



Sara Patrícia Lagoa Moreira Roda

Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

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

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Sara Patrícia Lagoa Moreira Roda

Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

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

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

“A persistência é o caminho do êxito”

(Charlie Chaplin)

Agradecimentos

A concretização deste mestrado constituiu um verdadeiro desafio na minha vida, fazendo-me acreditar que com muita força de vontade e dedicação tudo é possível.

Um sorriso e um obrigado a todos os que direta ou indiretamente contribuíram para o sucesso desta etapa.

Ao meu exemplo de vida, minha MÃE, pelo amor, alegria e atenção sem reservas.

À minha família, aos meus amigos e ao Filipe por estarem sempre presentes, incentivando-me a continuar a minha caminhada.

Ao Dr. Ricardo Castro pela possibilidade de integração no serviço de Patologia Clínica, permitindo-me adquirir experiência hospitalar, essencial para a minha evolução enquanto profissional.

Ao Dr. Jorge Pinheiro, à Dr.^a Ana Paquim, à Dr.^a Gina Marrão e à Dr.^a Filipa Silva por todos os conhecimentos transmitidos, pelo acompanhamento e ajuda incessante ao longo deste percurso no CHL.

A toda a equipa do CHL por me terem recebido todos os dias com um grande sorriso e por me terem integrado tão bem na vossa equipa, tornando esta experiência tão gratificante.

Às minhas colegas do Laboratório Uália por todo o apoio e motivação.

À Professora Doutora Maria do Céu Sousa pela disponibilidade prestada ao longo de todo este percurso.

Às pessoas que o mestrado me deu a conhecer, obrigado por terem feito parte desta etapa da minha vida.

Índice

Índice de Tabelas	IX
Índice de Figuras	IX
Abreviaturas, Siglas e Símbolos	XI
Resumo	XV
1. Introdução	- 1 -
2. Caracterização dos Laboratórios de Estágio	- 2 -
2.1 Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar de Leiria EPE	- 2 -
2.2 Laboratório de Unidade Análise Laboratorial de Investigação Aplicada- Uália	- 4 -
3. Ciclo Analítico.....	- 6 -
3.1 Fase Pré Analítica:.....	- 6 -
3.2 Fase Analítica:	- 6 -
3.3 Fase Pós Analítica:.....	- 6 -
4. Erros Laboratoriais.....	- 7 -
5. Controlo de Qualidade Interno (CQI).....	- 9 -
5.1 Etapas na construção de um procedimento de CQI.....	- 9 -
6. Avaliação Externa da Qualidade (AEQ).....	- 10 -
7. Laboratório de Bioquímica.....	- 11 -
7.1 Circuito das amostras no laboratório de Bioquímica	- 11 -
7.2 Equipamentos utilizados no laboratório de Bioquímica	- 13 -
7.3 Controlo de Qualidade do Laboratório de Bioquímica	- 15 -
7.4 Parâmetros Bioquímicos	- 16 -
7.4.1 Doseamento de fármacos	- 16 -
7.4.2 Marcadores Tumorais.....	- 16 -
7.4.3 Função Pancreática	- 19 -
7.4.4 Avaliação do Equilíbrio Hidro-electrolítico.....	- 20 -
7.4.5 Avaliação do metabolismo dos hidratos de carbono.....	- 22 -
7.4.6 Avaliação Músculo e função cardíaca.....	- 24 -
7.4.7 Metabolismo ósseo.....	- 26 -
7.4.8 Cinética do ferro.....	- 27 -
7.4.9 Avaliação da fertilidade.....	- 28 -
7.4.10 Função hepática.....	- 29 -
7.4.11 Avaliação da Função Tiroideia.....	- 32 -
7.4.12 Função renal.....	- 33 -
7.4.13 Metabolismo dos lípidos	- 36 -
7.5 A minha contribuição na validação do método da Troponina I Hipersensível	- 37 -
8. Laboratório de Microbiologia e serologia infecciosa	- 38 -

8.1 Equipamentos do Laboratório de Microbiologia.....	- 39 -
8.2 Exame bacteriológico.....	- 40 -
8.2.1 Exame macroscópico	- 40 -
8.2.2 Exame microscópico.....	- 40 -
8.2.3 Exame cultural	- 41 -
8.2.4 Identificação Bacteriana.....	- 43 -
8.2.5 Teste de susceptibilidade aos antibióticos (TSA).....	- 46 -
8.3 Principais produtos biológicos.....	- 46 -
8.3.1 Urina	- 46 -
8.3.2 Pontas de Cateteres.....	- 47 -
8.3.3 Fezes	- 48 -
8.3.4 Hemoculturas	- 50 -
8.3.5 Secreções respiratórias	- 51 -
8.3.6 Exsudados purulentos.....	- 52 -
8.3.7 Líquido Cefalorraquidiano (LCR).....	- 52 -
8.4 Pesquisa de Bacilos Álcool Ácido Resistentes (BAAR)	- 53 -
8.5 Serologia infecciosa	- 53 -
8.6 Controlo de Qualidade Interno e Externo no Laboratório de Microbiologia	- 54 -
9. Principais Atividades desenvolvidas no Laboratório Uália.....	- 55 -
9.1 Hematologia.....	- 55 -
9.2 Imunologia	- 56 -
10. Conclusão.....	- 57 -
11. Bibliografia	- 59 -
12. Anexos.....	XVII
1. Dispersão das magnitudes biológicas do SPC do CHL	XVII

Índice de Tabelas

Tabela I: Volume de resposta do SPC do CHL.....	- 3 -
Tabela II: Tipos e percentagem de erros nas três fases do ciclo laboratorial,.....	- 7 -
Tabela III: Equipamentos utilizados no Laboratório de Bioquímica, métodos e seus parâmetros analíticos.....	- 13 -
Tabela IV: Doseamento de Fármacos	- 16 -
Tabela V: Descrição dos Marcadores Tumorais.....	- 18 -
Tabela VI: Critérios no diagnóstico da diabetes, segundo a DGS	- 23 -
Tabela VII: Equipamento do Laboratório de Microbiologia	- 39 -
Tabela VIII: Descrição dos Meios de Cultura.....	- 42 -
Tabela IX: Cartas de identificação para VITEK 2.....	- 44 -
Tabela X: Métodos manuais de identificação bacteriana	- 45 -
Tabela XI: Provas serológicas de aglutinação.....	- 54 -
Tabela XII: Testes imunocromatográficos aplicados à identificação de agentes infecciosos.....	- 54 -

Índice de Figuras

Figura I: Diagrama esquemático do Circuito interno das amostras de bioquímica.....	- 12 -
Figura II: Soro normal, Lipemico, hemolisado e ictérico respetivamente	- 15 -
Figura III: Urinas Tipo II.....	- 36 -
Figura IV: Efeito Swarming provocado pela bactéria <i>Proteus mirabilis</i>	- 43 -
Figura V: Prova dos fatores de crescimento proteico para identificação de <i>Haemophilus</i>	- 45 -
Figura VI : colónias de <i>Klebsiella pneumoniae</i> numa placa de CLED.....	- 47 -
Figura VII: Colónias de <i>Escherichia coli</i> numa placa de CLED.....	- 47 -
Figura VIII: Colónias de <i>Staphylococcus aureus</i> numa placa de GS	- 48 -
Figura IX: Garrafas de Hemocultura anaeróbias e aeróbias respetivamente.	- 51 -
Figura X: Colónias de <i>Pseudomonas spp.</i> em placa de GS.....	- 52 -
Figura XI: Colónias de <i>Pseudomonas spp.</i> em placa de GC	- 52 -

Abreviaturas, Siglas e Símbolos

ADH	Hormona Antidiurética
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AEQ	Avaliação Externa da Qualidade
AFP	Alfafetoproteína
ALP	Fosfatase Alcalina
ALT	Alanina Aminotransferase
AMY	Amilase
AST	Aspartato Aminotransferase
ATB	Antibiograma
aTG	Anticorpos Anti Tiroglobulina
aTPO	Anticorpos Anti Peroxidase
BAAR	Bacilos Ácido-Álcool resistentes
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
BNP	Peptídeo Natriurético Cerebral
CA	<i>Cancer Antigen</i>
Ca ²⁺	Cálcio
CEA	<i>Carcinogenic Embryonic Antigen</i>
CHL	Centro Hospitalar de Leiria
CK	Creatina Cinase
CKMB	Fração MB da Creatina Cinase
Cl ⁻	Cloreto
CLED	Cistina, Lactose, Défice em Eletrólitos
CMHG	Concentração Média Hemoglobina Globular

CMI	Concentração Mínima Inibitória
CO ₂	Dióxido de Carbono
CQ	Controlo de Qualidade
CQI	Controlo de Qualidade Interno
CVC	Cateter Venoso Central
DM	Diabetes Mellitus
E2	Estradiol
EAM	Enfarte Agudo do Miocárdio
EUCAST	<i>European Committee On Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
FATOR V NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
FSH	Hormona Folículo Estimulante
FT3	Triiodotironina Fração Livre
FT4	Tiroxina Fração Livre
GC	Gelose de Chocolate
GGT	Gama Glutamil Transferase
GRAN	Granada
GS	Gelose de Sangue
HBA1C	Hemoglobina Glicada
HDL	<i>Hight Density Lipoprotein</i>
HGM	Hemoglobina Globular Média
ID	Identificação Bacteriana
INR	<i>International Normalised Ratio</i>
ITU	Infeção do Trato Urinário
K ⁺	Potássio

LCR	Líquido Cefalorraquidiano
LDH	Lactato Desidrogenase
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i>
LH	Hormona Luteinizante
LIH	Lipémia, Icterícia, Hemólise
Mg ²⁺	Magnésio
MHE	Mueller Hinton
Na ⁺	Sódio
NEQAS	<i>National External Quality Assessment Services</i>
NSE	Neuroenolase Específica
PSA	<i>Prostate Specific Antigen</i>
PTGO	Prova de Tolerância à Glicose oral
PTH	Hormona Paratiróide
RDW	Dispersão de volume eritrocitário, do inglês “ <i>Red-cells Distribution Width</i> ”
RIQAS	<i>Randox International Quality Assessment Scheme</i>
SEQC ML	Sociedade Espanhol Medicina Laboratorial
SPC	Serviço de Patologia Clínica
SS	Gelose <i>Salmonella, Shigella</i>
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TRH	<i>Thyrotropin Releasing Hormone</i>
TSACSP	Técnica Superior Análises Clínicas Saúde Pública
TSH	<i>Thyroid Stimulating Hormone</i>
TSS	Técnico Superior de Saúde

TTPa	Tromboplastina Parcial Ativada
UÁLIA	Unidade Análise Laboratorial e Investigação Aplicada
UFC	Unidade Formadora de Colónias
VGM	Volumo Globular Média
VLDL	<i>Very Low Density Lipoproteins</i>

Resumo

O presente relatório foi realizado no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, da faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, e reporta o estágio curricular realizado no Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar de Leiria E.P.E e no Laboratório Uália.

Pela importância das análises clínicas no acompanhamento de um utente e na decisão terapêutica, é fundamental que os profissionais desta área de saúde estejam sensibilizados para a importância do seu trabalho, bem como de toda a política de Controlo de Qualidade inerente, para assim prestarem um serviço de qualidade no complemento de diagnóstico clínico.

As áreas laboratoriais mais desenvolvidas neste relatório serão a Bioquímica, e a Microbiologia.

Ao longo deste trabalho são referidas não só as amostras avaliadas como os exames efetuados e a sua importância para o diagnóstico de uma patologia.

Palavras-chave: Bioquímica, Microbiologia, Análises Clínicas, Saúde, Controlo Qualidade.

Abstract

This report was carried out within for the Master in Clinical Analyzes, by the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra, and reports the curricular internship at the Clinical Pathology Service of the Hospital Center of Leiria E.P.E and at the Uália Laboratory.

Due to the importance of the clinical analysis to follow-up the patient and to orientate the therapy, it's fundamental that professionals of this health's area are sensitized to the importance of their work, as well as of the entire inherent Quality Control policy, in order to provide a quality service in the clinical diagnostic.

The highlighted laboratory areas will be Biochemistry and Microbiology.

Along this work, the samples and also the examination and their importance for the diagnosis of pathology will be mentioned.

Keywords: Biochemistry, Microbiology, Clinical Analysis, Health, Quality Control.

I. Introdução

As Análises Clínicas desempenham um papel fundamental no diagnóstico de determinadas patologias, permitindo uma adequada prescrição de tratamentos, facilitando a realização de cirurgias e de outros meios complementares de diagnóstico, bem como a revisão do estado geral de saúde.

Os laboratórios encontram-se cada vez mais automatizados, fornecendo resultados mais rápidos e menos sujeitos a erro humano, respeitando sempre uma política de qualidade ao longo de todo o processo analítico (fase pré-analítica, analítica e pós analítica).

O meu estágio curricular foi realizado de 02 de janeiro a 13 março de 2018 no Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Leiria (SPC CHL) e de 14 de março a 29 de junho de 2018 no Laboratório de Unidade de Análise Laboratorial e Investigação Aplicada (Uália). Em ambos os locais de estágio foi-me permitida a passagem por todas as áreas laboratoriais (Bioquímica, Hematologia, Imunologia e Microbiologia) bem como o manuseamento de produtos biológicos, manipulação de equipamentos e realização de técnicas manuais.

As áreas que escolhi para desenvolver neste relatório foram a Bioquímica e Microbiologia, realizadas no SPC do CHL. Serão abordadas com detalhe as técnicas de diagnóstico disponíveis, a sua importância no diagnóstico laboratorial e será também feita uma breve referência aos sectores da Hematologia e Imunologia do Laboratório Uália.

2. Caracterização dos Laboratórios de Estágio

2.1 Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar de Leiria EPE

O Centro Hospitalar de Leiria (CHL) é constituído pelo Hospital Santo André (Leiria), pelo Hospital Bernardino Lopes de Oliveira (Alcobaça) e pelo Hospital Distrital de Pombal. O Serviço de patologia Clínica (SPC) possui unidades laboratoriais nos três hospitais e está centralizado no Hospital de Santo André.

A unidade laboratorial do SPC de Leiria responde a pedidos do Hospital de Leiria provenientes das consultas externas, hospital de dia, internamento, ambulatório, urgência e ainda aos pedidos de análises de consulta/rotina e internamento do hospital de Alcobaça e Pombal.

Este serviço conta ainda com o apoio de laboratórios externos, nomeadamente o laboratório Dr. Joaquim Chaves e o Laboratório Germano de Sousa, para a realização de análises cujo estudo não é realizado no CHL.

O laboratório possui um horário de rotina que funciona de segunda a sexta – feira entre as 8h00 e as 17h30 e um horário de urgência de 24h por dia, todos os dias da semana. Ambos os horários são assegurados pelos Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica, e supervisionados pelos especialistas do serviço (Médicos e Técnicos Superiores de Saúde).

O SPC encontra-se sob a responsabilidade do Diretor de Serviço, Dr. Ricardo Castro, e pela Técnica coordenadora, Dr.^a Teresa Cruz. Os recursos humanos do serviço são constituídos por médicos patologistas, Técnicos Superiores de Saúde (TSS), Técnicos Superiores de Análises Clínicas e Saúde Pública, (TSACSP), assistentes operacionais e assistentes técnicos.

