundante no espaço intracelular e a sua concentração é regulada por bombas sódio/potássio. No entanto, o rim e diversas hormonas, como a insulina e a aldosterona, regulam a sua concentração no organismo, uma vez que a sua maior entrada é realizada pela dieta. O K^+ além do papel importantíssimo no equilíbrio da pressão osmótica, tal como o sódio, desempenha também funções a nível de controlo do impulso elétrico e regulação da contratilidade muscular. Assim, quando existe um decréscimo dos níveis de potássio no plasma (hipocaliémia) pode ser interpretado como possível fraqueza muscular, irritabilidade, ou até um eventual ataque cardíaco. Pelo contrário, quando existe um aumento de potássio no plasma (hipercaliémia) pode estar associado a confusão mental, paralisia, etc. ^{17,18}.

Nota para Validação: A concentração de K^+ é mais elevada a nível intracelular que no plasma. Por esta razão, apenas sangue que não se encontre hemolisado deve ser utilizado para análise.

Cloreto

O Cloreto (Cl^-) é o maior anião extracelular, a maior parte da sua concentração no organismo provém da dieta e grande parte é absorvido pelo sistema gastrointestinal, filtrado no glomérulo e passivamente reabsorvido nos túbulos proximais, juntamente com o sódio. O seu excesso é excretado pela urina. Uma vez que o cloreto e o sódio se acompanham difundem conjuntamente durante a osmose, as causas e consequências de hiper/hipoclorémia são semelhantes às da hiper/hiponatremia. No entanto, a sua perda é mais significativa em caso de vômitos prolongados do que em casos de diarreia ^{17,18}.

8.4.2. Avaliação da Função Pancreática

O pâncreas é considerado um órgão complexo porque é constituído tanto por tecido com funções endócrinas como por tecido com funções exócrinas. A porção endócrina é composta pelos Ilhéus de Langerhan que produzem insulina e glucagon desempenhando um papel fundamental no controlo da glicose e dos aminoácidos ao nível sanguíneo. Por outro lado, a porção exócrina é composta pela glândula acinar que produz enzimas digestivas que,

em conjunto, formam o suco pancreático. Estas enzimas, atravessam o canal pancreático até ao intestino delgado, onde vão desempenhar funções importantes no processo de digestão dos alimentos, nomeadamente dos lípidos, hidratos de carbono e proteínas. Em situações patológicas, como a pancreatite ou a neoplasia do pâncreas, duas destas enzimas, amilase e a lipase, são libertadas para a corrente sanguínea, alterando-se assim a sua concentração. Por este motivo, são quantificadas em laboratório para auxiliar no diagnóstico dessas patologias ¹⁹.

Amilase

O processo digestivo dos polissacarídeos é iniciado pela enzima amilase que é produzida nas glândulas salivares. Quando o alimento atravessa o tubo digestivo, a amilase pancreática hidrolisa os açúcares dando continuidade ao processo digestivo. Tanto a amilase proveniente das glândulas salivares como do pâncreas é designada de α -amilase. Contudo, a amilase existe noutros tecidos, tais como nos ovários, tecido adiposo, intestino e vesícula biliar. Por esta razão, a especificidade clínica deste parâmetro é baixa, podendo a sua concentração aumentar noutro tipo de patologias, como é o caso de colecistite ou obstrução intestinal. No entanto, uma vez que a sua concentração aumenta significativamente logo após os primeiros sintomas de pancreatite, tem uma grande importância no diagnóstico clínico desta patologia. Assim, desenvolveram-se novas tecnologias para a quantificação específica da α -amilase em vez da amilase total. No laboratório de bioquímica do AVELAB, procede-se à quantificação específica da amilase, tanto em amostras de soro como em amostras de urina, através de métodos espectrofotométricos a 404nm quantificando um produto de hidrólise da alfa-amilase, o 2-cloro-4-nitrofenol. Destacar que a amilase urinária persiste em concentrações elevadas por períodos de tempo mais longos ^{17,19}.

Lipase

A lipase é uma enzima importante na digestão dos lípidos, sendo responsável pela formação de ácidos gordos, colesterol, glicéridos e outros componentes. Também se encontra presente no pâncreas e, por isso, pode ser libertada em casos de patologia. Nas primeiras horas de uma pancreatite, a lipase aumenta significativamente na corrente sanguínea, tal como a amilase. No entanto, esta permanece muito mais tempo na corrente sanguínea, existindo uma janela temporal maior para o diagnóstico. Esta característica é útil para o diagnóstico uma vez que existem pacientes com sintomas tardios. A lipase é uma molécula pequena e, por isso, facilmente filtrada a nível glomerular. No entanto, é completamente reabsorvida a nível renal, o que faz com que seja indetetável em amostras urinárias. Deste modo, a lipase, ao contrário da amilase, apenas é pesquisada em amostras sanguíneas ^{17,19}.

8.4.3. Avaliação da Função Hepática

O fígado é o maior órgão interno do corpo humano e é também um dos órgãos mais importantes devido à variedade de funções que é capaz de exercer, nomeadamente a produção de bÍlis, armazenamento, biotransformação, desintoxicação, envolvimento na fagocitose e ainda síntese de proteínas. Deste modo, os portadores de patologias hepáticas apresentam distúrbios em uma ou mais funções acima mencionadas ^{2,17}. Os parâmetros abaixo descritos são alguns dos que possuem capacidade de avaliação da função hepática.

Albumina

A albumina é a proteína com maior concentração no plasma e é sintetizada pelo fígado diariamente e em casos de diminuição da pressão oncótica, a sua produção aumenta ainda mais. Possui várias funções, tais como manutenção da pressão oncótica, transporte de cálcio, bilirrubina e até de fármacos, e regulação do pH sanguíneo. Uma das maiores causas para a hipoalbuminémia é a destruição massiva dos hepatócitos, tendo como causa primária a cirrose e secundária o alcoolismo. A hipoalbuminémia causa muitas vezes edema ^{2,17}.

Alanina Aminotransferase (ALT/GPT) e Aspartato Aminotransferase (AST/GOT)

A alanina aminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST) são enzimas presentes nas células do fígado (hepatócitos) e são libertadas para a corrente sanguínea em consequência de uma lesão hepática que pode ter diversas origens. Apesar destas enzimas serem excelentes biomarcadores de lesões hepáticas, não são totalmente específicas. Por exemplo, a AST não se encontra presente única e exclusivamente a nível hepatocelular, mas também a nível ósseo, músculo cardíaco e esquelético, rins, pâncreas e nas hemácias. Deste modo, a AST pode ser associada a diversas patologias de outros tecidos. No entanto, quando quantificada juntamente com a ALT, forma um excelente biomarcador de lesão hepatocelular. A ALT, por sua vez, está presente no fígado, quase exclusivamente, e possui ainda outra vantagem uma vez que persiste por mais tempo na corrente sanguínea aumentando a janela de diagnóstico ^{2,17}. Diversas patologias estão associadas a alterações dos valores de AST e ALT, tais como hepatites, abuso do consumo de álcool, consumo de medicamentos, etc.

Nota para validação: Os valores da AST são muito suscetíveis quando em amostras hemolisadas, uma vez que estas esta se encontra presente nas hemácias. No entanto, os valores da ALT não são alterados neste tipo de amostras. Assim sendo, se num caso de hemólise, a AST e a ALT se encontrarem alteradas, os resultados não podem ser validados, e deve repetir-se a colheita.

Fosfatase Alcalina

A fosfatase alcalina (ALP) está presente em variados órgãos como os ossos, intestino, rins, placenta e fígado (mais especificamente nos canalículos biliares), apresentando maior concentração no fígado e nos ossos. Por este motivo, um aumento da concentração da ALP a nível sérico pode indicar patologias a nível biliar, como por exemplo uma colestase ou outro tipo de obstrução hepática, como uma neoplasia, e a nível ósseo, como por exemplo a doença de Paget. É importante salientar que embora ALP não seja um biomarcador específico do fígado, é extremamente importante para despiste de patologias hepáticas quando avaliado em conjunto com outros parâmetros, como por exemplo AST, ALT, Bilirrubina Total e Direta e Gama-glutamilttransferase (GGT). Por exemplo, numa amostra em que os níveis de GGT, AST e ALT se encontrem normais, e os níveis de ALP se encontrem elevados, provavelmente não se tratará de uma lesão hepática mas sim de uma lesão óssea ^{2,17}.

Nota para Validação: Os valores de ALP encontram-se fisiologicamente elevados em crianças e adolescentes, devido ao crescimento ósseo. Também se encontram alterados em grávidas, devido à sua presença na placenta e em casos de toma de anti-contracetivos orais.

Bilirrubina Total e Bilirrubina Direta

A bilirrubina é o maior metabolito do grupo heme, sendo um produto de catabolização da hemoglobina. De modo a que seja eliminada, a bilirrubina precisa passar por um processo complexo. De acordo com as fases desse processo a bilirrubina é designada de duas formas: bilirrubina indireta (não conjugada) e a bilirrubina direta (conjugada). A bilirrubina, uma vez na corrente sanguínea, liga-se à albumina (bilirrubina indireta) para ser transportada para o fígado. Deste modo, a sua concentração sérica aumenta. Entrando nos hepatócitos, a bilirrubina assume a forma livre (pois já não se encontra ligada à albumina) ficando disponível para ser conjugada a um açúcar (ácido glucorónico). Deste modo, a bilirrubina passa a designar-se por “bilirrubina direta”. Assim, é excretada nas vias biliares, sofrendo a ação da bÍlis, e é eliminada no intestino na forma de urobilinogénio. Deste modo, a concentração sérica de bilirrubina conjugada, em condições fisiologicamente normais, é nula ou mínima. A bilirrubina total é a soma da bilirrubina direta com a indireta.

As hiperbilirrubinémias indiretas são, na maioria das vezes, causadas por lesões que envolvem as hemácias, como por exemplo anemias hemolíticas. As hiperbilirrubinémias diretas estão estritamente relacionadas com situações de obstrução biliar extra-hepática, como a neoplasia pancreática ou colestase, ou com situações intra-hepáticas como hepatite, cirrose ou intoxicação medicamentosa. No laboratório de Bioquímica do AVELAB, faz-se a

quantificação das bilirrubinas direta e total, sendo que a indireta pode ser calculada pela subtração das duas anteriormente mencionadas ^{2,17}.

Gama-Glutamiltransferase (GGT)

A gama-glutamiltransferase (GGT) é uma enzima que está presente no túbulo proximal renal, fígado, pâncreas e intestino. Encontra-se presente no citoplasma das células, mas maioritariamente está localizada na membrana celular. Possui a função muito importante de antioxidante uma vez que está envolvida na manutenção da glutatona a nível intracelular. Assim, a GGT é quantificada para pesquisa de situações de obstrução e infecção hepática e biliar, alcoolismo e alta concentração de fármacos. Considera-se, por este motivo, um parâmetro bioquímico de muito valor para a monitorização de terapêuticas e do consumo de álcool. Outra grande utilidade da GGT no diagnóstico laboratorial é a sua quantificação em conjunto com a ALP de modo a despistar a sua origem ^{2,17}.

8.4.4. Avaliação da Função Renal

Os rins são considerados o sistema purificador do organismo. Possuem diversas funções como a filtração do sangue (os produtos degradados são eliminados na urina), regulação do volume sanguíneo (produção de urina mais ou menos concentrada conforme a necessidade do organismo, conseqüentemente regulação da pressão arterial), regulação da concentração dos solutos do sangue (Na⁺, K⁺, Cl⁻), regulação do pH a nível extracelular (secreção de hidrogenião), regulação da síntese dos glóbulos vermelhos (através da secreção de eritropoietina) e regulação dos níveis de cálcio (através da síntese de vitamina D). O ácido úrico, a creatinina e a ureia são metabolitos excretados pelo rim após filtração glomerular e, portanto, a sua quantificação pode dar indicação ao clínico do estado da função renal do paciente ^{17,19}.

Ácido Úrico

O ácido úrico é o principal catabolito das purinas (adenosina e guanosina), sendo estas catabolizadas diretamente dos ácidos nucleicos da dieta. Contudo, diariamente é sintetizada certa quantidade de purinas no organismo, não provenientes da dieta. Em condições fisiológicas normais, o ácido úrico sofre filtração glomerular, reabsorção no túbulo proximal e reabsorção no túbulo distal. Concentrações elevadas deste catabolito estão diretamente relacionadas com o aumento em excesso da síntese purinas, que, conseqüentemente, originam patologias, como é o exemplo da Gota ou com disfunções renais a nível da filtração glomerular ¹⁷.

Nota para Validação: Os níveis de ácido úrico alteram significativamente com o tipo de alimentação, deve ser feita uma interceção com a informação clínica, quando existente.

Creatinina

A creatinina é sintetizada nos rins, fígado e pâncreas. No entanto é transportada pela corrente sanguínea para outros órgãos, como por exemplo para o músculo e cérebro, na forma de fosfocreatinina. No músculo ocorre a conversão de fosfocreatinina a creatinina através da contração muscular. Assim, a quantidade de creatinina que é produzida é sensivelmente constante e está relacionada com a massa muscular do indivíduo. A creatinina é eliminada pelo rim exclusivamente por filtração e não é nem reabsorvida nem secretada. Desta forma, constitui um bom indicador da função renal, por ser eliminada a uma velocidade constante e a sua produção não depender do metabolismo de proteínas. Quando existem valores elevados de creatinina no sangue, significa que a taxa de filtração glomerular está diminuída, indicando uma lesão a nível renal ¹⁷.