Neste momento o SPC está tecnicamente organizado em cinco áreas laboratoriais, nomeadamente a área da Urgência, Bioquímica, Hematologia, Imunologia e Microbiologia, estando cada uma delas sobre a responsabilidade de diferentes TSS ou médicos patologistas. Possui, ainda, uma área de secretariado, onde se fazem as marcações de colheitas e atendimento aos utentes, uma sala de espera, gabinetes de colheitas e instalações sanitárias para os utentes. Todas as áreas laboratoriais estão equipadas com o programa informático Modulab Gold, que permite para além de fazer a validação patológica, verificar o histórico dos pacientes e efetuar o cálculo automático das percentagens de variações dos resultados durante a monitorização do paciente, verificar as cartas de controlo de qualidade (CQ) de todos os

aparelhos, elaborar gráficos automáticos de dispersão das magnitudes biológicas dos pacientes para monitorização da estabilidade dos métodos de doseamento, gestão do stock existente, aceder à informação clínica do utente e rastrear toda a atividade pré-analítica (identificação do médico prescritor, hora e local de colheita, tipo de amostras e informação técnica do ato da colheita se necessário), analítica (todos os atos ficam registados bem como todos os intervenientes envolvidos) e pós-analítica (todos os dados e alterações efetuadas durante a validação ficam registados internamente), entre outros.

O volume de resposta do SPC do CHL E.P.E, durante os anos 2014, 2015 e 2016, encontra-se descrito na tabela I em valores de percentagem por cada laboratório, considerando o número total de provas, número total de pedidos e número total de pacientes por anos.

Tabela I: Volume de resposta do SPC do CHL

ANO	2014	2015	2016
Nº Total de Provas	1976706	2109484	2344150
Lab. Bioquímica	78,1%	78,4%	78,0%
Lab. Hematologia	16,8%	1,5%	16,0%
Lab. Imunologia	3,7%	3,6%	3,2%
Lab. Microbiologia	1,5%	1,5%	2,8%
Nº Total de Pedidos	193472	203995	217591
Lab. Bioquímica	84,6%	85,2%	85,8%
Lab. Hematologia	75,3%	74,3%	73,7%
Lab. Imunologia	6,6%	6,6%	6,4%
Lab. Microbiologia	10,1%	10,2%	11,1%
Utentes	66601	68818	71185
Lab. Bioquímica	87,8%	87,5%	88,1%
Lab. Hematologia	85,1%	83,9%	83,9%
Lab. Imunologia	14,3%	14,7%	14,6%
Lab. Microbiologia	16,3%	16,5%	18,4%

2.2 Laboratório de Unidade Análise Laboratorial de Investigação Aplicada- Uália

O Laboratório Uália foi fundado em 1983, e hoje é uma referência de qualidade na área das análises clínicas.

Possui um laboratório central no Edifício Cruzeiro, 2º andar, salas 16 e 17, Cruz de Celas, Coimbra e uma rede de 12 postos de colheitas que se estendem atualmente por 4 distritos: Coimbra, Leira, Viseu e Aveiro. Para além dos postos de colheitas, o laboratório presta também serviços de domicílio quer a nível de particulares, quer a Lares e a Unidades de Cuidados Continuados.

O Laboratório Uália tem também o privilégio de trabalhar com duas Clínicas de renome em Coimbra, fazendo todo o tipo de análises por eles solicitados, de carácter urgente ou não, estando para isso um técnico superior de análises clínicas de prevenção 24h por dia, todos os dias da semana.

Em 2010, como resultado da sua estratégia de crescimento, o Laboratório Uália adquiriu o Laboratório Torres situado em Pombal, possuindo assim dois laboratórios centrais e uma rede de postos de colheitas em permanente crescimento.

O Laboratório Uália desenvolve as várias valências de um laboratório de Análises Clínicas (Bioquímica, Hematologia, Imunologia e Microbiologia), possuindo uma equipa altamente especializada que inclui: Dr. João Mariano Pego - Médico Patologista Clínico (Diretor Técnico); Dr. Rui Bártolo - Médico Patologista Clínico (Diretor Técnico Substituto); Dr.^a Maria Alexandra Mendes - Farmacêutica (Especialista em Análises Clínicas). Além dos referidos especialistas, possui ainda TSS, TSACSP, auxiliares de laboratório e administrativas.

O laboratório tem acordo com praticamente todos os subsistemas de Saúde, como SNS, ADSE, SAMS, MULTICARE, PSP, entre outros.

O Laboratório Uália tem capacidade para realizar a maioria das análises de rotina das várias áreas, tendo como apoio o Laboratório Dr. Joaquim Chaves e o Laboratório Cerba (situado em Espanha) para a realização de análises hidrológicas, genéticas ou análises de carácter menos frequente para as quais o laboratório não tenha capacidade de resposta adequada.

O laboratório possui uma sala de receção, onde é efetuada a inscrição dos utentes e onde estes aguardam para a realização de colheitas, efetuadas numa sala específicas. Um gabinete onde os especialistas responsáveis validam todos os resultados funcionando também como sala de eventuais reuniões, uma área laboratorial geral para as valências de Bioquímica,

Imunologia e Hematologia e uma área específica para a microbiologia. Possui, ainda, uma sala de lavagem de material, uma sala polivalente e uma sala de armazenamento de materiais existentes em *stock*.

Todas as áreas laboratoriais bem como a receção e o gabinete estão equipadas com o sistema informático *SISLAB*. Este permite a comunicação de informação entre estas zonas com a transferência e validação de resultados provenientes dos aparelhos.

O laboratório funciona todos os dias de segunda a sexta-feira das 8h às 19h e ao Sábado das 8h às 13h, tendo em média cerca de 150 utentes por dia. As principais amostras processadas são essencialmente sangue, urina e fezes.

De modo a garantir a qualidade dos resultados foram definidos procedimentos e implementados sistemas de CQI, que são, realizados diariamente antes do processamento das amostras, bem como programas de AEQ, nomeadamente:

- Programa de Controlo de Qualidade Internacional (RIQAS) e;
- Programa de Controlo Nacional (PNAEQ).

As cartas de CQI são diariamente monitorizadas pelas responsáveis de cada sector.

3. Ciclo Analítico

Num laboratório, a realização das análises clínicas compreende três diferentes fases analíticas.

3.1 Fase Pré Analítica: esta fase engloba os procedimentos iniciais do processo laboratorial, por ordem cronológica, prescrição dos exames laboratoriais, preparação e identificação do doente, colheita de amostras e transporte para o laboratório.^{1,2}

Na fase pré analítica, os laboratórios devem ter estabelecidos critérios de aceitação e rejeição aplicados à colheita e ao transporte de amostras. O método de identificação das amostras deve ser claro e simples, o procedimento das colheitas, o recipiente escolhido, a segurança no transporte (temperatura e duração) e a receção das amostras no laboratório devem ser monitorizados.³

3.2 Fase Analítica: Conjunto de procedimentos que permitem determinar um valor ou analisar as características de uma amostra. Esta fase corresponde assim, à etapa da realização do exame laboratorial, onde são executados os procedimentos analíticos necessários de manutenção e calibração dos equipamentos, bem como a realização dos CQI e AEQ.¹

3.3 Fase Pós Analítica: A fase pós analítica abrange os processos que se seguem aos exames laboratoriais, nomeadamente a revisão dos resultados tendo em conta o histórico do utente, emissão/impressão de resultados para os clínicos e arquivo de resultados dos mesmos. Esta fase inclui a interpretação dos resultados e posterior validação biopatológica.⁴

4. Erros Laboratoriais

O papel do laboratório nos cuidados prestados aos utentes é fundamental e estima-se que os resultados laboratoriais influenciam cerca de 60 a 70% das decisões clínicas. Devido ao elevado nível de influência, a qualidade dos testes laboratoriais é extremamente importante e consequentemente, as análises laboratoriais executadas de forma incorreta poderão constituir uma importante fonte de erro, afetando a segurança do utente.^{3,5,6}

Os erros laboratoriais podem ser classificados de acordo com a fase do ciclo analítico, local onde o erro teve origem (intra ou extra laboratório), responsabilidade sob o erro, possibilidade de serem evitados e impacto nos cuidados prestados ao utente. Esta classificação permite aos laboratórios clínicos reconhecerem as causas dos erros, identificar os processos com elevado risco de ocorrência de erro, estimar, avaliar e controlar o risco associado aos cuidados prestados aos utentes bem como monitorizar a eficácia dos programas de controlo de qualidade.⁶

Os erros laboratoriais podem ocorrer em qualquer fase do ciclo do laboratório, no entanto a percentagem de erros às duas fases pré analítica e pós analítica é 4 a 5 vezes superior à registada na fase analítica (Tabela II).

Tabela II: Tipos e percentagem de erros nas três fases do ciclo laboratorial,^{5,3}

Fase do Processo	Tipo de Erro	Percentagem de erro (%)
Analítico		
Fase pré analítica	<ul style="list-style-type: none"> - Requisição de um teste inadequado - Identificação incorreta do utente - Recipiente incorreto - Volume de amostra insuficiente - Erro na identificação da amostra - Contaminação biológica - Variabilidade Biológica 	46-68%
Fase Analítica	<ul style="list-style-type: none"> - Funcionamento incorreto do aparelho - Interferências endógenas ou exógenas - Falha não detetada no CQ - Incerteza de Medição do método - Interferências do estado da amostra (Lipémia, Icterícia, Hemólise) 	7-13%

Fase pós Analítica	- Validação incorreta dos resultados	
	- Introdução incorreta dos resultados	18.5- 47%
	- Erro na emissão/impressão dos resultados	
	- Demora na disponibilização dos resultados ao clínico responsável	

Um erro na fase pré-analítica influencia decisivamente o erro total e, conseqüentemente, o resultado analítico dado ao clínico. Assim, um adequado tratamento na fase pré-analítica pode evitar a necessidade de repetição de colheitas, da repetição da determinação dos parâmetros analíticos, e da instituição de uma terapêutica inadequada devido a um diagnóstico incorreto. Para minimizar os erros nesta fase é essencial que sejam desenvolvidos procedimentos próprios, os funcionários tenham formações específicas constantes e haja cooperação entre as várias áreas laboratoriais.

Com o desenvolvimento da automatização, os erros na fase analítica têm vindo a diminuir. A determinação dos parâmetros analíticos é menos demorada, devido à implementação dos CQI e AEQ aumentando a precisão e exatidão dos resultados, permitindo aos laboratórios quantificar a incerteza de medição e trabalhar com qualidade e segurança nos resultados obtidos.

Na fase pós-analítica, a quantificação da contribuição da incerteza de medição (erro da fase analítica) e da variabilidade biológica (erro da fase pré-analítica), permite quantificar e definir o risco de decisão clínica proveniente da validação biopatológica dos resultados laboratoriais.

5. Controlo de Qualidade Interno (CQI)

A melhoria contínua dos processos envolvidos nas três fases do ciclo analítico devem representar o foco principal de atuação de qualquer laboratório, seja ele público ou privado. Para tal, devem ser aplicadas metodologias de controlo, nomeadamente programas de controlo de qualidade interna (CQI), que permitam identificar, prever e corrigir possíveis erros e assim minimizar as suas consequências e repetições.⁷

Em 1981 a Organização Mundial da saúde definiu como CQI “o conjunto de procedimentos utilizados na avaliação contínua do trabalho desenvolvido e dos seus resultados”.

Assim o CQI consiste no conjunto de procedimentos aplicados com regularidade na monitorização do desempenho dos métodos analíticos, na deteção de possíveis erros devido ao mau funcionamento do sistema ou a condições ambientais adversas, ao mau desempenho do operador e à correção de problemas antes da entrega dos resultados ao utente ou ao médico.⁸

5.1 Etapas na construção de um procedimento de CQI

As etapas de um procedimento de CQI são:

a) Definir os requisitos de qualidade a cumprir pelo laboratório: o Consenso de Milão (2014), define 3 modelos de requisitos de qualidade laboratorial por ordem hierárquica: 1- requisitos clínicos (definidos por estudos diretos ou por simulação do impacto no utente, usando por exemplo os dados de incerteza de medição e de variabilidade biológica), 2- requisitos de variabilidade biológica (por exemplo os definidos na maior base de dados mundial de variabilidade biológica, da SEQC) e 3- requisitos de qualidade por Estado da Arte (definido por exemplo pelos Programas de Avaliação Externa da Qualidade Laboratorial).

b) Previsão do desempenho do CQI: envolve a análise do material de controlo em simultâneo com as amostras dos utentes. O laboratório deve estabelecer a frequência, o tipo e número de testes de CQ em todo o processo analítico e quantificar o erro.

c) Seleção de um procedimento de CQI apropriado: pode ser usado o método que define o conjunto de regras de controlo de qualidade que permitam, preferencialmente, detetar 90% dos erros e um máximo de 5% de falsas rejeições, através da métrica do erro Total.

Pode também ser definido por procedimento que defina uma incerteza máxima de medição que, com uma regra simples de exclusão, garanta o cumprimento para 100% dos

doseamentos com 95% de confiança e cujo impacto clínico no paciente é calculado usando a métrica da incerteza de medição em conjunto com os dados da variabilidade biológica.

d) Implementação de um sistema de CQI: programa que cumpra os critérios estatísticos, regras de controlo ou que o número de determinações com controlo realizadas esteja em concordância com o requisito de qualidade definido pelo laboratório.⁸

As amostras de controlo são de valor conhecido e a sua monitorização é obtida através das análises estatísticas, nomeadamente através da média, desvio padrão e coeficiente de variação. Os gráficos de Levey Jennings e as regras de Westgard são as principais ferramentas aplicadas a nível mundial na avaliação do CQI.⁴ Através da análise da carta de controlo é possível detetar e identificar os tipos de erros ocorridos (aleatórios ou sistemáticos) e a origem da não conformidade deve ser determinada e corrigida, quando se revele com impacto clinicamente relevante no paciente. Nem todas as regras são de exclusão (com necessidade de correção imediata) e muitas regras são apenas de aviso (tendências ou erros sistemáticos não pronunciados e ainda não clinicamente relevantes) que alertam para a necessidade de se ir corrigindo antes que ocorram erros maiores e clinicamente relevantes.

6. Avaliação Externa da Qualidade (AEQ)

A Avaliação Externa da Qualidade corresponde à avaliação objetiva do desempenho de um laboratório em comparação com outros laboratórios, sendo a atividade organizada por uma entidade externa e independente, como são a SEQC ML (sociedade espanhola de Medicina Laboratorial), UK NEQAS (*National External Quality Assessment Service of United Kingdom*) ou RIQAS (*Randox International Quality Assessment Scheme*). Contrariamente ao CQI, esta avaliação externa da qualidade permite uma avaliação não só da imprecisão dos resultados obtidos, mas principalmente da exatidão destes, por comparação entre laboratórios que utilizem o mesmo método e equipamento.

Os laboratórios são responsáveis pela seleção dos programas de AEQ que se pretendem associar. Após a inscrição dos laboratórios nesses programas, a entidade organizadora é responsável pela preparação e envio das amostras de controlo para os laboratórios participantes. Os laboratórios devem aplicar às amostras de controlo o mesmo procedimento aplicado às amostras dos utentes. De seguida, os resultados das amostras de controlo são enviadas à entidade organizadora que, por sua vez, irá realizar o tratamento

estatístico dos resultados, bem como, a sua análise e interpretação. Posteriormente, a entidade organizadora enviará um relatório de avaliação dos resultados a cada laboratório participante sob os quais são aplicadas ações corretivas se necessário.

A obtenção de resultados aceitáveis nestes programas indicam que o laboratório apresenta capacidade para produzir resultados fidedignos e são uma forte evidência que os procedimentos analíticos estão sob controlo, que o trabalho dos técnicos é adequado e que as regras de CQI foram cumpridas. Esta informação tranquiliza os profissionais de saúde e representa uma evidência da conformidade e comparabilidade dos resultados entre laboratórios.⁹

7. Laboratório de Bioquímica

A bioquímica tem como principal objetivo avaliar as funções metabólicas e as alterações que possam originar determinadas patologias.