Ureia

A ureia é formada através do catabolismo de proteínas e aminoácidos e é eliminada do organismo por filtração a nível renal através da urina. Porém, ao contrário da creatinina, é reabsorvida no túbulo proximal de forma passiva e, portanto, a concentração sérica da ureia não depende apenas da funcionalidade do rim mas também da quantidade de proteína que é ingerida na dieta. Assim, a ureia é medida para avaliação da função renal, no entanto não é considerada o parâmetro de excelência, sendo sempre utilizada com a medição da creatinina ^{2,17}.

Nota para Validação: quando a creatinina e a ureia se encontram acima dos valores de referência é importante perceber se a sumária de urina apresenta também alguns padrões fora da normalidade, como por exemplo a existência de proteínas na urina.

Microalbuminúria

A microalbuminúria é a quantidade de albumina presente na urina em quantidades vestigiais. Este tipo de teste é eficaz para a deteção precoce de patologias a nível do glomérulo, mais especificamente em alterações da permeabilidade glomerular que ocorrem especialmente em doentes diabéticos. A pesquisa deste parâmetro é realizada numa amostra de urina de 24h.

Sumária de Urina

A análise sumária da urina está descrita no capítulo da Microbiologia deste relatório. Embora seja um teste de carácter bioquímico é realizado no setor de Microbiologia para avaliar uma possível infeção.

8.4.5. Avaliação do Metabolismo dos Hidratos de Carbono

Os hidratos de carbono, inclusive os açúcares, estão amplamente distribuídos na natureza e, especificamente no corpo humano. Possuem funções tanto estruturais para o RNA e DNA como energéticas. A glucose é um dos hidratos de carbono que está envolvido numa das patologias mais preocupantes da saúde moderna, a Diabetes Mellitus, daí a importância da sua monitorização laboratorial^{2,17}.

Glucose

A concentração da glucose é regulada a nível hormonal (sobre certas condições como a alimentação, jejum ou exercício físico) essencialmente pela insulina e pelo glucagon. A glucose pode ser medida em diversos fluidos biológicos para pesquisa de diversas patologias. No laboratório de bioquímica do AVELAB, realiza-se a quantificação deste parâmetro bioquímico no sangue (soro e plasma), para diagnóstico e monitorização essencialmente de Diabetes *Mellitus*, e na urina, que é, na maioria das vezes, realizada em paralelo com a pesquisa de glucose no sangue, uma vez que, se houver hiperglicemia e glicosúria poderemos estar perante um caso de Diabetes Mellitus, no caso de os níveis de glucose no sangue se encontrarem normais ou baixos e houver glicosúria podemos estar perante uma glicosúria renal com base no síndrome de Fanconi, por exemplo^{2,17,21}.

Diabetes Mellitus

A Diabetes *Mellitus* é um grupo de patologias nas quais a concentração de glucose no sangue se encontra acima dos valores de referência. Um indivíduo pode ser diagnosticado com esta patologia se a concentração de glucose no sangue em jejum se encontre igual ou superior a 126mg/dL em pelo menos duas ocasiões aleatórias, sendo que quando existem discordâncias entre essas duas ocasiões o teste deve ser repetido. A Diabetes *Mellitus* pode ser classificada em três tipos: Diabetes Tipo 1, Diabetes Tipo 2 e Diabetes Gestacional^{2,17}.

Diabetes Mellitus Tipo 1

A Diabetes *Mellitus* Tipo 1 representa 10% dos casos de diabetes e tem origem autoimune, sendo que as células produtoras de insulina destruídas pelo próprio organismo, causando uma absoluta deficiência de insulina. A insulina é uma hormona que possibilita a entrada da glucose para o ambiente intracelular com o fim de produzir energia, regulando assim a concentração deste açúcar a nível plasmático. Havendo carência desta hormona, os níveis de glucose aumentam significativamente no sangue, tendo várias consequências tais como poliúria e perda de peso.

Diabetes Mellitus Tipo 2

A Diabetes Mellitus Tipo 2 é o tipo mais comum de diabetes e é causada por múltiplos fatores tais como peso em excesso, estilo de vida sedentário, história familiar de diabetes, idade, etnia e ainda historial de Diabetes Gestacional. Neste tipo de diabetes, o problema não reside na quantidade de insulina produzida, mas sim na resistência que o organismo cria aos seus efeitos. Deste modo, pancreatites graves ou tumores podem dar origem a este tipo de diabetes.

Diabetes Gestacional

A Diabetes Gestacional caracteriza-se por intolerância aos hidratos de carbono diagnosticada ou detetada, pela primeira vez, no decorrer de uma gravidez. As mulheres diagnosticadas devem ser acompanhadas e monitorizadas durante toda a gravidez e no pós-parto através da Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO)²⁰.

Uma vez que a Diabetes Mellitus é tão proeminente na população a nível mundial, o laboratório de bioquímica possui um papel muito importante na realização de análises quer para diagnóstico quer para a monitorização da patologia. Seguem-se as provas bioquímicas realizadas no laboratório AVELAB com tal finalidade.

Glicemia em Jejum

A glicémia em jejum é uma prova em que a amostra utilizada é o soro sanguíneo. Visa quantificar a glucose presente no sangue ao final de, pelo menos, 8h de jejum. Caso exista hiperglicemia igual ou superior a 126mg/dL pode-se estar perante um quadro de Diabetes Mellitus, de acordo com a American Diabetes Association. No entanto, para que se confirme esse diagnóstico é necessário que o individuo seja submetido a um novo teste confirmatório. A glicémia em jejum é a prova mais fiável para o diagnóstico de Diabetes Mellitus².

Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO)

A Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO) não é um exame de rotina, ao contrário da glicémia em jejum. No entanto, é um teste muito realizado para o diagnóstico de Diabetes Gestacional. As grávidas devem realizar este teste entre as 24 e as 28 semanas em que é ingerida uma solução com 75g de glucose. Os níveis de glucose no soro são medidos aos 0 minutos, aos 60 minutos e aos 120 minutos. Caso haja hiperglicemia em alguma dessas medições é critério para confirmar o diagnóstico de Diabetes Gestacional^{2,22}.

Hemoglobina Glicada A_{1C} (HbA_{1C})

A prova da Hemoglobina Glicada A_{1C} (HbA_{1C}) é realizada em amostras de plasma sanguíneo. Baseia-se na medição e quantificação de hemoglobina que é glicada irreversivelmente. Uma

vez que o tempo médio de vida dos eritrócitos são 120 dias, a quantificação de HbA_{1C} permite que haja o monitoramento da patologia durante um período de 4 meses. Quando os valores de HbA_{1C} são iguais ou superiores a 6,5% da concentração total da Hb estamos perante um quadro de Diabetes *Mellitus*, quando se encontram entre os 5,7-6,4% estamos perante um quadro de pré-diabetes ^{2,22}.

8.4.6. Avaliação do Metabolismo dos Lípidos

Os lípidos são sintetizados no fígado e no intestino e são transportados no plasma através de macromoléculas designadas de lipoproteínas. Estas lipoproteínas subdividem-se em quatro categorias principais de acordo com a sua constituição interna lipídica (triglicéridos e colesterol) e externa: as Quilomicron, VLDL, LDL e HDL. No laboratório de Bioquímica do AVELAB são analisados os Triglicéridos, Colesterol HDL, Colesterol LDL e Colesterol HDL para avaliação do metabolismo dos lípidos.² Patologias associadas a alterações de valores destas lipoproteínas designam-se “dislipidemias” e caracterizam-se pela elevação de colesterol e triglicéridos ou a diminuição dos valores de Colesterol HDL. As “dislipidemias” podem ser de natureza genética ou secundárias a outras patologias, como por exemplo Diabetes *Mellitus* e nefropatias, que contribuem para a aterosclerose e, conseqüentemente, doenças cardíacas. Por esta razão é tão importante o diagnóstico e monitorização ²³.

Triglicéridos

Os triglicéridos são lípidos que são absorvidos da dieta e produzidos endogenamente através dos hidratos de carbono e ácidos gordos. São, por isso, uma fonte e reserva energética para o organismo. Uma vez que as lipoproteínas com maior concentração de triglicéridos são as quilomicron e VLDL, um aumento sérico de triglicéridos significa também um aumento sérico destas lipoproteínas. Esse aumento está associado a patologias como diabetes, doenças cardiovasculares e doenças genéticas.

Nota de Validação: quando os triglicéridos se encontram acima de 350mg/dL o teste deve ser repetido e calculado, manualmente, a quantidade de colesterol LDL.

Colesterol Total

O colesterol total representa a soma de todas as lipoproteínas presentes na corrente sanguínea e, por isso, quantifica triglicéridos, colesterol HDL e colesterol LDL. O aumento do colesterol total está associado a diversas patologias tais como hiperlipidemias e também patologias hepáticas, cardíacas e intestinais.

Nota para Validação: os valores de referência de colesterol diferem de acordo com a idade e género. Em grávidas alteram significativamente e em doentes portadores de infeção diminuem consideravelmente. Neste último caso, é imprescindível, para validação, a verificação dos valores de Proteína C Reativa e de GGT. Caso haja infeção poderão validar-se os valores e não é necessário repetir a colheita. Os valores também são alterados em caso de hemólise. Neste caso deve repetir-se a colheita.

Lipoproteínas de Alta Densidade (HDL)

As lipoproteínas de alta densidade (do inglês *Cholesterol High Density Lipoproteins* - HDL) são constituídas maioritariamente por proteína e colesterol esterificado, contendo uma quantidade muito baixa de triglicéridos. Esta lipoproteína desempenha um papel muito importante no organismo conhecido como o transporte reverso do colesterol. Este processo tem como objetivo o transporte do colesterol presente nos tecidos para o fígado, diminuindo a sua concentração no sangue e nos órgãos e, conseqüentemente, diminuir o risco de doenças cardiovasculares. Por este motivo, valores de HDL a baixo do valor de referência são indicadores de risco cardiovascular.

Lipoproteínas de Baixa Densidade (LDL)

As lipoproteínas de baixa densidade (do inglês *Cholesterol Low Density Lipoproteins* - LDL) possuem mais colesterol e triglicéridos e menos proteína comparativamente às HDL. São responsáveis pelo transporte do colesterol esterificado do fígado para os tecidos. Assim, uma maior concentração de LDL implica maior quantidade de colesterol no organismo e na corrente sanguínea. Por este motivo, estas lipoproteínas são consideradas aterogénicas, uma vez que estão associadas à formação de placas de ateroma nas veias e artérias. O doseamento de LDL é realizado manualmente, através da fórmula de Friedwald mas apenas quando os níveis de triglicéridos se encontram iguais ou inferiores a 400mg/dL:

$$\text{Colesterol LDL} = \left(\frac{\text{Triglicéridos}}{5} + \text{Colesterol HDL} \right) - \text{Colesterol Total}$$

Nota para Validação: O aumento do Colesterol LDL implica um aumento nos valores da ASO. Deste modo, quando obtermos valores de ASO acima dos valores de referência, sem outros parâmetros de infeção alterados, é necessário proceder-se à fórmula de Friedwald para quantificação de LDL. Caso este também se encontre elevado, os níveis de ASO são considerados normais e poderá validar-se deixando sempre essa nota no sistema.

8.4.7. Avaliação do Metabolismo Ósseo e Mineral

O sistema esquelético é um dos maiores do corpo humano e desempenha um papel extremamente importante no armazenamento de 99% do cálcio presente no organismo. Na realidade, é o cálcio que realiza a mineralização deste sistema, sendo este um processo importante para que possa desempenhar as suas funções tanto mecânicas como metabólicas e protetoras. O controlo metabólico do cálcio está intimamente ligado ao fosfato e ao magnésio. Por este motivo, o laboratório de bioquímica tem um papel importante na avaliação destes três minerais, pois desse modo, patologias associadas a alterações dos seus níveis plasmáticos podem ser diagnosticadas e tratadas ¹⁷.

Cálcio

O cálcio está presente em ambiente intracelular e em ambiente extracelular. Em ambiente extracelular, encontra-se maioritariamente na corrente sanguínea e está distribuído em três formas distintas: 50% na sua forma livre, sendo esta a sua forma ativa e por isso mais frequentemente quantificada em laboratório; 40% associado a proteínas (especialmente a albumina); 10% complexado a pequenos iões. Ao nível intracelular, o cálcio desempenha funções tais como contração muscular esquelética e cardíaca (envolvimento no potencial de membrana), secreção hormonal, metabolismo do glicogénio e divisão celular. É importante salientar que em ambiente intracelular e em condições fisiologicamente normais, o cálcio não se encontra na sua forma livre, pois poderá ativar fosfolipases e desencadear consequências como a rabdomiolise. Já em ambiente extracelular as suas funções baseiam-se na mineralização óssea e no envolvimento na cascata de coagulação. Assim, a hipercalcémia pode ser devida a um aumento da destruição óssea, como por exemplo em neoplasias ou doença de Paget, diminuição da excreção renal, ou aumento da Vitamina D e causa excitabilidade muscular. O caso da hipocalcemia pode ser associado a défice de Vitamina D, de albumina (caso mais comum) ou patologias renais e causa atonicidade muscular ^{2,17}.