No laboratório de Bioquímica do CHL, são processadas amostras de sangue total, soro, plasma e urina. Para se obter o soro o sangue é colhido para tubos de gel e após retração do coágulo é centrifugado a 2000g durante 10 minutos. A retração do coágulo é de extrema importância para evitar hemólise e a fibrina, uma vez que, estes fatores interferem com a maioria dos parâmetros analisados quer seja por obstrução na aspiração das amostras ou por interferência nas reações colorimétricas. A urina pode ser colhida e transportada em recipientes de pequeno volume (geralmente a primeira urina da manhã, ou como uma amostra aleatória) ou de grande volume, quando o médico requer a avaliação da urina de 24h. Nesta última situação é importante registar o volume total de urina, uma vez que, este é necessário para a determinação dos valores finais (microalbuminúria, clearance da creatinina). As amostras de urina são também previamente centrifugadas a 1000g antes de serem processadas no auto analisador da bioquímica.

7.1 Circuito das amostras no laboratório de Bioquímica

As amostras quando chegam a esta área laboratorial, são centrifugadas e colocadas no equipamento Automate, responsável pelo processo de triagem, separando os diversos tubos pelos vários equipamentos correspondentes às análises pretendidas. Habitualmente após a triagem realizada pelo equipamento Automate, as amostras seguem para o UniceIDxI800 e depois para o AU5800 (Fig.1). Após um determinado tempo de espera, de modo a garantir que o equipamento teve tempo suficiente para executar todas as provas pedidas e lançar os

resultados para o *Modulab*, as amostras são novamente colocadas no Automate, que fará uma segunda triagem. Se todas as provas foram executadas, a amostra é arquivada num suporte devidamente identificado (é a partir desta identificação, que mais tarde será possível encontrar a amostra). Caso existam ainda análise em falta, as amostras serão separadas de acordo com o equipamento por onde ainda devem passar (AU da urgência ou Cobas) (Fig.I). Existem amostras de carácter urgente que são colocadas diretamente no aparelho correspondente à análise solicitada e só depois vão ao Automate, tais como lactato, amónia, ACTH, entre outras. Todas as amostras são arquivadas no posto de frio durante 8 dias.

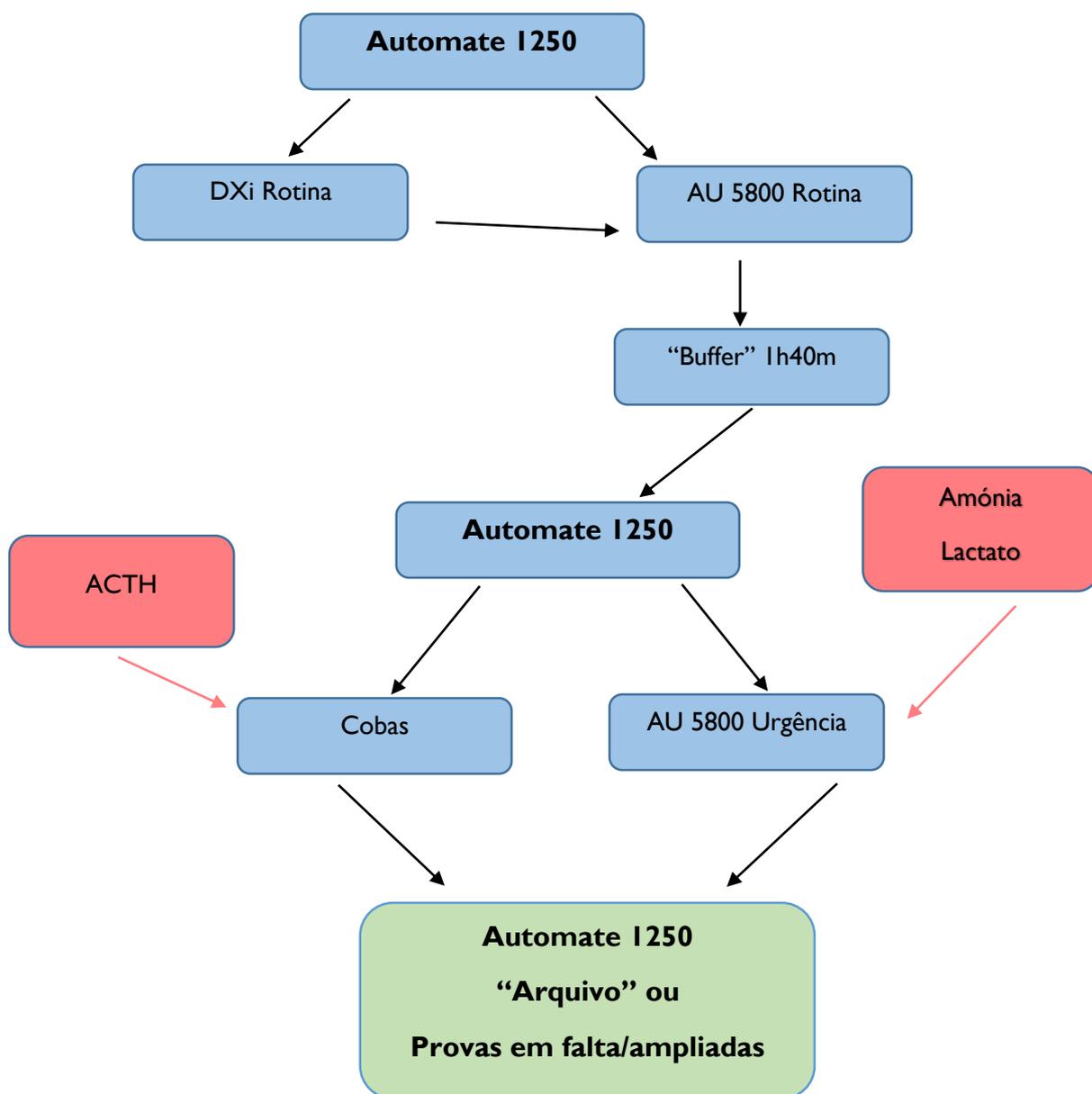


Figura I: Diagrama esquemático do Circuito interno das amostras de bioquímica.

7.2 Equipamentos utilizados no laboratório de Bioquímica

O laboratório de Bioquímica possui vários equipamentos automatizados descritos na tabela III.

Tabela III: Equipamentos utilizados no Laboratório de Bioquímico, métodos e seus parâmetros analíticos.

AutoMate I250, Beckman Coulter®



Equipamento automatizado de triagem pré-analítica e pós-analítica.

AU 5800, Beckman Coulter®



Métodos:
Potenciometria,
Turbidimetria
Espectrofotometria.

Parâmetros Determinados: Glicose; AST; ALT; GGT; Bilirrubinas; ALP; Lipase; Amilase; Ionograma; Cálcio, Fósforo; Magnésio; Ureia; creatinina; Ácido úrico; Microalbuminúria; Clearance Creatinina; Colesterol Total; HDL; triglicéridos; Fármacos; ferro; Transferrina; CK; CKMB; LDH.

UniCel DxI 800, Beckman Coulter®



Método:
Quimioluminescência

Parâmetros Determinados: AFP; CA15.3; CEA; CA19.9; CA125; E2; Prolactina; Testosterona; Ferritina; Vitamina B12; Folatos; PSA; FreePSA; FT4; FT3; T3;T4; TSH; FSH; LH; Troponina I;

SediMAX, Menarini®



Equipamento com microscópio ótico incorporado, para captação de imagens dos sedimentos urinários, efetuando a análise qualitativa e quantitativa das partículas.

AQT90 Flex, Radiometer®



Método:
Imunoensaio e Fluorescência de resolução temporal.

Parâmetros Determinados: BNP; Procalcitonina; Mioglobolina

Cappilarys 2 Flex Piercing, Sebia®



Método:
Electroforese em Capilares

Parâmetros Determinados: HbA1c

Cobas e411, Roche®



Método:
Electroquimioluminescência

Parâmetros Determinados: NSE; CA72.4

7.3 Controlo de Qualidade do Laboratório de Bioquímica

No SPC atendendo ao elevado número de análises que se realizam diariamente e à elevada variedade de produtos biológicos rececionados é imprescindível a utilização de ferramentas adequadas para a avaliação contínua e permanente da estabilidade dos métodos analíticos e validação final dos resultados tanto na rotina como na urgência. Para tal é essencial a monitorização dos controlos de qualidade internos (CQI) regidos segundo procedimentos do laboratório estipulados nos programas de CQI do SPC, que inclui a avaliação dos gráficos de dispersão das magnitudes biológicas (Anexo I) de todos os pacientes e ainda a participação nos programas de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ).

No laboratório de bioquímica os equipamentos são calibrados e controlados diariamente e aos mesmos são realizadas manutenções que podem ser diárias, semanais ou mensais e todos os dias são verificados e atestados, caso seja necessário, os reagentes as soluções e outros consumíveis essenciais ao funcionamento dos mesmos, de forma a garantir que os resultados sejam fidedignos.

O Programa de Qualidade Interno do Laboratório de Bioquímica inclui a avaliação sistematizada e automatizada do índice LIH- Lipémia, icterícia e hemólise (Fig. II), de todas as amostras de soro processadas no laboratório. Recorrendo-se a uma solução salina comercial devidamente validada pela Beckman Coulter com índices quantificados de 1 a 5 para a lipémia, icterícia e hemólise, todas as amostras de soro ficam catalogadas internamente no processo do paciente com o respetivo índice. Conforme o índice obtido é executada a ação de registo da informação do estado da amostra ao clínico prescriptor e cancelados os parâmetros afetados que alterem o quadro clínico real do paciente, segundo o índice de LIH determinado na tabela oficial da Beckman Coulter, podendo em última análise ser cancelada a totalidade do pedido e resultados obtidos.



Figura II: Soro normal, lipémico, hemolisado e icterício respetivamente.

7.4 Parâmetros Bioquímicos

7.4.1 Doseamento de fármacos

O doseamento de fármacos (Tabela IV) é essencial e imprescindível na monitorização da terapêutica por parte do clínico, permitindo determinar ou equilibrar a dose benéfica no tratamento de determinada patologia, evitando atingir o limiar de toxicidade. Nestes casos, é necessário conhecer a farmacocinética e a farmacodinâmica de cada fármaco em particular, uma vez que, a sua metabolização no organismo humano e a sua correlação com outros fármacos é bastante específica.¹⁰

Tabela IV: Doseamento de Fármacos¹¹

Nome	Utilidade Clínica	Princípio de ensaio
Carbamazepina	Usada no tratamento de epilepsia e convulsões	Imunoenzimático Homogéneo
Hidantina ou Fenitoína	Droga anti-epilética usada para tratar vários tipos de convulsões	Imunoenzimático Homogéneo
Fenobarbital	Utilizada em todo o tipo de convulsões exceto as epiléticas. Esta droga reduz a transmissão sináptica e, conseqüentemente, diminui a excitabilidade de toda a célula nervosa	Imunoenzimático Homogéneo
Ácido valpróico	Anti-epilético que circula ligado às proteínas, competindo com a Hidantina pelos locais de ligação	Imunoenzimático Homogéneo
Digoxina	Droga utilizada no tratamento de problemas cardíacos, como arritmias e insuficiência cardíaca.	Imuno-turbidimétrico
Teofilina	Utilizada na asma, doença pulmonar obstrutiva e apneia do recém-nascido.	Imunoenzimático Homogéneo

7.4.2 Marcadores Tumorais

Os Marcadores tumorais são substâncias produzidas pelas células neoplásicas, podendo ser detetadas e doseadas no próprio tumor, no sangue ou em outros líquidos biológicos.

A pesquisa destas moléculas para a deteção de patologias neoplásicas tem aumentado, de forma alternativa à utilização de técnicas de diagnóstico invasivo. Contudo de uma maneira

geral, os marcadores tumorais são poucos sensíveis e pouco específicos, devendo ser usados para avaliar a eficácia do tratamento e a evolução do tumor, detetando precocemente recidivas ou metástases tardias, e não como forma de diagnóstico. Assim, após a detecção de positividade para um doente, o clínico poderá acompanhar a progressão ou remissão através do doseamento destas moléculas.

Um marcador ideal deveria possuir uma elevada especificidade, ser indetetável em doenças benignas e em indivíduos saudáveis, ter elevada sensibilidade, ser detetável num estágio precoce da doença e/ou recidiva ser específico para determinado órgão e correlacionar-se com o estágio ou a massa tumoral, com a resposta terapêutica e com o prognóstico da doença.^{12,13}

Os marcadores tumorais têm a seguinte classificação:

1. Antígenos Tumorais – Anticorpos monoclonais;
2. Antígenos Oncofetais – que existem na vida fetal mas desaparecem depois, total ou parcialmente;
3. Hormonas – de produção habitual do epitélio sede de tumor, ou como produção anómala;
4. Enzimas – resultantes da atividade enzimática intensa e alterada do tecido tumoral;
5. Outros produtos – da atividade metabólica das células tumorais;
6. Biomoleculares e genéticos.

Os marcadores tumorais doseados no SPC (Tabela V) são pedidos essencialmente pelo hospital de dia.

Tabela V: Descrição dos Marcadores Tumorais.

NOME	DESCRIÇÃO	PATOLOGIAS ASSOCIADAS	
		BENIGNAS	MALIGNAS
CEA (Carcinogenic Embryonic Antigen)	Glicoproteína sintetizada na mucosa intestinal do embrião e do feto, dificilmente detetável no soro de adultos normais. Fumadores apresentam o valor de CEA cerca de 20% aumentado	Doenças inflamatórias do tubo digestivo; Insuficiência renal, cirrose, doenças pulmonares	Carcinoma do cólon, pulmão, fígado, mama
CA (Cancer Antigen) 15.3	Glicoproteína sintetizada no saco vitelino e fígado fetal. (Marcador ideal no estudo da eficácia da terapêutica e deteção precoce de metástases)	Doenças benignas da mama ou do ovário, hepatite e cirrose	Carcinoma da mama
CA 125	Glicoproteína sintetizada na membrana de variados carcinomas, principalmente por células tumorais do ovário	Endometriose, Pancreatite aguda e crónica, cirroses e hepatite crónica, tumores benignos e quistos do ovário	Carcinoma do cólon, mama, pulmão, ová
CA 19.9	Glicolípido sintetizado ao nível do epitélio do tracto gastrointestinal do feto	Hepatites virais, cirroses, pancreatite, insuficiência renal	Carcinomas digestivos (cólon, reto, pâncreas e fígado)
CA 72.4	Polipeptídeo geralmente utilizado em associação com CEA. É o marcador mais específico para o cancro gástrico		Carcinoma do ovário, cólon, pâncreas, pulmão
ALFAFETOPROTEÍNA	Glicoproteína sintetizada no saco vitelino, fígado e trato gastrointestinal fetal e pode ser encontrado em altas concentrações no soro materno	Hepatite e cirrose	Carcinoma hepático ou tumores germinativos
CYFRA 21-I	Fragmento da citoqueratina 19 sintetizada em vários tecidos, principalmente os pulmões	Doenças hepáticas benignas	Carcinoma pulmonar de células não pequenas
NSE (Neurolase Específica)	Dímero da enzima enolase cuja síntese tem local nos neurónios, eritrócitos e plaquetas	Doenças pulmonares, Insuficiência renal	Carcinoma pulmonar de células pequenas, carcinoma medular da tiróide, feocromocitoma
PSA (Prostate Specific Antigen) TOTAL	Glicoproteína sintetizada pelas células glandulares da próstata.	Hipertrofia benigna da próstata, prostatite aguda	Carcinoma da próstata
PSA LIVRE	Tem papel importante na distinção de doença maligna e benigna. No caso de condição benigna há maior concentração de PSA livre. Relação PSA livre/PSA >25%, o risco de cancro é baixo; se for inferior a 15% o risco é muito significativo.		

7.4.3 Função Pancreática

O pâncreas é uma glândula simultaneamente endócrina e exócrina.