Magnésio

Nas células, o magnésio é o catião em maior abundância e possui funcionalidades intimamente ligadas com as enzimas celulares. É absorvido maioritariamente pelo intestino e é excretado e controlado a nível renal. Um aumento dos valores séricos do magnésio é raro e normalmente iatrogénico, no entanto um decréscimo é mais frequente e está relacionado com mal funcionamento gastrointestinal e renal, resultando em arritmias cardíacas, deficiente funcionamento neuromuscular, etc. ^{2,17}.

Fosfato

O Fosfato presente no sangue provém majoritariamente da dieta, no entanto, uma outra parte tem origem no metabolismo ósseo. Quando existe o consumo de fosfato este é majoritariamente absorvido no intestino. Quanto à sua eliminação, é filtrado pelo glomérulo e reabsorvido nos túbulos renais. Uma hiperfosfatemia está associada a falência renal crônica ou excesso de consumo, por exemplo. Já a hipofosfatemia está associada a consumo excessivo de álcool, carências alimentares ou vômitos ².

8.4.8. Cinética do Ferro

O ferro, em condições fisiológicas normais, está presente em pequenas quantidades no organismo tanto a nível celular, plasmático e noutros fluidos extracelulares. O ferro encontra-se distribuído na hemoglobina, em forma armazenada (ferritina), na mioglobina e na transferrina (transporte de ferro). Alterações nos níveis férricos dão origem a algumas patologias que precisam ser diagnosticadas, tratadas e monitorizadas. Deste modo, o ferro, a ferritina e a transferrina são doseadas em laboratório ¹⁷.

Ferro, Ferritina e Transferrina

O ferro, tal como mencionado anteriormente, está presente no organismo predominantemente na hemoglobina e na mioglobina. Tal como todos os componentes bioquímicos, o ferro necessita, de modo a cumprir com as suas funções, transitar pelos diferentes compartimentos através da corrente sanguínea. Para que tal aconteça, o ferro liga-se a uma proteína designada de transferrina, que atua como proteína transportadora. Uma vez que o ferro chega aos tecidos, este deve ser armazenado, de modo a que os fluidos corporais não causem danos oxidativos. Com este fim, o ferro é armazenado em forma de ferritina, que consiste numa proteína que circunda o núcleo do ferro. Assim, tanto as deficiências férricas como o ferro em quantidades elevadas, são sempre melhor diagnosticadas quando os três parâmetros são avaliados em conjunto. No entanto, apesar de a concentração de transferrina estar diretamente relacionada com a concentração de ferro, esta não corresponde totalmente à capacidade de ligação do mesmo, uma vez que outras proteínas possuem capacidade ligante, como é o caso da Apotransferrina. A Tabela VI resume sucintamente as causas patológicas associadas ao aumento e diminuição dos valores de ferro e transferrina.

Tabela VI - Causas do aumento e diminuição dos valores séricos do Ferro e Transferrina.

	Níveis aumentados	Níveis Diminuídos
Ferro	Anemias hemolíticas, Patologias hepáticas agudas.	Deficiência alimentar, anemia crónica, hemorragia menstrual e gastrointestinal, Gravidez.
Transferrina	Anemia ferripriva, Gravidez e toma de contraceptivos orais (aumento de estrogénio).	Patologias hepáticas crónicas, má nutrição, síndrome nefrótica, aumento de ferro após transfusão, inflamação, neoplasias.

8.4.9. Avaliação da Função Tiroideia

A tiroide é uma glândula secretora das hormonas Triiodotironina (T3) e Tiroxina (T4), que por sua vez, controlam a taxa metabólica do organismo estimulando os tecidos na síntese de proteínas e no aumento da quantidade de oxigénio consumido pelas células. Para que tal aconteça, o hipotálamo segrega Hormona Libertadora de Tireotrofina (do inglês *Thyrotropin-releasing hormone*, TRH), que por sua vez estimula a glândula pituitária a segregar tirotropina, hormona de estimulação da tiroide humana (do inglês *Thyroid-stimulating hormone* TSH). A TSH estimula a tiroide a sintetizar e segregar a T3 e T4. Quando a taxa metabólica está a ocorrer exatamente à velocidade necessária pelo organismo, um mecanismo de feedback negativo é desencadeado diminuindo, assim, a segregação de T3 e T4 pela tiroide. De modo a avaliar a função tiroideia e as patologias associadas, as hormonas T3, T4 e TSH são normalmente quantificadas no laboratório, recorrendo-se a uma amostra de soro. O seu doseamento é útil para deteção de situações como Hipertiroidismo e Hipotiroidismo ². A T3 é a forma mais ativa, no entanto a T4 é detetada por um período mais prolongado.

Nota para Validação: os valores de TSH são muito suscetíveis a alterações quando o paciente se encontra sob medicação. Assim, quando alterados, os valores obtidos de TSH devem ser comparados com a informação clínica fornecida.

8.4.10. Endocrinologia Reprodutiva

A função reprodutora e a gravidez são reguladas através de uma interação complexa entre uma grande variedade de hormonas. Elas são sintetizadas e segregadas pelo testículo (testosterona), ovário (estradiol e progesterona), glândula pituitária (Hormona Folículo-Estimulante, FSH e Hormona Luteínica, LH), hipotálamo (prolactina) e placenta (Gonadotropina Coriónica Humana (β -hCG), estrogénios e progesterona). Embora todas as hormonas acima mencionadas sejam importantes para o diagnóstico e avaliação de patologias, apenas abordarei três com as quais tive mais contacto no decorrer do meu estágio.

Hormona Folículo-Estimulante (FSH) e Hormona Luteínica (LH)

A FSH e a LH são estimuladas pela Hormona Libertadora de Gonadotrofina que é sintetizada no hipotálamo. A FSH e LH, no caso das mulheres, estimulam o desenvolvimento dos folículos ovários e a ovulação. No caso dos homens, a FSH atua nas células de Sertoli estimulando a espermatogénese, enquanto que a LH atua nas células de Leydig de modo a estimular a síntese de testosterona. Tanto as células de Sertoli como as células de Leydig estão localizadas no testículo. O doseamento da LH auxilia no diagnóstico de infertilidade no caso da mulher, enquanto que no caso do homem auxilia na deteção de desvios da funcionalidade testicular. A FSH é muito útil para monitorização de tratamentos da hipófise e anomalias nas gónadas¹⁹.

Gonadotrofina Coriónica-Humana (β -hCG)

A subunidade β da hCG é produzida pela placenta que, tal como a FSH e a LH, mantém o corpo lúteo ativo. A β -hCG é detetada em amostras de sangue, nomeadamente no soro, aproximadamente 20 dias após a última menstruação. Assim, é muito utilizada para a deteção precoce da gravidez uma vez que esta hormona só é detetada na urina muito mais tarde.

Nota para Validação: quando os valores de β -hCG dão superiores a 1500 mIU/ml a amostra deve ser diluída e submetida a nova dosagem, de modo a não existirem falsos positivos.

8.4.11. Biomarcadores Inespecíficos

Este subcapítulo pretende tratar de dois biomarcadores inespecíficos de inflamação e lesão. Designam-se de inespecíficos uma vez que os resultados obtidos por estes precisam de ser conjugados com outros parâmetros bioquímicos, como será mencionado adiante.

Proteína C reativa

A Proteína C reativa é uma proteína sintetizada no fígado e caracteriza-se por ser um marcador inespecífico de fase aguda da inflamação pois a sua concentração aumenta em resposta a processos inflamatórios em geral. A sua função é ligar-se às membranas celulares de células mortas ou lecionadas, podendo tratar-se de bactérias ou outros microrganismos, ativando o processo de fagocitose. No entanto, por não expressar inflamação ou lesão em nenhum órgão específico, deve sempre ser analisada juntamente com outros parâmetros com maior especificidade para os órgãos de suspeita patológica. Para além de um bom biomarcador de inflamação e lesão, esta proteína também auxilia na monitorização da resposta dos pacientes à farmacoterapia e cirurgia².

Lactato Desidrogenase (LDH)

A LDH é uma enzima que catalisa a oxidação do lactato a piruvato na via glicolítica. Uma vez que todas as células do nosso organismo necessitam de catabolizar a glucose para obtenção de energia, esta enzima está presente em quase todos os tecidos, nomeadamente no músculo, eritrócitos, rins, pâncreas, fígado, etc. A LDH é libertada para a corrente sanguínea aquando há lise celular, ou seja, quando ocorrem lesões. Desta forma, o seu doseamento como parâmetro bioquímico não é específico de nenhum tecido. No entanto, quando quantificada em conjunto com outros parâmetros bioquímicos, nomeadamente a ALP pode indicar um quadro clínico como a colestase, ou em conjunto com a ALT e AST que pode indicar lesões ou neoplasias hepáticas. O consumo de medicamentos e de álcool aumenta, também, significativamente a concentração de LDH no sangue ².

8.4.12. Doseamento de Fármacos

No laboratório de Bioquímica da AVELAB é realizado o doseamento de fármacos para controlo e monitorização de terapêuticas. Este é um procedimento que tem vindo a crescer ao longo do tempo e visa estudar a dosagem terapêutica aplicada ao doente, ou seja, avaliar se esta não se encontra em níveis tóxicos que causem efeitos secundários mas também se se encontra abaixo dos níveis terapêuticos, podendo requerer um ajuste da dosagem ². No laboratório AVELAB procede-se ao doseamento de vários fármacos (Anexo VI).

8.5. Validação de Resultados em Bioquímica

No laboratório de Bioquímica do AVELAB, os resultados obtidos são introduzidos automaticamente no sistema Apollo. No entanto, a validação não é automatizada. O profissional de diagnóstico e terapêutica deve ter o espírito crítico de intercetar os seus conhecimentos teóricos com os parâmetros bioquímicos avaliados em cada amostra, bem como o historial clínico fornecido. Isto é de extrema importância para o clínico, uma vez que pode basear-se completamente na informação dada pelo laboratório, para o diagnóstico, monitorização e terapêutica de patologias. Durante o meu estágio tive a oportunidade de participar no processo de validação dos resultados e perceber a sua importância.

9. Uma “Ponte” entre a Bioquímica e a Microbiologia

Uma vez que as valências de Bioquímica e Microbiologia foram selecionadas para abordar mais profundamente neste relatório, apresentarei, neste capítulo, um caso clínico real com que me deparei no decorrer do estágio curricular que abrangem essas duas áreas.

O caso diz respeito a um indivíduo do sexo feminino com 79 anos de idade. A amostra rececionada foi uma amostra de urina, que se encontrava em boas condições de acondicionamento. Como primeira etapa, foi realizada uma sumária de urina, de seguida uma coloração de Gram, uma urocultura em meio CHROMagar Orientation e para finalizar a quantificação de HbA_{1C}. Os resultados obtidos nos diferentes testes encontram-se na Tabela VII.

Tabela VII - Resultados obtidos na análise de urina: testes bioquímicos e microbianos

Teste Combur	Resultados	Sedimento Urinário	Resultados
Cor	Amarela	Células Epiteliais	2-5
Aspeto	Límpida	Leucócitos	5-10
Densidade	1.024	Eritrócitos	<5
pH	5.5		
Proteínas	Vestígios	Coloração	Resultados
Glicose	0.5 g/L	Gram	Fungos leveduriformes
Corpos Cetónicos	Vestígios		
Bilirrubina	Ausência	Exame Cultural	Resultados
Hemoglobina	Ausência	meio CHROMagar Orientation	<10 ³ UFC/mL
Urobilinogénio	+---		
Leucócitos	++-	Exame Bioquímico	Resultados
Nitritos	Ausência	Quantificação de HbA _{1C}	45 mmol/mol (V.R: 19-39)

Os parâmetros bioquímicos como glicose na urina, corpos cetónicos e HbA_{1C} estavam elevados o que levou a suspeitar de um quadro clínico de diabetes. Quando há um défice de insulina, a concentração de glucose no sangue irá aumentar, o que pode causar diversas patologias e complicações sendo uma delas a nefropatia. Deste modo, a glucose na urina irá aumentar por haver alterações na permeabilidade do glomérulo. Relativamente aos corpos cetónicos, estes são formados quando não existe glucose nas células para a produção de energia, utilizando os ácidos gordos em substituição. Deste modo, quando a concentração de glucose baixa a nível intracelular, a concentração de corpos cetónicos aumenta, sendo estes eliminados através da urina. A HbA_{1C} aumentada, permitiu concluir que o indivíduo se encontra pré-diabético pois este parâmetro avalia a glucose presente no sangue num período de quatro meses.