A componente endócrina é constituída pelos ilhéus pancreáticos ou de Langerhans e produz hormonas que entram no sistema circulatório. Cada ilhéu é composto essencialmente por células alfa secretoras de glucagon e por células beta secretoras de insulina, hormonas estas que regulam a glicémia. Os ilhéus de Langerhans são enervados por nervos de ambos os compartimentos nervosos autónomos e cada ilhéu é rodeado por uma rede capilar bem desenvolvida.¹⁵

A componente exócrina é formada por ácinos que produzem o suco pancreático e por um sistema de canais que transporta o suco pancreático até ao intestino delgado. Esta porção desempenha funções importantes na digestão dos componentes dos alimentos, (hidratos de carbono, lípidos e proteínas) através da secreção das enzimas amilase, lipase e tripsina.¹⁵

Existem várias disfunções exócrinas que alteram a frequência e/ou o nível de secreção das enzimas e a sua concentração sérica das quais se podem destacar a pancreatite aguda e crónica e os carcinomas do pâncreas. Nestas situações a amilase e a lipase são as enzimas a quantificar.

Amilase

A Amilase (AMY) é uma das enzimas da classe das hidrolases mais estáveis do organismo. Catalisa o metabolismo dos hidratos de carbono provenientes da dieta, nomeadamente o amido e o glicogénio.

A atividade desta enzima no sangue é fisiologicamente baixa e constante, aumentando a sua concentração na pancreatite aguda ou na inflamação das glândulas salivares. Tem uma elevada importância no diagnóstico e seguimento da pancreatite aguda, uma vez que, a sua concentração aumenta rapidamente logo após os primeiros sintomas, mas também desce rapidamente devido à sua excreção a nível renal. Quando comparada com a amilase sérica, a amilase urinária atinge concentrações superiores e persiste por períodos mais prolongados. A especificidade clínica para o diagnóstico da pancreatite aguda é baixa, tendo em conta que podem ser observadas aumentos da sua concentração noutras patologias, como patologias do trato biliar (colecistite), obstrução intestinal, úlcera péptica entre outras.^{16,17}

Lipase

A Lipase é uma enzima importante na digestão dos lípidos e é segregada pelo pâncreas. É uma molécula pequena, filtrada através do glomérulo e totalmente reabsorvida pelos túbulos renais, onde em situações normais não é detetada na urina.

A Lipase é utilizada no diagnóstico de pancreatites agudas, mas a sua concentração não é proporcional à gravidade da pancreatite. Nas situações de pancreatite aguda a lipase tem um aumento semelhante ao da AMY, no entanto a sua diminuição após o pico sérico é mais lenta, mantendo-se elevada por mais tempo. A lipase aumenta em casos de hiperamilasemia de origem pancreática, mas mantém-se normal se o aumento da AMY não for de causas pancreáticas, tornando-se assim mais específica que a amilase para patologias pancreáticas.^{16,17}

7.4.4 Avaliação do Equilíbrio Hidro-electrolítico

É essencial para qualquer organismo manter o volume normal e a sua composição a nível dos eletrólitos nos mais diversos fluidos corporais. O ionograma é a avaliação da concentração dos principais eletrólitos encontrados no organismo (sódio, potássio e cloreto). Estes eletrólitos desempenham um papel fundamental no equilíbrio da distribuição dos volumes de água nos vários compartimentos corporais e na manutenção da pressão osmótica (intracelular e extracelular), na manutenção do pH, na regulação da função muscular e cardíaca como cofatores de enzimas e nas reações de oxidação redução. Alterações a nível do ionograma pode ser causa ou consequência de uma grande variedade de distúrbios, daí a sua avaliação ser bastante importante.¹⁸

Sódio

O sódio (Na^+) é o catião mais abundante no espaço extracelular e é fundamental na manutenção do equilíbrio osmótico e na regulação do volume do fluido corporal.

A concentração do sódio é controlada pelos rins, pela secreção de aldosterona e pela secreção da hormona anti-diurética (ADH). Diariamente o Na^+ é consumido na dieta, sendo absorvido pelo sistema gastrointestinal e reabsorvido após filtração glomerular ou eliminado na urina pelo sistema renal, através da manutenção da entrada e saída passiva de água. Quando há saída de sódio há também saída de água no organismo, havendo alterações de volume de água nos compartimentos extracelulares. Alterações nestes processos originam uma desregulação do equilíbrio hidro-eletrolítico, alterações na osmolaridade e dos níveis séricos de Na^+ provocando situações de hiponatrémia e hipernatrémia. Alterações da concentração

deste catião resultam de várias condições clínicas, como é o caso da perda excessiva de fluídos (vômitos, diarreia, insolação), terapia com diuréticos, diabetes mellitus, disfunção da ADH, entre outros.^{18,19}

Potássio

O Potássio (K^+) é o principal catião intracelular e tem uma ação fundamental na condução do impulso elétrico na contractilidade muscular e cardíaca, sendo indispensável na manutenção da pressão osmótica celular. A nível renal, o K^+ é filtrado no glomérulo, sendo reabsorvido, quase na sua totalidade nos túbulos proximais. Posteriormente, sob o efeito da aldosterona, dá-se a troca com o ião Na^+ e o K^+ é secretado na urina.

A quantificação do K^+ é fundamental na clínica, uma vez que, alterações nas suas concentrações conduzem a consequências graves para os tecidos excitatórios controlados pelo potencial de membrana, podendo ser letal. Situações de hipocaliémia e hipercaliémia devem ser controladas de forma a evitar situações de alcalose e acidose respetivamente. As hipercaliémias são geralmente provocadas por insuficiência renal, reposição excessiva de K^+ e por efeito de medicamentos diuréticos que inibem a eliminação deste ião. As hipocaliémias são causadas por perdas gastrointestinais, insuficiência dietética e toma de medicamentos.^{18,20}

Cloreto

O cloreto (Cl^-) é o anião extracelular mais representativo. Desta forma juntamente com o Na^+ , o Cl^- está envolvido na manutenção da distribuição da água, na pressão osmótica e equilíbrio anião-catião do espaço extracelular. Os iões de Cl^- são quase na sua totalidade absorvidos no espaço gastrointestinal, filtrados a partir do plasma no glomérulo, e passivamente reabsorvidos, juntamente com o Na^+ , nos túbulos proximais. A cloremia aumenta e diminui proporcionalmente à natremia, sendo as causas das alterações da cloremia e natremia semelhantes.

Os valores séricos de cloreto podem encontrar-se aumentados em casos de desidratação, insuficiência renal aguda, alimentação com excesso de sal, acidose metabólica associada a diarreia prolongada e perda de bicarbonato de sódio. Pode ocorrer também aumento do cloreto devido a situações de pielonefrites crónicas, doença de Addison, intoxicação por Bromídeo e acidoses metabólicas.^{18,20}

7.4.5 Avaliação do metabolismo dos hidratos de carbono

Diabetes Mellitus

A Diabetes define-se como “alterações da glicemia em jejum e intolerância à glicose” (American Diabetes Association) em estádios precoces associados ao risco cardiovascular, pelo que a sua deteção é importantíssima para melhorar o seu prognóstico.

Segundo a norma da Direção Geral da Saúde a *Diabetes Mellitus* (DM) é classificada em quatro tipos clínicos, etiologicamente distintos de diabetes:

Diabetes Mellitus tipo I

Representa 5% a 10% dos indivíduos com diabetes e surge geralmente na infância, associada a sintomas de poliúria, polidipsia e perda de peso. Este distúrbio resulta da destruição das células B do pâncreas, com insulinopenia a ser indispensável para assegurar a sobrevivência e prevenir a cetoacidose. Na maioria dos casos a destruição das células B do pâncreas, dá-se por um mecanismo autoimune pelo que se passa a denominar DM tipo I autoimune. No entanto, em alguns casos, não se consegue documentar a existência do processo auto imune, passando a ser denominado DM tipo idiopático.²¹

Diabetes Mellitus tipo II

É a forma mais frequente de diabetes, representada por cerca de 90% dos indivíduos. A sintomatologia é mínima, surge normalmente após os 40 anos de idade e está muitas vezes associado a quadros de obesidade. A concentração de insulina pode estar normal ou até aumentada e a hiperglicemia surge como consequência de uma resistência generalizada das células à entrada da glicose. Os diabéticos tipo II podem necessitar de dieta específica, agentes orais hipoglicemiantes ou mesmo insulina para controlo da hiperglicemia.²¹

Diabetes gestacional

A diabetes gestacional corresponde a qualquer grau de intolerância à glicose documentada, pela primeira vez, durante a gravidez. Estas grávidas quando diagnosticadas têm de ser monitorizadas durante toda a gravidez bem como no pós-parto, já que há um risco aumentado de virem a desenvolver DM tipo II.²¹

Outros tipos específicos de diabetes

Correspondem a situações em que a diabetes é consequência de um processo etiopatogénico identificado, como, por exemplo, doença pancreática.²¹

Os principais testes laboratoriais, utilizados no diagnóstico e monitorização da DM são a glicémia em jejum, a prova de tolerância à glicose (PTGO), e a hemoglobina glicada (HbA1c).

Glicémia em jejum e PTGO

A glicose é o principal hidrato de carbono presente no sangue periférico. A sua oxidação é a maior fonte de energia celular do organismo, de onde se destacam as células do sistema nervoso como as grandes consumidoras. A glicose é proveniente da dieta e é convertida em glicogénio, que é posteriormente armazenado no fígado ou então em ácidos gordos, para armazenamento em tecido adiposo.²² A avaliação da glicémia é sempre realizada após um jejum de 8 a 12 horas e juntamente com a PTGO funcionam como critérios no diagnóstico da DM sendo consideradas provas essenciais no que se refere ao seguimento da grávida com esta patologia. Segundo a DGS, para que um indivíduo seja diagnosticado com DM, tem que se enquadrar num dos critérios apresentados na seguinte tabela.²¹

Tabela VI: Critérios no diagnóstico da diabetes, segundo a DGS

Diabetes	<ul style="list-style-type: none">• Glicémia em jejum ≥ 126mg/dl• Sintomas clássicos + glicémia ocasional ≥ 200 mg/dl• Glicémia ≥ 200 mg/dl aos 120 minutos, na PTGO¹ com 75g de glicose• HbA1c $\geq 6,5\%$
Hiperglicémia intermédia/Risco aumentado para diabetes	Anomalia da Glicémia em jejum: glicémia em ≥ 110 e <126 mg/dl Tolerância Diminuída à Glicose: glicémia aos 120 minutos na PTGO ≥ 140 e <200 mg/dl
Diabetes gestacional	Glicémia em jejum, realizada na 1 ^a consulta de gravidez, ≥ 92 mg/dL e <126 mg/dL Se a glicémia em jejum <92 mg/ dl, realiza-se PTGO com 75g de glicose, às 24-28 semanas de gestação. É critério para diagnóstico de diabetes gestacional, a confirmação de um ou mais valores: <ul style="list-style-type: none">• Aos 0 minutos, glicémia ≥ 92 mg/dL• Aos 60 minutos, glicémia ≥ 180 mg/dL• Aos 120 minutos, glicémia ≥ 153 mg/dL

HbA1c

Durante a vida média de um glóbulo vermelho (120 dias), a hemoglobina fixa a glicose de forma irreversível. Esta glicação não enzimática realiza-se relativamente aos períodos cumulativos de hiperglicemia. Assim, as hemoglobinas glicosiladas são tanto mais elevadas quanto mais frequentes tenham sido os períodos de hiperglicemia durante os últimos meses.

No adulto, a hemoglobina A1 constitui 98% da hemoglobina. Entre as suas frações glicosiladas (HbA1a, HbA1be, HbA1c), só HbA1c é estável e está bem correlacionada com o equilíbrio glicídico. Assim, é esta fração que deve ser avaliada aquando do estudo da diabetes.²³

O valor da HbA1c é expresso em percentagem em relação ao total da hemoglobina no organismo. Um valor de 6,5% ou inferior indica que a DM está controlada, contudo é necessário ter em conta determinadas patologias que alteram as características dos eritrócitos nomeadamente as anemias e talassémias que induzem a uma renovação mais rápida dos eritrócitos e por conseguinte diminuem os valores da HbA1c.

7.4.6 Avaliação Músculo e função cardíaca

O enfarte agudo do miocárdio (EAM) é definido como uma necrose do músculo cardíaco, provocada por isquémia prolongada. Sendo um episódio que pode ser letal, e devido à falta de um marcador ideal e específico da lesão cardíaca, tem sido recomendado uma combinação de marcadores para o diagnóstico e monitorização do tratamento de doentes com dor torácica e suspeita de EAM, como a mioglobina, troponina I, peptídeo natriurético cerebral (BNP), creatina cinase (CK) e Fração MB da Creatina Cinase (CKMB).

Mioglobina

A mioglobina é uma hemoproteína presente no citoplasma esquelético e cardíaco, responsável pelo transporte de oxigénio para as células, permitindo a acumulação local do mesmo. Juntamente com outros marcadores cardíacos, desempenha um papel importante no diagnóstico de EAM, uma vez que, é um marcador precoce, elevando os seus valores 1h a 2h após o início da dor torácica e normaliza 12h a 24h depois, sendo que um resultado negativo exclui a lesão muscular. A mioglobina não é específica da lesão do miocárdio podendo estar alterada noutras situações tais como: distrofias musculares, rabdomiólise ou insuficiência renal crónica.²⁷

Troponina I

A troponina I é uma proteína estrutural localizada no músculo-esquelético e cardíaco que regula a interação entre a actina e miosina. É constituída por três subunidades: T, que (liga o complexo da troponina e tropomiosina), I (que previne a contração muscular na ausência de Ca^{2+}), e C, (que liga o Ca^{2+}). Isoformas de Troponina C são expressas nos músculos esqueléticos e miocárdio, em contraste com as troponinas I e T que estão presentes apenas nas células do miocárdio.

Normalmente a troponina não é detetada, pelo que o aumento dos seus níveis indica lesão miocárdica. Os níveis aumentam 4 a 10h após o início dos sintomas, e atingem o pico em 12 a 48h, permanecendo elevados na corrente sanguínea por 4 a 10 dias, sendo considerados biomarcadores tardios.^{25,26}

Peptídeo Natriurético Cerebral (BNP)

O Peptídeo Natriurético Cerebral (BNP) é uma neuro hormona cardíaca sintetizada pelos ventrículos cardíacos. Níveis elevados desta neuro hormona ocorre perante situações de hipoxia, atividade física intensa, isquemia e aumento da resistência vascular cardíaca e da dilatação dos ventrículos.^{24,25}

CK e CK-MB

A creatina cinase, (CK) catalisa no músculo a transferência de um grupo fosfato da creatina-fosfato para o ADP, o que permite a reposição das reservas de ATP.

É muito abundante no músculo-esquelético, no miocárdio e no cérebro. A molécula de CK é um dímero cujas subunidades M (músculo), B (cérebro, ou brain) estão na origem de três isoenzimas: MM (músculo esquelético), BB (cérebro) e MB (miocárdio). Por se encontrar elevada no tecido muscular, a CK é considerada um marcador sensível nas lesões do EAM e nas distrofias musculares. Os níveis séricos de CK são influenciados pela massa muscular de cada indivíduo, dependendo do sexo, idade, raça e condição física. A utilização da CK total conjuntamente com a CK-MB no diagnóstico de enfarte do miocárdio é a aplicação mais importante da determinação da CK em química clínica. A CK-MB encontra-se principalmente no músculo do miocárdio, daí ser de extrema importância o seu doseamento quando se suspeita de EAM, tendo esta uma especificidade superior à da CK. O nível sérico da CK-MB começa a aumentar 4 a 6h após o início da sintomatologia do EAM atingindo o pico entre as 12 e as 24h. Os valores regressam à normalidade no espaço de 2 a 3 dias.^{25,28}

7.4.7 Metabolismo ósseo

Os ossos constituem um tecido metabolicamente ativo que sofre um processo contínuo de renovação e remodelação. Esta atividade é consequência, na sua maior parte, da atividade de dois tipos celulares principais, característicos do tecido ósseo: os osteoblastos e os osteoclastos. O tecido ósseo exerce duas funções primordiais, uma mecânica, relacionada com a proteção de órgãos nobres e apoio e sustentação contra a gravidade, e uma metabólica, bastante complexa e não menos importante na qual o tecido ósseo é a maior fonte de sais minerais e participa ativamente no equilíbrio.¹⁵

Cálcio

O íon cálcio (Ca^{2+}) é de extrema importância no organismo desempenhando funções em vários mecanismos fisiológicos, nomeadamente na condução neuromuscular na excitabilidade do músculo-esquelético e cardíaco, impulsos nervosos, contractilidade das células, conservação da integridade da membrana celular, nomeadamente nas trocas entre o Na^+ e K^+ , atividade de várias enzimas e na coagulação sanguínea.