Da análise dos resultados, pode-se constatar que tanto na bioquímica da urina como no sedimento urinário, estavam presentes leucócitos o que é indicativo de infecção. Adicionalmente, existiam, poucas células epiteliais no sedimento urinário o que significa que a amostra não estava contaminada. Ao realizar-se a coloração de Gram, uma vez que tudo apontava para uma infecção, foram observadas estruturas leveduriformes e não bacterianas. Esta informação foi comprovada pelo exame cultural que demonstrou não existir colónias bacterianas em número considerável de patologia (só são consideradas colónias iguais ou superiores a 10^5 UFC/mL). Assim, atendendo aos resultados laboratoriais pode-se concluir que todo este quadro seja sugestivo de uma Candidíase adquirida como consequência de um quadro clinico-laboratorial de Diabetes. Estas complicações são muito frequentes em doentes diagnosticados com esta patologia, uma vez que os fungos são os microrganismos que são mais tolerantes a ambientes hipertónicos (neste caso, aumento da glicose) e em pH mais ácidos. Assim, o número de bactérias da flora residente baixa consideravelmente e ficam condições favoráveis ao crescimento de estruturas fúngicas.

10. Conclusão

Ao terminar o estágio curricular posso tirar várias conclusões de grande valor para o meu futuro profissional.

Uma delas é sobre a importância e necessidade absoluta de se executar todas as tarefas laboratoriais, em todas as fases do processo analítico, com o maior brio e perfeição possível. Apenas deste modo é possível oferecer a qualidade de diagnóstico não só para um utente específico, mas também para toda a comunidade. Um dos problemas de saúde pública que mais me despertou a atenção foi a frequência elevada da resistência bacteriana aos antibióticos. A prática que tive durante o meu estágio, pude observar, ao microscópio ótico, as alterações morfológicas que ocorrem a nível bacteriano nesse tipo de situações. Esse tipo de contacto aumentou a minha responsabilidade para as boas práticas de diagnóstico laboratorial de modo a que possíveis erros sejam minimizados e uma boa orientação terapêutica seja providenciada ao utente. Ainda no campo de minimização dos erros Humanos, percebi a extrema importância que tem a consolidação dos conhecimentos teóricos entre todas as valências das Análises Clínicas de modo a que uma boa validação dos resultados seja efetuada.

Também aprendi a ter um espírito crítico e autonomia para resolver problemas que possam surgir na rotina do laboratório, bem como em gerir adequadamente os recursos disponíveis como seja recursos de tempo e económicos.

Em suma, posso concluir que estou preparada para o mercado de trabalho e que adquiri excelentes conhecimentos para ser uma profissional de excelência na área da saúde.

Bibliografia

1. HAWKINS, Robert. – **Managing the Pre- and Post-analytical Phases of The Total Testing Process**. Ann Lab Med 32 (2012) 5-16.
2. MCPHERSON, Richard A., PINCUS, Matthew R. – **Henry's Clinical Diagnosis And Managment By Laborathory Methods**. 23^a Ed. St. Louis, Missouri: Elsevier (2017).
3. PLEBANI, Mario – **Errors in Clinical Laboratories or Errors in Laboratory Medicine?**. Clin Chem Lab Med 44 (6) (2006) 750-759.
4. Diário da República – Despacho n° 10009/2019, 2^a Série, N° 212, 5 de novembro de 2019.
5. OWEN, Judith A., PUNT, Jenni, STRANFORD, Sharon A., JONES, Patricia P. – **Kuby Immunology**. 7^aEd. New York, W. H. Freedom and Company (2009), Chapter I
6. MORSE, Stephen A.; MEITZNER, Timothy A. – **Bases de la Microbiología**. In: Brooks, Geo. F.; Carroll, Karen C.; Butel, Janet S.; Morse, Stephen A.; Meitzner, Timothy A. - Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología Médica. 25^a Ed. The McGraw-Hill Companies, Inc. (2010) pp 14-73
7. ROBERTS, Lauren – **Introduction to Clinical Microbiology**. In: Mahon, Connie R.; Lehman, Donald C.; Manuselis, George – Textbook of Diagnostic Microbiology. 5^a Ed. Sauders, Elsevier (2015) pp 111-135
8. CHAPIN, Kimberle C. – **Principles of Stains and Media**. In: Murray, Patrick R.; Baron, Ellen Jo; Jorgensen, James H.; Landry, Marie Louise; Pfaller, Michael A. – Manual of Clinical Microbiology Volume I. 9^a Ed. Washington DC: ASM Press (2007) pp 181-191
9. FORBES, Betty A.; SAHM, Daniel F.; WEISSFELD, Alice S. – **Laboratory Methods in Basic Mycology**. In: Forbes, Betty A.; Sahn, Daniel F.; Weissfeld, Alice S. – Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12^a Ed. Mosby, Elsevier (2007) pp 629-717
10. FORBES, Betty A.; SAHM, Daniel F.; WEISSFELD, Alice S. – **Aproaches for Diagnosis of Infectious Diseases**. In: Forbes, Betty A.; Sahn, Daniel F.; Weissfeld, Alice S. – Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12^a Ed. Mosby, Elsevier (2007) pp 78-205
11. DGS - **Prevenção da Transmissão de Enterobacteriáceas Resistentes aos Carbapenemos em Hospitais de Cuidados de Agudos**. 22 de maio de 2017
12. KOFTERIDIS, Diamantis P.; VALACHIS, Antonis; DIMOPOULOU, Dimitra; MARAKI, Sofia; CHRISTIDOU, Athanasia; MANTADAKIS, Elpis; SAMONIS, George - **Risk Factors For Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection / Colonization: A Case-Case-Control Study**. In: Journal of Infection and Chemotherapy. Volume 20, Issue 5. Elsevier (2014) pp 293-297