O Ca^{2+} no soro existe sob três formas: cálcio ionizado ou livre (ativo) correspondendo a 50% do Ca^{2+} total, complexado a aniões (fosfato e citrato) cerca de 5% e os restantes 45% estão ligados a proteínas, principalmente a albumina.

A paratormona (PTH), o calcitriol e a calcitonina regulam os níveis séricos de Ca^{2+} no organismo. Os osteoclastos degradam o tecido ósseo e libertam-no na corrente sanguínea e os osteoblastos removem-no do sangue para formar o tecido ósseo. A PTH regula os níveis de cálcio estimulando a atividade dos osteoclastos, originando um aumento da libertação deste no sangue. Nos rins, a PTH aumenta também a reabsorção e promove a formação de vitamina D ativa, que aumenta a absorção de Ca^{2+} no intestino delgado. A calcitonina desempenha um papel menor na manutenção do equilíbrio de Ca^{2+} , inibindo a atividade dos osteoclastos.

A hipercalcémia pode ser devida a um aumento da reabsorção óssea, aumento da absorção gastrointestinal, diminuição da excreção renal, aumentos da PTH ou Vitamina D, enquanto a hipocalcémia deve-se a um défice ou incapacidade da PTH ou da vitamina D em casos de hipoparatiroidismos, nefrose ou pancreatite.^{15,22,29}

Fosfato

Cerca de 80 a 90% do fósforo ingerido é absorvido de forma ativa no intestino, e é encontrado no soro nos desequilíbrios hormonais, patologias ósseas e patologias renais.^{22,29}

Magnésio

O íon Magnésio (Mg^{2+}) é o quarto íon mais abundante no corpo, 50% está presente nos ossos associado ao Ca^{2+} e ao fosfato, o restante está ligado a proteínas e outros complexos moleculares. Este íon é essencial para o funcionamento de vários processos bioquímicos, atuando como cofator de muitas enzimas, na preservação da estrutura macromolecular do DNA, RNA e ribossomas.

A homeostase do Mg^{2+} é principalmente regulada pela reabsorção tubular renal, que o conserva quando a ingestão é baixa e o excreta quando esta é alta. A hipermagnesémia pode ter origem em distúrbios renais crônicos, desidratação, doença de Addison entre outros, podendo causar insuficiência respiratória, alterações no mecanismo de condução do coração, provocando uma paragem cardíaca.

A hipomagnesémia pode estar relacionada com deficiências na reabsorção tubular com alteração da homeostase do Ca^{2+} , fosfato e K^+ , pancreatite aguda, terapêutica com diuréticos podendo provocar convulsões e arritmias cardíacas.^{22,29}

7.4.8 Cinética do ferro

Ferro

O ferro que circula no sangue resulta de um equilíbrio entre as reservas do organismo (essencialmente hepático), a absorção alimentar e a hemólise fisiológica. No sangue o ferro é transportado pela transferrina, até aos locais de armazenamento (20%) e à medula óssea (80%).

O ferro está muito elevado nas hemocromatoses primárias, ligadas a um excesso de absorção intestinal por deficiência do sistema de regulação fisiológica ou secundárias devido a quantidades excessivas de ferro (alcoolismo, transfusões repetidas). Pode estar diminuído em situações de carência de fornecimento, de absorção (gastrectomias extensas) ou devido ao aumento das necessidades (gravidez, amamentação).^{15,30}

Ferritina

A ferritina é a proteína de armazenamento do ferro e encontra-se no fígado e nos macrófagos. Embora esta proteína seja principalmente intracelular e só esteja presente no plasma em quantidades muito baixas, existe uma correlação entre a importância das reservas de ferro e ferritina sérica. O seu doseamento permite avaliar a quantidade de ferro armazenado, sendo que, níveis elevados de ferritina são encontrados em situações de necrose celular, bloqueio da eritropoiese, inflamações ou por aumento da síntese por parte de algum tecido tumoral.³¹

Tranferrina

O ferro é transportado por uma glicoproteína migrante na electroforese com as beta-I-globulinas: a transferrina. Esta molécula capta o ferro das reservas (fígado, sistema dos macrófagos mononucleares) e liberta-o nos eritroblastos. A sua síntese pelos hepatócitos é inversamente proporcional à quantidade de ferro intracelular. Assim uma diminuição das reservas de ferro hepatocitárias leva a um aumento da transferrina, enquanto uma sobrecarga de ferro a diminui. A determinação dos níveis plasmáticos de transferrina é útil no diagnóstico diferencial e monitorização da terapêutica de anemias.³¹

7.4.9 Avaliação da fertilidade

Hormona Folículo Estimulante (FSH)

A Hormona Folículo Estimulante (FSH) é uma hormona polipeptídica segregada pelas células gonadotróficas da hipófise. Na mulher, a FSH assegura a maturação folicular e provoca a secreção dos estrogénios. Valores elevados de FSH encontram-se em mulheres que atingiram já a menopausa. No homem, contribui para a espermatogénese pela sua ação nos tubos seminíferos. É utilizada para monitorizar tratamentos da hipófise e distúrbios das gónadas.^{31,32}

Hormona Luteinizante (LH)

A Hormona Luteinizante (LH), sintetizada e libertada pela hipófise, induz a ovulação e mantém a secreção do estradiol e da progesterona pelo corpo amarelo durante a fase luteínica. No homem a LH atua sobre as células de Leydig que sintetizam a testosterona. A sua quantificação auxilia no diagnóstico da infertilidade no caso da mulher e de anomalias testiculares, no caso do homem.^{31,32}

Progesterona

O doseamento da progesterona traduz a secreção do corpo amarelo. A sua taxa eleva-se na segunda metade do ciclo. Desempenha um papel importante na preparação e manutenção da gravidez, sendo responsável pela alteração da espessura do endométrio durante o ciclo menstrual. O doseamento da progesterona é utilizado para a deteção da ovulação e alteração do ciclo menstrual.^{31,32}

Estradiol

O estradiol é uma hormona esteroide segregada principalmente pelos folículos dos ovários sob regulação das hormonas FSH e LH. Está relacionada com o desenvolvimento e

função dos órgãos sexuais. A sua principal função é estimular o crescimento dos órgãos sexuais e o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários femininos.^{31,32}

Prolactina

A prolactina é uma hormona secretada e libertada pela hipófise sob regulação do hipotálamo. A prolactina tem como função principal desencadear e manter a lactação. A utilidade do seu doseamento reside na investigação da amenorreia, galactorreia e desordens hipotalâmico-pituitárias. Uma diminuição do nível sérico de prolactina pode ser indicativa de lesão na hipófise.^{31,32}

Testosterona

A testosterona é uma hormona esteroide sintetizada principalmente nas células de intersticiais de Leydig nos testículos, no homem, e pelas glândulas adrenais e ovários, na mulher. No homem, valores baixos desta hormona podem estar relacionados com estados hipogonádicos e cirrose hepática, enquanto na mulher, valores aumentados estão associados a ovários poliquísticos, tumores dos ovários e tumores adrenais.^{31,32}

7.4.10 Função hepática

O fígado é um dos órgãos mais importantes do nosso organismo devido à complexidade de funções que consegue exercer. É constituído basicamente por três sistemas: o hepatócito, que envolve a síntese e degradação de proteínas, o sistema biliar responsável pelo metabolismo da bilirrubina e dos sais biliares e o sistema reticuloendotelial relacionado com a produção de metabolitos do grupo heme e da globina.^{33,34}

A avaliação da função hepática é feita através dos seguintes parâmetros:

Alanina Aminotransferase (ALT/GPT)

A alanina aminotransferase (ALT) também designada por glutamato piruvato transaminase, encontra-se presente quase exclusivamente no fígado e unicamente no citoplasma das células parenquimatosas.

Os níveis de atividade sérica desta enzima são frequentemente usados como um biomarcador de lesão hepática causada por toxicidade de drogas, infeção, álcool e esteatose.

A atividade aumentada da ALT no plasma é mais específica para o fígado, persistindo por mais tempo e raramente se encontra aumentada em patologias que não envolvam o parênquima hepático. Contudo o valor do seu diagnóstico está sempre associado à avaliação conjunta com as restantes enzimas.^{16,33,34}

Aspartato aminotransferase (AST/GOT)

O aspartato aminotransferase também designada por glutamato-oxaloacetato transaminase (AST/GOT) é uma enzima presente no fígado, coração e músculo-esquelético, distribuída amplamente pelo citoplasma e mitocôndrias encontrando-se aumentada em lesões músculo esqueléticas, miopatias e lesões hepáticas.

Na maioria dos casos das patologias hepatocelulares agudas como as hepatites a AST encontra-se primeiramente elevada em relação à ALT, uma vez que, a sua atividade nos hepatócitos é superior, contudo progressivamente a ALT manter-se-á mais elevada devido ao tempo de semi vida ser superior.^{16,33,34}

Gama-GlutamilTransferase (GGT)

A Gama-GlutamilTransferase (GGT) é uma enzima encontrada predominantemente ligada à membrana nos rins, pâncreas, fígado, baço e intestino delgado, onde tem uma atividade enzimática significativa. A sua determinação no soro, tem aplicação clínica no diagnóstico de doenças hepáticas e do sistema biliar. A GGT é muitas vezes o único parâmetro onde se observa um aumento dos valores em doenças hepatobiliares. Trata-se de uma enzima que é mais sensível que a fosfatase alcalina na deteção de icterícia obstrutiva, colangite e colestite, e o seu aumento ocorre mais cedo e mantém-se durante mais tempo. Encontra-se particularmente elevada em casos de alcoolismo, a determinação sérica é bastante útil na monitorização do consumo do álcool, e em casos de elevadas concentrações medicamentosas.^{16,33,34}

Fosfatase Alcalina

A Fosfatase alcalina (ALP) está presente na maior parte dos órgãos. O fígado, os ossos, o intestino, os rins, os pulmões, os glóbulos vermelhos e a placenta contêm-na, contudo as isoenzimas de origem hepática e óssea representam 80% da atividade fosfatídica circulante. Assim, doseiam-se as ALP para reconhecer as patologias hepáticas ou ósseas.

A ALP é um excelente indicador de formação óssea, devido à estimulação dos osteoblastos que sintetizam esta enzima, auxiliando no diagnóstico de determinadas doenças como são o caso da doença de Paget, raquitismo, osteomalacia entre outros.

Esta enzima encontra-se elevada nas crianças e adolescentes, devido ao crescimento, nas mulheres pós-menopausa, devido à prevalência de osteoporose e em grávidas devido à sua libertação pela placenta.¹⁶

Albumina

A albumina é uma proteína sintetizada exclusivamente pelo fígado, essencial na regulação da pressão oncótica do plasma e no transporte de determinadas substâncias endógenas como é o caso dos iões, hormonas, bilirrubina, cálcio, e de substâncias exógenas no caso dos Fármacos.

As concentrações séricas de albumina encontram-se alteradas nos casos de síndrome nefrótica, desnutrição, perdas gastrointestinais, e em determinadas patologias hepáticas como a cirrose a hepatite alcoólica e autoimune.³⁵

Bilirrubinas

A bilirrubina é proveniente da destruição da hemoglobina no citoplasma dos macrófagos, sendo libertada no plasma na forma livre, glicuroconjugada no fígado e depois excretada nas vias biliares, passando posteriormente para o intestino e é transformada em urobilinogénio. A bilirrubina conjugada ou direta é integralmente eliminada pela bilis e a sua taxa sérica é nula ou mínima.

Hiperbilirrubinémia diz-se não conjugada quando é constituída por 80% ou mais de bilirrubina “livre”. Esta é devida quer a uma produção excessiva de bilirrubina quer a um defeito da glicuroconjugação. A hiperprodução de bilirrubina pode ser o resultado de uma destruição de glóbulos vermelhos ou dos seus precursores na medula óssea (eritropoiese ineficaz). No caso de defeito de glicuroconjugação temos a doença de Gilbert, doença de transmissão autossómica dominante, ligada a um défice em glicuronil-transferase. Reduz-se por uma icterícia crónica moderada isolada completamente benigna.

As hiperbilirrubinémias conjugadas, ou seja, quando constituída em mais de 50% por bilirrubina conjugada (direta), têm como sinal importante a presença de bilirrubina na urina. À exceção das afeções constitucionais raras devidas a um défice funcional da excreção da bilirrubina (Dubin Johnson, Rotor), estas hiperbilirrubinemias são sempre devidas a uma colestase

- por obstrução biliar extra hepática (litíase, cancro do pâncreas ou das vias biliares, colangites esclerosantes);

- ou intra-hepáticas (hepatite viral ou alcoólica, cirrose biliar primitiva, colestase medicamentosa ou pós operatória).^{11,36}

7.4.11 Avaliação da Função Tiroideia

A tiróide é composta por dois lobos ligados entre si por uma estreita ponte de tecido tiroideu, designada por istmo, considerada uma das maiores glândulas endócrinas, com o peso aproximado de 20 gramas. É profusamente vascularizada e tem um aspeto mais avermelhado do que os tecidos próximos.

A hormona libertadora da tirotropina (TRH) é sintetizada no hipotálamo e estimula a libertação da hormona estimuladora da tiroide (TSH) pela hipófise. A TSH estimula diretamente a glândula da tiroide a produzir tiroxina (T4) e triiodatironina (T3), a partir de uma base de iodo nas células foliculares. A T3 e T4 vão inibir a libertação de TRH direta e indiretamente e conseqüentemente, a secreção das hormonas tiroideias diminui. Alterações na síntese ou regulação destas hormonas provocam patologias como o hipotiroidismo ou hipertiroidismo.¹⁵

Hormona Estimuladora da Tiróide (TSH)

A Hormona Estimuladora da Tiróide (TSH) é uma hormona pituitária que desempenha um papel fundamental na manutenção dos níveis circulatórios normais de T3 e de T4. A elevação da TSH é o sinal mais sensível de hipotiroidismo primário periférico enquanto a T4 livre está diminuída. Durante o tratamento, a normalização da TSH circulante permite assegurar que a dose substitutiva é suficiente. O hipertiroidismo manifesta-se por uma taxa permanentemente baixa da TSH e de uma elevação das hormonas tiroideias T3 e T4. Somente quando a TSH está no limite inferior da normalidade, em contraste com uma impressão clínica de hipertiroidismo, é que se deve mandar fazer um teste à TRH. A ausência de elevação da TSH após estimulação pela TRH permite então confirmar a suspeita clínica de hipertiroidismo.^{31,32}

Tiroxina (T4 TOTAL) e Tiroxina Fração Livre (FT4)

A tiroxina (T4 Total) que representa 80% da produção hormonal da tiróide, circula no plasma ligada a proteínas fixadoras, sendo as principais a *thyroxine binding globulin* (globulina que fixa a tiroxina) e a *thyroxine binding prealbumin* (pré albumina que fixa a tiroxina). A fração T4 livre, embora quantitativamente mais fraca (0,05% da T4) é a única ativa.

No hipertiroidismo a T4 livre está elevada, qualquer que seja a sua causa e a TSH está sempre diminuída. Quando excecionalmente a T4 livre e a TSH estão ambas aumentadas podemos estar perante casos como o adenoma hipofisário produtor de TSH.^{31,32}

Triiodotironina (T3 TOTAL) e Triiodotironina Fração Livre (FT3)

A Triiodotironina (T3 Total) é uma Hormona tiroideia sintetizada a partir da tiroglobulina. Os valores de T3 total dependem do estado da tiroide, da conservação periférica de T4 em T3 e da concentração de proteínas transportadoras de hormonas tiroideias. Na presença de valores elevados de T4 total ou livre, o doseamento de T3 ajuda a confirmar o diagnóstico de hipertiroidismo.

Como a maior percentagem de hormonas da tiroide se encontram ligadas a proteínas, as alterações dos níveis séricos de T3 e T4 totais podem não estar diretamente ligadas a patologias da tiróide, daí ser preferível o doseamento da T3 e T4 livres.^{31,32}

Anticorpos Anti tiroglobulina (aTG) Anticorpos Anti peroxidase (aTPO)

A pesquisa destes anticorpos é o método mais utilizado no diagnóstico de patologias auto imunes da tiroide. A doença auto imune da tiróide é o principal fator que sustenta o hipotiroidismo e o hipertiroidismo.^{31,32}

7.4.12 Função renal

O sistema renal, constitui um dos sistemas fundamentais para o controlo da homeostase do meio interno através do controlo hidro-eletrolítico e ácido base com consequente regulação da pressão arterial.

Os rins são órgãos endócrinos, essenciais na síntese de determinadas hormonas como a eritropoietina, renina, 1,25-di-hidroxi vitamina D3 entre outras, na neutralização e na eliminação de compostos tóxicos para o organismo. A maneira mais significativa pela qual o rim desempenha as suas funções é através da formação de urina e da regulação da sua densidade e concentração.¹⁵

Creatinina

A creatinina é um catabólito da creatina muscular eliminada exclusivamente pelo rim por filtração, não sendo nem secretada nem reabsorvida pelo túbulo.¹¹

A quantidade de creatinina excretada diariamente é proporcional à massa muscular do indivíduo, não sendo afetada pela dieta, idade, sexo ou exercício físico. É considerada um excelente parâmetro de avaliação renal, uma vez que, é excretada a uma velocidade quase constante e a sua produção não depende do metabolismo das proteínas.

Valores elevados de creatinina no plasma indicam uma diminuição da velocidade de filtração glomerular ou uma diminuição do volume de urina produzida e excretada, independentemente de ser uma causa pré-renal, renal ou pós-renal.^{11,37}

A concentração plasmática de creatinina é inversamente proporcional à taxa de filtração glomerular (TFG).

Clearance da creatinina

A creatinina sérica é muito útil para avaliar o grau de filtração glomerular, contudo devido à falta de sensibilidade, em caso de controlo de patologias que poderão evoluir para doença renal grave, a melhor determinação é o teste da clearance da creatinina.

A clearance consiste na velocidade de excreção urinária da creatinina durante 24h comparativamente com a concentração no plasma desse mesmo composto.

Valores elevados da creatinina a nível sérico e diminuídos a nível urinário refletidos numa diminuição da taxa de filtração glomerular, indicam que o rim poderá estar disfuncional quer por infeção, obstrução ou por outras patologias associadas.

A determinação da clearance da creatinina faz-se através da seguinte fórmula:

$$\text{TFG(ml/min)} = \frac{[\text{Creatinina urinária}] \text{ (mg/dL)} \times \text{Débito urinário (ml/min)}}{[\text{Creatinina plasmática}] \text{ (mg/dL)}}$$

Ureia

A ureia resulta do catabolismo das proteínas e aminoácidos, sendo a principal via de excreção do nitrogénio, é filtrada pelos rins e eliminada pela urina. Se a função renal está comprometida, a ureia permanece no sangue e o seu valor sérico aumenta, uma condição à qual se dá o nome de urémia ou hiperurémia. A concentração sanguínea de ureia varia para além da função renal, de acordo com a idade e a quantidade de proteínas ingeridas na alimentação.^{36,37}

Ácido úrico

O ácido úrico é o principal produto do catabolismo das purinas, que provêm da degradação de ácidos nucleicos. É filtrado pelos glomérulos, parcialmente reabsorvido nos túbulos proximais e secretado para a urina pelos túbulos distais.

O doseamento do ácido úrico é utilizado na avaliação de distúrbios hereditários do metabolismo das purinas, tratamentos de gota (doença na qual se depositam cristais de uratos nas articulações, surgindo dores associadas) e no diagnóstico de insuficiência renal.³⁷

Microalbuminúria / Proteinúria

A microalbuminúria consiste na presença de pequenas quantidades de albumina, inferiores à proteinúria detetável pelas tiras reativas (300mg/min) mas superiores às da proteinúria fisiológica (30mg/min). É um bom marcador de nefropatia inicial, particularmente nos diabéticos, patologia que provoca alterações progressivas a nível renal, com aumento da permeabilidade glomerular.

Os termos microalbuminúria e proteinúria são geralmente usados como sinónimos, porque a proteína mais abundante na urina em doentes renais costuma ser a albumina. A pesquisa destes parâmetros é feita em urinas de 24h, para se obterem resultados mais corretos sobre o estado renal, visto que é fundamental saber a quantidade de urina que os rins produzem num período de 24h.

Sumária de urina

A sumária da urina, ou urina tipo II, é uma análise de rotina que permite avaliar os aspetos físicos, (cor, turbidez, densidade), e os químicos (pH, proteínas, glicose, urobilinogénio, corpos cetónicos, eritrócitos, leucócitos, nitritos, bilirrubina), num jato intermédio de urina.

Este parâmetro fornece informações sobre uma eventual patologia renal ou do trato urinário, bem como de outras eventuais patologias como a diabetes ou doenças hepáticas.

Na urina tipo II inclui-se ainda a observação do sedimento urinário, que é obtido após a centrifugação da urina. Para se obter resultados fiáveis, a preparação deve ser percorrida em, pelo menos dez campos, fazendo depois a média do número de elementos observados em cada campo. Em termos qualitativos, só após percorrer a lâmina durante um certo tempo é que se podem obter resultados de fiabilidade satisfatória.

No sedimento são pesquisados eventuais leucócitos, eritrócitos, células epiteliais, cristais, cilindros e bactérias. A presença de elementos figurados na urina é comum desde que estejam presentes em baixas quantidades, não correspondendo a nenhuma situação patológica.

Durante o meu estágio analisei algumas urinas tipo II (Fig. III) com aspeto macroscópico diferente do que caracteriza habitualmente uma urina tipo II normal.



Figura III: Urinas Tipo II.

7.4.13 Metabolismo dos lípidos

As dislipidemias são distúrbios do metabolismo dos lípidos provocando uma alteração dos seus níveis na corrente sanguínea. As dislipidemias podem ser de vários tipos podendo manifestar-se por um aumento dos triglicéridos, por um aumento do colesterol, por uma combinação dos dois fatores anteriores (dislipidemia mista) e ainda por uma redução dos níveis de colesterol HDL (*Hight Density Lipoprotein*). A dislipidemia é um dos mais importantes fatores de risco da aterosclerose e a principal causa de morte nos países desenvolvidos incluindo Portugal. Este distúrbio representa um fator de risco cardiovascular, uma vez que a gordura acumulada nas paredes das artérias pode levar à obstrução parcial ou total do fluxo sanguíneo que chega ao coração e cérebro.

Colesterol total

O colesterol é o principal esteroide do organismo, sintetizado endogenamente pelo fígado e outros tecidos, sendo uma pequena parte derivada da dieta. A sua síntese é regulada pela concentração de colesterol intracelular, e pelas hormonas insulina e glucagon. É um importante constituinte das membranas celulares, mantendo a estrutura e a integridade das células, é um precursor na síntese hormonal e é das principais fontes de energia do organismo. Este pode encontrar-se na forma esterificada, combinado com ácidos gordos, ou na forma livre, cerca de $\frac{1}{4}$ do colesterol sérico circula na corrente sanguínea e linfática onde sofre esterificação e incorporação em HDL. As HDL circulam para o fígado onde o colesterol é depois incorporado em VLDL (*Very Low Density Lipoproteins*).^{31,38}

Colesterol HDL (*Hight Density Lipoproteins*)

As HDL, são lipoproteínas de elevada densidade, ricas em colesterol. São consideradas protetoras a nível cardiovascular e, por isso é importante o seu doseamento. Estas lipoproteínas desempenham a função de transporte reverso do colesterol dos tecidos até fígado, onde posteriormente é convertido em ácidos biliares. As HDL apresentam também

atividades anti-inflamatórias, anti-oxidantes e anti-coagulantes, que evitam o desenvolvimento da aterosclerose.^{31,38}

Colesterol LDL (*Low Density Lipoproteins*)

O colesterol LDL são lipoproteínas de baixa densidade, principais transportadoras de esteroides de colesterol do fígado para os tecidos periféricos. As LDL são aterogênicas, pois estão implicadas na formação das placas de ateroma e, conseqüentemente estão diretamente relacionados com a incidência de eventos coronários e mortalidade cardiovascular.^{31,38}

Este parâmetro é calculado segundo a fórmula de Friedwald, sendo válida apenas para valores de triglicérides até 400mg/dL:

$$\text{LDLcol} = [\text{CoTotal}] - [\text{CoHDL}] + \text{Triglicérides}/5, \text{ em mg/dl.}$$

Triglicéridos

Os triglicéridos são moléculas constituídas por três ácidos gordos ligados a um glicerol, ligadas às proteínas na forma de lipoproteínas e que representam uma grande reserva energética para o organismo devido à possibilidade de degradação dos ácidos gordos. Os triglicéridos são produtos de reserva do tecido adiposo e sua concentração sérica (trigliceridemia) está diretamente relacionada com a concentração sérica de quilomícrons e de VLDL (as lipoproteínas mais ricas em triglicéridos). Valores elevados de triglicéridos no soro estão relacionados com determinadas patologias como é o caso das doenças cardiovasculares, diabetes, doenças genéticas, como a hipertrigliceridemia familiar, em que os triglicérides chegam a atingir cerca de 10 vezes o seu valor normal, e que, por isso, devem ser monitorizadas frequentemente. Valores baixos encontram-se nas doenças hepáticas e na má nutrição.^{31,38}

7.5 A minha contribuição na validação do método da Troponina I Hipersensível

Sempre que se introduz um método novo de doseamento no laboratório de bioquímica do SPC CHL, é feito um estudo de validação do método.

Dependendo dos objetivos, os estudos de validação de métodos novos neste laboratório podem incluir estudos comparativo de amostras entre métodos diferentes (método novo versus método velho) e/ou o estudo da incerteza de medição (que avalia a precisão *interserie* para quantificar os erros sistemáticos e aleatórios que definem a incerteza de medição do método nesse laboratório).

Durante o estágio no laboratório de bioquímica, tive a oportunidade de participar na validação do método de Troponina I Hipersensível da Beckman Coulter. O estudo baseou-se na avaliação da precisão *interserie* com dois doseamentos por dia de cada nível de controlo de qualidade e de duas *pools* de amostras diferentes, durante 5 dias, não seguidos.

O estudo decorreu durante duas semanas e incluiu “fatores de *stress*” no autoanalisador de forma a simular um uso intensivo e alargado no tempo (manutenções diárias propositadamente não executadas e manutenção intensiva extra com variação da intensidade do luminómetro).

Mesmo sob fatores de *stress*, o estudo comprovou que o método respeita a incerteza máxima de 10% ao longo da curva de reação (para valores baixos e altos de Troponina I). Essa é a confirmação técnica principal necessária para que seja validada a sua utilização como marcador sensível e clinicamente útil nos novos algoritmos de diagnóstico do EAM, com recurso à capacidade de deteção de alterações fisiopatológicas relevantes entre dois doseamentos consecutivos (“*delta-checks*”), como *cut-off* de diagnóstico clínico e ao mesmo tempo permite definir *cut-offs* de decisão diferenciados ao sexo dos pacientes.

O estudo confirmou também que as amostras de controlo interno comercial, possuem um comportamento idêntico às amostras dos pacientes e por isso são fiéis representantes da incerteza de medição real que as amostras dos pacientes sofrem neste novo método de doseamento da Troponina I.

A aplicação do novo método da Troponina hipersensível entrará em vigor a partir de setembro no SPC do CHL.

8. Laboratório de Microbiologia e serologia infecciosa

A Microbiologia é hoje, sem dúvida alguma, umas das mais fascinantes áreas da Ciência e o seu interesse é partilhado por todos os profissionais da área das ciências da saúde. Na última década a Microbiologia tem sido alvo de importantes avanços científicos e tem constituído campo onde se colocam enormes e surpreendentes desafios.

A Microbiologia é a ciência que estuda os microrganismos e a sua patogénese envolvendo as áreas da bacteriologia, parasitologia, micobacteriologia, micologia e virologia, como também os microrganismos que desenvolvem relações de simbiose com o homem, protegendo-os contra agentes patogénicos, fazendo parte da flora normal humana.³⁹

Uma das maiores preocupações na área de saúde é a elevada incidência de infeção hospitalar ou nosocomial, isto é, infeção adquirida em ambientes hospitalares durante o

internamento ou após a alta do paciente, quando este esteve hospitalizado ou passou por procedimentos médicos.

Na rotina laboratorial, os produtos biológicos provenientes das várias unidades do hospital chegam diariamente através de um torpedo. Estas amostras vêm identificadas, com respetivo código de barras, a partir do qual se tem acesso aos dados do utente, do médico prescritor, tipo de produto e análise pretendida. O laboratório de microbiologia recebe essencialmente amostras de LCR, sangue, fezes, urinas, cateteres, expetorações, exsudados purulentos e aspirados broncoalveolares. A maioria destes produtos têm indicação para a realização de exames bacteriológicos e, por isso, será a área que irei desenvolver.

O meu estágio no laboratório de Microbiologia no SPC do CHL, teve apenas a duração de quinze dias, porém, optei com todas as limitações existentes fazer a sua descrição, devido à elevada variedade e quantidade de produtos aqui rececionados comparativamente ao outro local de estágio referido neste relatório.

8.1 Equipamentos do Laboratório de Microbiologia

O laboratório de Microbiologia possui vários equipamentos referidos na seguinte tabela VII.

Tabela VII: Equipamento do Laboratório de Microbiologia

Bactet/ALERT 3D Biomérieux



Análise de produção de CO₂

Vitek 2 Biomérieux



Leitura por fluorescência de testes bioquímicos

Smart carrier Vitek 2 Biomérieux



Turbidimetria

PREVI color Biomérieux



RAL STAINER (Ziehl Nielsen)



8.2 Exame bacteriológico

8.2.1 Exame macroscópico

Os produtos biológicos quando chegam ao SPC sofrem um processo de triagem, no qual só serão aceites se estiverem devidamente identificados, em recipientes próprios, em condições de transporte corretos e intactos e o volume em proporções adequadas. No diagnóstico das doenças infecciosas, os resultados laboratoriais dependem, em grande parte, da qualidade da amostra, do momento em que o produto é colhido, dos cuidados a ter com a sua manipulação, bem como dos conhecimentos e experiência dos profissionais.

No exame macroscópico são observados e registados o aspeto/aparência das amostras, como por exemplo o volume, a cor, a turvação entre outros. Reunidas estas informações o processamento e tratamento das amostras são orientados com base no pedido do clínico, na suspeita de diagnóstico e na proveniência da amostra.

8.2.2 Exame microscópico

O exame microscópico é essencial para determinar a qualidade da amostra, ajudar no diagnóstico da doença infecciosa, na interpretação das culturas e definir a necessidade de procedimentos suplementares.