13. REID, Gail – **Urinary Tract Infections**. In: Mahon, Connie R.; Lehman, Donald C.; Manuselis, George – Textbook of Diagnostic Microbiology. 5ª Ed. Saunders, Elsevier (2015)
14. BROOKS, Geo F.; CARROL, Karen C. – **Bacteriología**. In: Brooks, Geo F.; Carroll, Karen C.; Butel, Janet S.; Morse, Stephen A.; Meitzner, Timothy A. - Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología Médica. 25ª Ed. The McGraw-Hill Companies, Inc. (2010) pp 145-371
15. FOTHERGILL, Annette W. – **Medically Significant Fungi**. In: Mahon, Connie R.; Lehman, Donald C.; Manuselis, George – Textbook of Diagnostic Microbiology. 5ª Ed. Saunders, Elsevier (2015)
16. MONSON, Linda S. – **Laboratory Identification of Significant Isolates**. In: Mahon, Connie R.; Lehman, Donald C.; Manuselis, George – Textbook of Diagnostic Microbiology. 5ª Ed. Saunders, Elsevier (2015)
17. BURTIS, Carl A.; BRUNS, David E. – **Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics**. 7ª Ed. St. Louis, Missouri. Saunders, Elsevier (2015)
18. GLASSOCK, Richard J.; DENIC, Aleksandar; RULE, Andrew D. – **The Physiology and Pathophysiology of the Kidneys in Aging**. In: Brenner and Rector's The Kidney. 11ª Ed. Elsevier (2020) pp 710-730
19. SEELEY, Rod R.; STEPHENS, Trent D.; TATE, Philip - **Anatomia e Fisiologia**. 6ª Ed. McGraw-Hill Higher Education. (2003)
20. ALMEIDA, Maria do Céu; DORES, Jorge; RUAS, Luísa – **Consenso “Diabetes Gestacional”: Atualização 2017**. In: Revista Portuguesa de Diabetes 2017. Direção Geral de Saúde (2017) 12 (1):24-38
21. HECHANOVA, L. Aimee – **Glicosúria Renal**. In: Manual MSD. Merck and Co., Inc. (2015)
22. BRUTSAERT, Erika F. – **Diabetes Mellitus**. In: Manual MSD. Merck and Co., Inc. (2015)
23. GOLDBERG, Anne Carol – **Dislipidemia**. In: Manual MSD. Merck and Co., Inc. (2015)

Anexos

Anexo I - Aparelhos existentes no laboratório e as suas funções.

Sector	Aparelho	Função
Hematologia	Sysmex XT-2000i	Hemograma
	ADAMS A1c HA-8180v	Controlo de Hb A1C
	ADAMSA1c HA-8180t	Controlo de Hb A1C
	StaRRSed Auto-Compact	Velocidade de Sedimentação
	Sysmex XE-2100	Hemograma
	StaRRSed	Velocidade de Sedimentação
	STA Compact Max ²	Testes de Coagulação
Bioquímica	Capillarys Sebia 2	Eletroforese de Proteínas
	Architect ci8200	Deteção e quantificação de parâmetros Bioquímicos
	Architect i1000	Deteção e quantificação de Fármacos
Microbiologia	Aution Max AX-4030	Sumária de Urina
	Phoenix 100 BD	Identificação de Bactérias e TSA
Imunologia	Phadia 250	Testes de Alergias e Autoimunidade
	Architect ci8200	Deteção e quantificação de Ag e Ac

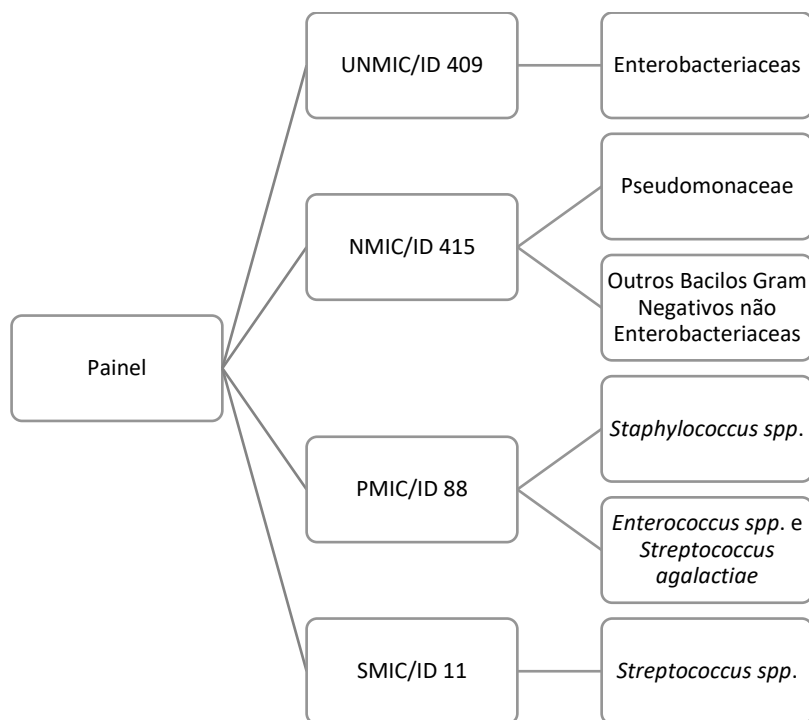
Anexo II - Análises Imunológicas realizadas no aparelho Architect ci8200

Anticorpo Anti- HIV 1 e 2 e Antígeno p24
Anticorpo HBs
Anticorpo Anti-HCV IgG Total
Anticorpo Anti-Tiroglobulina
Anticorpo Anti-Peroxidase
Beta-hCG
CA 125
CA 19.9
Antígeno Hbs
Antígeno Carcinomaembrionário
Anticorpo Anti-CMV IgG
Anticorpo Anti-CMV IgM
Antígeno Específico da Próstata Livre (PSA Livre)
Antígeno Específico da Próstata (PSA)
Anticorpo Anti-Vírus da Rubéola (IgG)
Anticorpo Anti-Vírus da Rubéola (IgM)
Anticorpo Anti-*Toxoplasma gondii* (IgG)
Anticorpo Anti-*Toxoplasma gondii* (IgM)
Anticorpo Anti-Vírus da Hepatite A (IgG)
Anticorpo Anti-Vírus da Hepatite A (IgM)
Anticorpo Vírus da Hepatite B Total
Anticorpo IgM Anti-Core HBc
Antígeno do Vírus da Hepatite B

Anexo III - Aparelho Phadia 250 (esquerda) e Canetas de Alergênicos da tecnologia ImmunoCAP (direita)



Anexo IV - Esquema dos painéis de Identificação e TSA existentes no Laboratório de Microbiologia do AVELAB.



Anexo V – Alguns dos antibióticos utilizados para TSA manual no laboratório de Microbiologia da AVELAB.

Tipo de Microrganismo	Antibiótico
<i>Enterococcus faecalis</i>	Sulfametoxazol (SXT)
	Ampicilina (AMP)
	Gentamicina 120 (GENT-120)
	Levofloxacina (LEVOF)
	Ciprofloxacina (CIP)
Staphylococcus Urinários	Nitrofurantoína (NITRO)
	Amoxicilina (AMOX)
	Oxacilina (OXA)
	Cefoxitina (FOX)
	Amoxicilina e Ácido Clavulânico (AMC)
	Ciprofloxacina (CIP)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Sulfametoxazol (SXT)
	Nitrofurantoína (NITRO)
	Ceftriaxona (CRO)
	Tetraciclina (TE)
	Ciprofloxacina (CIP)

Anexo VI – Fármacos doseados no aparelho Architect i1000 no laboratório de Bioquímica do AVELAB

Ácido Valproico

Carbamazepina

Digoxina

Fenitoína

Fenobarbital

Gentamicina

Teofilina

Vancomicina