O exame microscópico permite, também, semi-quantificar as bactérias (raros, alguns ou muitos), diferenciar cocos, bacilos, cocobacilos, estafilococos e estreptococos, e analisar a morfologia dos leucócitos (mono e polimorfonucleares).

O exame microscópico é realizado através de preparações a fresco, em preparações coradas, nomeadamente coloração de Gram e coloração de Ziehl Neelsen. A coloração de Gram permite diferenciar bactérias Gram positivo, as que retêm o corante primário (violeta de genciana), das Gram negativa, as que descoram pela ação do diferenciador e ficam coradas como corante de contraste (fucsina), devido às diferenças de composição da parede bacteriana. A presença de ácido tecóico e de grande teor em peptidoglicano na parede celular das bactérias Gram positivas impede a saída do corante primário aquando da atuação do diferenciador álcool-acetona.

A coloração de Ziehl Neelsen é utilizada apenas para a pesquisa de micobactérias, (bacilos álcool ácido resistentes). As micobactérias têm a parede celular com elevado teor de lípidos (principalmente ácidos micólicos) resistentes à descoloração com o diferenciador ácido-álcool (H_2SO_4 ou HCl) após coloração com o corante primário (fucsina, ficam coradas de vermelho). Esta técnica é realizada a quente para permitir que a fucsina penetre no interior das células após a dissolução do material lipídico. A descoloração com a solução de álcool-ácido, vai ocorrer em todas as células exceto nas bactérias resistentes, designadas de bactérias ácido-álcool resistentes (BAAR). O corante de contraste (azul metileno) vai corar de azul todas as estruturas não álcool ácido resistentes.⁴⁰

O exame direto constitui um método relativamente simples, que permite o diagnóstico presuntivo devendo ser sempre acompanhado pelo exame cultural. É um exame de baixo custo e institui-se como uma ferramenta de apoio à identificação de microrganismos (embora muito menos sensível que o exame cultural).

8.2.3 Exame cultural

Os meios de cultura consistem numa mistura qualitativa e quantitativa de substâncias que fornecem os nutrientes necessários ao desenvolvimento de bactérias e fungos *in vitro*. O laboratório deve escolher os meios adequados para a inoculação de cada produto, tendo como base os agentes patogénicos mais frequentemente envolvidos nos processos infecciosos e na natureza da amostra.

Na tabela VIII são apresentados os meios de cultura utilizados pelo SPC.

Tabela VIII: Descrição dos Meios de Cultura.⁴¹

Gelose de Columbia + 5% de sangue de carneiro (GS)	Meio utilizado para o crescimento de microrganismos exigentes. A presença de sangue de carneiro permite observar a hemólise.
Gelose de Chocolate (GC)	Meio seletivo para isolamento de bactérias fastidiosas, como <i>Neisseria spp.</i> e <i>Haemophilus spp.</i>
Gelose Salmonella Shigella (SS)	Meio de isolamento seletivo e diferencial destinado às espécies de <i>Salmonella spp.</i> e <i>Shigella spp.</i> a partir das fezes.
Gelose CLED	Meio não seletivo, diferencial que permite diferenciar microrganismos fermentadores de não fermentadores de lactose, através da variação da cor do meio de cultura.
Gelose Mueller Hinton (MHE)	Meio que permite o crescimento de bactérias não exigentes (Enterobactérias, bacilos Gram (-) não fermentadores, <i>Estafilococcus</i> e <i>Enterococcus</i>).
Meio Granada (GRAN)	Meio para pesquisa do <i>Streptococcus</i> grupo B (<i>Streptococcus agalactiae</i>). Contém cristal violeta para inibir os estafilococcus.
Uricult	Meio constituído por CLED, MacConkey e meio específico para enterococcus.
Gelose Sabouraud gentamicina cloranfenicol	Meio de isolamento para leveduras e fungos filamentosos.
Meio Brain Heart Infusion (BHI)	Meio nutritivo que permite crescimento de microrganismos exigentes, de crescimento fastidioso e não fastidioso, incluindo bactérias anaeróbias e bactérias aeróbias.
Loweinstein Jensen	Meio que favorece o crescimento das micobactérias durante um período de tempo longo, nomeadamente <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , e inibe a maioria das bactérias contaminantes.
Meio Candida	Meio cromogénio e seletivo para leveduras. Permite a identificação da <i>Candida albicans</i> e identificação presuntiva de outras espécies patogénicas <i>C. [labrata, C.tropicalis e C. _rusei</i> .
Selenito	Meio de enriquecimento que permite o isolamento de <i>Salmonella gold</i>
Hektoen Agar (HEKT)	Meio seletivo e diferencial para isolamento de <i>Salmonella spp.</i> e <i>Shigella spp.</i>

Após a realização da inoculação nos respectivos meios de cultura, devem ser selecionados as condições de incubação. A otimização das condições ambientais de suporte ao crescimento de bactérias e fungos de interesse clínico é tão importante quanto o conhecimento dos requisitos nutricionais para a obtenção de cultura *in vitro*. A temperatura é, portanto um fator determinante uma vez que condiciona a velocidade das reações químicas associadas ao crescimento microbiano. A maioria dos microrganismos cresce a uma temperatura ótima de 35°-37°C, *Campylobacter* a 40°C e os fungos a 25°C.

8.2.4 Identificação Bacteriana

Após o tempo de incubação, observa-se se houve ou não crescimento bacteriano. No SPC fazem-se pelo menos duas leituras: às 24h e/ou às 48/72h conforme o tipo de amostra biológica após incubação a 37°C. Se a cultura estiver negativa todo o processo fica completo e o resultado sai como negativo. Na presença de crescimento são observadas macroscopicamente as características culturais relativamente ao tamanho, cor, forma das colónias, cheiro, opacidade/brilho, *swarming* (Fig. IV) produção de H₂S, muco e alterações da cor dos meios de cultura.

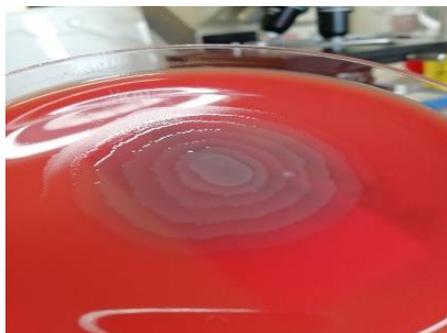


Figura IV: Efeito *Swarming* provocado pela bactéria *Proteus mirabilis*.

Para identificar uma espécie bacteriana é importante e necessário obter uma cultura pura. Muitas infeções são causadas por microrganismos que fazem parte da flora normal, população de microrganismos que habita normalmente um dado local anatómico (pele e nas mucosas) dos indivíduos saudáveis, ou que colonizam transitoriamente um determinado local anatómico. O número relativo de microrganismos encontrados numa cultura é importante quando se trata de microrganismos da flora normal. Quando existe um predomínio, poderá ser ele o próprio responsável pela infeção. Por exemplo sempre que os bacilos gram-negativos são numerosos como *Klebsiella pneumoniae*, estas são encontradas em associação a algumas bactérias nasofaríngeas normais em amostras como a expetoração. Os bacilos gram-negativos são fortemente suspeitos como causa da pneumonia, uma vez que normalmente não se

encontram em grande número na expetoração ou nas secreções bem como na flora nasofaríngea. Nesta situação é necessário proceder à identificação destes microrganismos.

Algumas bactérias, como *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella thyphi* e espécies de *Brucella spp.*, são consideradas patogénicas sempre que encontradas em pacientes.

Métodos automáticos

No laboratório de microbiologia do CHL é utilizado o VITEK 2 para identificação das bactérias e a realização dos respetivos testes de sensibilidade a antimicrobianos (TSA). A identificação baseia-se em características metabólicas e no perfil bioquímico dos microrganismos. Para cada microrganismo isolado nos meios de cultura é necessário preparar previamente soluções salinas, com densidade variável consoante a bactéria, 0,5-0,62 McFarland para Gram positivos e Gram negativos, 1,80-2,20 para fungos e 3,00-3,20 para anaeróbios sendo preparados com uma solução salina NaCl 0,45%.

As cartas de identificação (Tabela IX) e de sensibilidade aos ATB são introduzidas no equipamento, onde ocorre a aspiração da solução e a inoculação nos poços nas respetivas cartas.

Tabela IX: Cartas de identificação para VITEK 2.

Carta GP	Identificação para bactérias Gram Positivas
Carta GN	Identificação para bactérias Gram Negativas
Carta ANC	Identificação para bactérias Anaeróbias e <i>Corynebacterium</i>
Carta YST	Identificação para fungos leveduriformes

Métodos manuais

Existem provas manuais (Tabela X) que auxiliam e orientam para uma provável identificação e, deste modo a fazer-se uma correta escolha das cartas a usar no equipamento VITEK 2.

Tabela X: Métodos manuais de identificação bacteriana.⁴²

Teste da Coagulase	<p>Permite distinguir a espécie de <i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase positiva) das outras espécies de <i>Staphylococcus spp.</i> (coagulase negativa)</p> <p>Plasma de coelho + Colónia isolada da cultura em estudo.</p> <p>Reação Positiva: Formação de coágulo ao fim de 4h/ 37°C.</p>
Teste da Catalase	<p>Permite diferenciar <i>Staphylococcus spp.</i> (catalase positiva) de <i>Streptococcus spp.</i> (catalase negativa).</p> <p>$2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$</p> <p>Uma gota de H_2O_2 + uma colónia (retirada do meio de cultura que não seja a GS).</p> <p>Reação positiva: Observação de formação de bolhas de gás (O_2).</p>
Teste da Oxidase	<p>Permite diferenciar o género <i>Neisseria</i> (oxidase positiva) de outros cocos Gram negativos e distinguir a família Enterobactereaceas (oxidase negativa) da família Pseudomonadaceas (oxidase positiva).</p> <p>Citocromo c reduzido → Citocromo c oxidado</p> <p>Composto tetrametil-p-fenilenodiamina (incolor na forma reduzida) na presença de citocromo oxidase (presente na colónia) é oxidado e convertido em azul indofenol.</p> <p>Reação positiva: Desenvolvimento de cor azul-violeta durante 10 a 60 segundos.</p>
Teste da Optoquina	<p>A optoquina inibe o crescimento de <i>Streptococcus pneumoniae</i>. O aparecimento de um halo de inibição significa que a bactéria é sensível à optoquina, permitindo desta forma identificar <i>Streptococcus pneumoniae</i>.</p>
Prova dos fatores proteicos de crescimento	<p>Esta prova permite identificar <i>Haemophilus</i>, uma vez que, testa o seu crescimento <i>in vitro</i> na presença o fator X (hemina) e o fator V (NAD). As espécies de <i>Haemophilus</i> necessitam destes fatores para crescer (Fig. V).</p>



Figura V: Prova dos fatores de crescimento proteico para identificação de *Haemophilus*.

8.2.5 Teste de susceptibilidade aos antibióticos (TSA)

O TSA é uma das técnicas que se baseia na capacidade que um microrganismo tem de se multiplicar *in vitro* na presença de diferentes fármacos. O TSA com recurso às cartas do VITEK 2 consiste numa combinação de fármacos para determinados grupos de microrganismos (por exemplo Gram negativos ou Gram positivos). O resultado é dado como sensível (S), resistente (R) e intermédio (I), ao antibiótico de acordo com as normas EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*).

O sistema ID/TSA VITEK[®]2 oferece confiança nos resultados, é rápido e fiável, garantindo um melhor fluxo de trabalho no laboratório com menos tarefas repetitivas, maior segurança, melhor padronização e tempos de obtenção de resultados e elaboração de relatórios rápidos.

8.3 Principais produtos biológicos

8.3.1 Urina

A infeção do trato urinário (ITU) é uma das causas mais comuns de infeção na população em geral. É mais prevalente no género feminino, do que no masculino, devido ao pH, fluidos prostáticos, osmolaridade, e anatomia do trato urinário. A ITU pode ser classificada quanto à localização em inferior (cistite, uretites, cervicites e vaginites na mulher e prostatites no homem) e superior (pielonefrite e ureterites).

Urocultura

A urocultura consiste no exame bacteriológico para a quantificação de microrganismos presentes na urina. A colheita da urina é feita para um recipiente estéril, de preferência a primeira urina da manhã (colheita asséptica de jato intermédio) ou, caso não seja possível, colher a urina após retenção de 3 a 4 horas. Em ambulatório normalmente é possível fazer a colheita desta maneira, contudo em alguns utentes internados no hospital a colheita já pode ser realizada através de cateteres ou por aspiração suprapúbica, (bebés).

A urina deve ser homogeneizada por inversão e posteriormente o uricult é imerso, e incubado em atmosfera de aerobiose a 37°C durante 18 a 24h.

Após esta incubação, verifica-se se houve crescimento no meio e se a cultura é valorizável ou não. Quando não se verifica crescimento ou quando o crescimento é inferior a 10⁵ UFC /ml (unidades formadoras de colónias por mililitro), o resultado é dado como negativo. Numa

cultura de urina colhida por aspiração suprapúbica deverá ser sempre valorizado qualquer tipo de crescimento, independentemente da sua quantificação. Quando se verifica um crescimento superior a 10^5 UFC/ml com mais de uma estirpe e o seu isolamento é difícil considera-se a amostra como polimicrobiana, sendo aconselhado uma nova colheita.

Em amostras cujo crescimento é superior a 10^5 UFC/ml é feita a identificação do microrganismo e o respetivo TSA no aparelho VITEK 2 a partir de colónias puras, realizando-se uma suspensão de turvação 0,5 a 0,62 na escala de McFarland. Em simultâneo é realizado uma repicagem para uma placa de CLED para descartar possíveis falhas na identificação, devido a um mau isolamento da bactéria. Todo o processo que envolve uma urocultura, desde a chegada da amostra até à saída do ATB (última etapa) demora em média 48h. A escolha da terapêutica antimicrobiana para a ITU varia de acordo com a apresentação da infeção, hospedeiro e agente etiológico da infeção.

Microrganismos mais frequentes nas infeções urinárias

Infeção do trato urinário adquirido na comunidade:

Escherichia coli (Fig.VII); *Klebsiella spp.*;
Proteus spp.;
Pseudomonas spp.; *Enterococcus spp.*;
staphylococcus.

Infeção do trato urinário adquirido em meio hospitalar:

Escherichia coli; *Klebsiella pneumoniae* (Fig. VI); *Proteus spp.*; *Pseudomonas aeruginosa*;
Acinetobacter spp.; *Candida spp.*;
Enterococcus spp.



Figura VII: Colónias de *Escherichia coli* numa placa de CLED

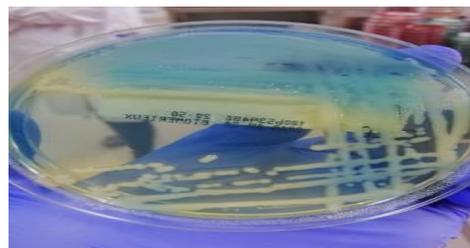


Figura VI: colónias de *Klebsiella pneumoniae* numa placa de CLED

8.3.2 Pontas de Cateteres

Os cateteres venosos centrais (CVC) são utilizados na terapia intravenosa com a finalidade de facilitar o diagnóstico e o tratamento do paciente, permitindo a administração de medicamentos, nutrição parenteral e o acesso vascular para hemodiálise. No entanto, o uso destes cateteres oferece riscos de infeções locais e sistêmicas, incluindo endocardite e bacteriemia.

A dificuldade em diagnosticar infecções relacionadas ao uso de cateteres é um problema muito frequente e a sua avaliação baseia-se na suspeita clínica de infecção, ou seja, sinais clínicos locais, como a presença de dor, calor, edema, eritema e exsudato purulento próximo ao local de inserção do cateter, e sinais sistêmicos como temperatura acima de 38 ° C, tremores, hipotensão e taquicardia. O diagnóstico usualmente requer hemoculturas colhidas simultaneamente no cateter e em veias periféricas, além da remoção do cateter para a realização de cultura qualitativa.

Os cateteres devem ser colhidos assepticamente para um recipiente estéril (3 a 5 cm) e seco. No laboratório são incubados no meio BHI a 37°C, em ambiente de aerobiose durante 18 a 24h para favorecer o crescimento dos microrganismos mais exigentes. Após 24h é realizada a sementeira desse caldo numa Gelose de sangue por mais 24h nas mesmas condições de incubação. No caso de haver crescimento procede-se à respetiva identificação e TSA. A infecção por via cateter só é confirmada se o microrganismo isolado e identificado no cateter for o mesmo identificado na hemocultura.

Estirpes com grande probabilidade de serem agentes patogénicos

Independentemente do número presente: *Streptococcus* beta-hemolítico do Grupo A de Lancefield, *Staphylococcus aureus* (Fig. VIII), *Enterobacteriaceas*.

Agentes provavelmente “contaminantes” da pele: (Geralmente não responsáveis por infecção), *Staphylococcus* coagulase negativo, *Streptococcus viridans*, *Bacillus spp.*⁴³

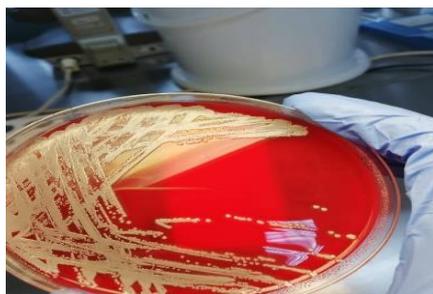


Figura VIII: Colónias de *Staphylococcus aureus* numa placa de GS

8.3.3 Fezes

As infecções do trato intestinal têm alta incidência na população em geral, e apresentam grande morbidade em crianças e idosos. Os antecedentes epidemiológicos, a existência de fatores predisponentes, a presença de sinais e sintomas clínicos e o tipo de diarreia devem orientar na pesquisa do agente etiológico.

A coprocultura é dos exames mais solicitados, e consiste principalmente na pesquisa de *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* e *Campylobacter sp.*

A colheita da amostra deve ser realizada para um recipiente estéril, evitando a refrigeração e o uso de conservantes.

Coprocultura

Na coprocultura, são efetuados esfregaços para a realização da coloração de Gram onde se pode observar o predomínio de uma morfologia bacteriana, leveduras e a presença de leucócitos. O exame cultural é efetuado em meio SS, meio Hektoen e meio selenito, incubados em ambiente de aerobiose a 37°C durante 18 a 24h. Após 24h é realizada uma inoculação do meio selenito para uma placa de SS e Hektoen, permitindo, assim, uma maior recuperação das bactérias *Salmonella spp.* e *Shigella spp.* As colónias suspeitas (não fermentadoras de lactose e produtoras ou não de H₂S) precisam de ser identificadas pois só as espécies referidas anteriormente são valorizáveis. As colónias de *Proteus spp.* que também podem ser encontradas, não são fermentadoras e não são de valorizar porque não são consideradas patogénicas. Caso haja desenvolvimento bacteriano procede-se à identificação e ao TSA.⁴⁴

A não observação de bactérias enteropatogénicas classifica a coprocultura como negativa com desenvolvimento de flora comensal sem significado clínico.

Parasitológico

Nas fezes também é muito comum pedidos para a pesquisa de parasitas intestinais. A colheita de fezes deve ser efetuada em dias alternados e de preferência três amostras, uma vez que, as formas parasitárias são eliminadas de forma intermitente. Inicialmente realiza-se um exame macroscópico onde se observa a cor, consistência, e a presença de muco, sangue e vermes adultos.

O exame parasitológico é efetuado com base no Método ECO ou Baileger, método de sedimentação por concentração, através do KIT Biorepair, onde são preparadas as amostras fecais, dissolvidas numa solução ECO, (utilizado para preservar as estruturas parasitárias) e posteriormente é adicionado éter, (solubilizante de gorduras e fibras) e a mistura é filtrada para um tubo cónico e centrifugado a 2000g durante 10 minutos. Após a centrifugação obtém-se três camadas distintas, o sedimento, objeto de estudo que poderá conter estruturas de protozoários (trofozoítos e quistos) e de helmintas (ovos e larvas) a intermédia de formol e a camada superficial de éster. O sedimento é observado ao microscópio ótico recorrendo-se a uma preparação fresco entre lâmina e lamela, utilizando-

se primeiro a objetiva de pequena ampliação ($\times 10$) e depois a objetiva de maior ampliação ($\times 40$). A observação microscópica de estruturas parasitárias permite estabelecer um diagnóstico definitivo

8.3.4 Hemoculturas

A grande maioria das doenças infecciosas pode ser acompanhada de bacteriemia transitória, intermitente, ou persistente.

Como o sangue é um produto biológico estéril, o isolamento de um microrganismo a partir duma hemocultura é geralmente o agente etiológico da infecção.

A colheita deve ser efetuada por venopunção de vasos periféricos, de preferência em veias periféricas diferentes para aumentar a probabilidade de detecção do microrganismo. Após a receção das garrafas estas são incubadas no aparelho Bactet Alert 3D durante 5 dias. As garrafas de hemocultura (Fig. IX), contêm meios de enriquecimento que diferem consoante o tipo de microrganismo que se pretende pesquisar, nomeadamente anaeróbios, aeróbios, fungos, existindo também hemoculturas para amostras pediátricas.

A positividade da hemocultura é detetada a partir de um sensor colorimétrico e pela reflexão da luz que monitoriza a presença e a produção de CO₂, dissolvido no meio de cultura (Fig. VIII). Após crescimento, o Bactet Alert, dá um sinal de alarme e a hemocultura é retirada sendo realizado um esfregaço para coloração de Gram e sementeira em GS (quando há suspeita de *Haemophilus* semeia-se também em GC) em atmosfera de aerobiose durante 24h a 37°C. Após esta incubação se ocorrer crescimento, procede-se à identificação e respetivo TSA. A valorização dos resultados depende do contexto clínico do agente causal e do resultado da colheita da segunda garrafa. O não crescimento ao fim do tempo estipulado significa que estamos perante uma hemocultura negativa.

Microrganismos mais frequentes em hemoculturas:

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas spp.* e bactérias da família Enterobacteriaceae.



Figura IX: Garrafas de Hemocultura anaeróbias e aeróbias respetivamente.

8.3.5 Secreções respiratórias

Para o diagnóstico das infeções respiratórias inferiores, diferentes amostras podem ser pedidas, tais como, expetoração, lavados ou aspirados brônquicos. No SPC a amostra mais frequente é a expetoração, sendo esta colhida para um recipiente estéril através de uma tosse profunda evitando a contaminação da amostra por bactérias da flora comensal da orofaringe. Devem ser colhidas de preferência três amostras em dias consecutivos, uma vez que, a emissão de alguns microrganismos não é contínua. Na impossibilidade de ser obtida desta forma, a obtenção de amostras do trato respiratório inferior é realizada por broncofibroscopia.

De forma a observar a qualidade da amostra é efetuada uma coloração de Gram, e visualizado em 10 campos, avaliando assim a presença de células epiteliais, leucócitos e flora polimicrobiana. A coloração de Gram permite também verificar se existe predomínio de alguma bactéria (Gram + ou Gram -).

Paralelamente procede-se a inoculação da amostra em GS e GC, incubados em aerobiose durante 24h a 37°C.

A valorização dos agentes patogénicos baseia-se na qualidade da amostra, na informação clínica e no respetivo predomínio da população microbiana.

Microrganismos mais frequentes:

Streptococcus pneumoniae; *Haemophilus influenzae*; *Acinetobacter baumannii*; *E.coli* e *Klebsiella spp.*; *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas* (Fig. X e XI).

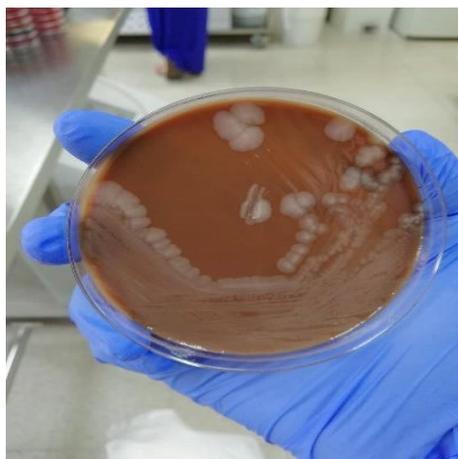


Figura XI: Colónias de *Pseudomonas* em placa de GC.

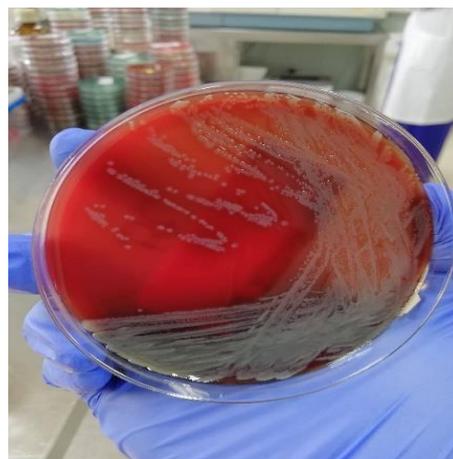


Figura X: Colónias de *Pseudomonas* em placa de GS.

8.3.6 Exsudados purulentos

Muitas são as situações clínicas e muitos são os microrganismos responsáveis por infecções localizadas que conduzem à formação de exsudados purulentos.

Para os exsudados purulentos que chegam ao laboratório em zaragatoa, são realizados esfregaços para coloração de Gram, inoculados em GS e GC e seguidamente são incubados a 37° C em ambiente de aerobiose (em alguns casos para anaerobiose também) durante 24h. Para a valorização dos resultados, tem de se ter em conta o local anatómico da infeção, tipo de infeção, modo de colheita e a história clínica.

Microrganismos mais frequentes nos exsudados purulentos:

Espécies da família Enterobacteriaceas, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp* beta hemolíticos.

8.3.7 Líquido Cefalorraquidiano (LCR)

As amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) devem ser colhidas para tubos esterilizados, inquebráveis, transparentes, de fundo cónico com encerramento térmico. É recomendada a colheita para três tubos, que devem ser numerados e enviados de imediato ao laboratório após a colheita.

O LCR é considerado um produto prioritário e assim que chega ao laboratório é registado de imediato as características macroscópicas, nomeadamente cor, turvação e volume. Posteriormente realizam-se duas lâminas para coloração de Gram, reportando a presença ou ausência de bactérias, células inflamatórias e eritrócitos. De seguida inocula-se

em GS e GC, incuba-se em atmosfera de aerobiose durante 24h a 37°C. Caso haja crescimento procede-se à identificação e respetivo ATB.

8.4 Pesquisa de Bacilos Álcool Ácido Resistentes (BAAR)

Durante meu estágio no laboratório de microbiologia presenciei inúmeros pedidos de pesquisa de BK, nas mais diversas amostras e por isso não poderia deixar de o destacar este fato no presente relatório.

As micobactérias responsáveis pela tuberculose podem ser divididas em dois grandes grupos mediante diferenças epidemiológicas e patogenicidade, nomeadamente o complexo *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) e as micobactérias não tuberculosas (*M. avium complex* nos HIV positivos), responsáveis pela tuberculose. Este exame consiste na pesquisa de micobactérias, bacilos álcool ácido resistente, realizando-se uma coloração de Ziehl Neelsen. Após coloração os produtos biológicos com pedidos para BK, são guardados e todas as quartas-feiras procede-se à sua análise através do Kit Mycoprosafe onde as amostras sofrem um pré-tratamento, uma vez que, os BAAR existem em pouca quantidade e a contaminação das amostras pode dificultar a sua visualização.

As amostras sofrem um processo de descontaminação, liquefação, concentração e homogeneização. A homogeneização vai permitir a liquefação do material orgânico (células e muco) que rodeiam as micobactérias, para que os agentes descontaminantes possam exercer a sua ação de destruição da flora contaminante bacteriana (o tempo de contacto deve ser respeitado, para que a destruição das micobactérias seja minimizado).

Este tipo de tratamento permite a recuperação de micobactérias através da eliminação de outros microrganismos existentes e a liquefação de algumas amostras como o caso da expectoração para ser mais fácil a sua sedimentação. Após este pré tratamento as amostras são centrifugadas a 3000g durante 15 minutos. Posteriormente inocula-se este sedimento nos frascos de hemoculturas no qual vai a incubar no Bactet Alert durante 42 dias.

8.5 Serologia infecciosa

As técnicas de serologia, provas de aglutinação e testes imunocromatográficos, (tabela XI e XII) são provas rápidas, baseadas em reações de antigénio-anticorpo, permitindo obter informações importantes sobre o agente infeccioso. As provas de aglutinação para serem consideradas positivas, tem de ocorrer presença de aglutinação, enquanto nos testes

cromatográficos tem de aparecer duas linhas uma referente ao controlo e outra à positividade do teste.

Tabela XI: Provas serológicas de aglutinação.

Reação de Weil-félix	Pesquisa de anticorpos contra género <i>Rickettsia</i> por meio de antígenos, preparados a partir de <i>Proteus</i> (OX-K; OX-2; OX-19).
Rosa Bengala e Wright	Deteção de anticorpos contra a Brucela, de fase aguda ou crónica. Se as amostras positivarem é feita a quantificação pela reação de Wright, que é um teste quantitativo de aglutinação em microplaca (ELISA).
Reação de Widal	Deteção de anticorpos anti-salmonella, utilizando antígenos típicos (O e H) e paratípicos (A e B).

Tabela XII: Testes imunocromatográficos aplicados à identificação de agentes infecciosos.

Pesquisa de antígenos de <i>Legionella pneumophila</i> (urina)	Diagnóstico de doença provocada por <i>Legionella pneumophila</i> .
Pesquisa de Antígenos de adenovírus e Rotavírus (fezes)	Rotavírus é um agente responsável por gastroenterites e diarreias em crianças, enquanto a Adenovírus afeta o sistema gastrointestinal, ocular e respiratório.

8.6 Controlo de Qualidade Interno e Externo no Laboratório de Microbiologia

No laboratório de microbiologia todos os dias se procede à verificação e registo das temperaturas das estufas e dos frigoríficos existentes. Para além deste procedimento também se coloca a solução salina utilizada para as suspensões bacterianas numa placa de GS onde é incubada a 37°C durante 24h. Este procedimento repete-se diariamente tanto no início como no fim da realização das referidas suspensões bacterianas.

Relativamente à Avaliação externa da Qualidade, as amostras que chegam ao laboratório são processadas em conjunto com as amostras biológicas dos utentes para que, o seu processamento represente as condições reais de trabalho na rotina diária do SPC. A resposta a este programa é definida segundo um calendário estipulado pelas entidades independentes que os gerem, dependendo das provas que o SPC responde. O laboratório de

microbiologia recebe o controlo de qualidade externo NEQAS de parasitologia, bacteriologia e micobacteriologia.

9. Principais Atividades desenvolvidas no Laboratório Uália

9.1 Hematologia

A Hematologia é uma área com extrema relevância para os clínicos, pois aborda o estudo das células sanguíneas e a sua produção, bem como o estudo da coagulação e das patologias associadas. O sangue é composto por células sanguíneas em suspensão no plasma. Estas células têm um tempo de vida limitado estando continuamente a ser substituídas por novas células produzidas num processo conhecido por hematopoiese, que ocorre no estroma da medula óssea.

Diariamente, chegam ao Laboratório Uália amostras de sangue total que contém EDTA como anticoagulante, para a realização de Hemogramas, no equipamento SYSMEX XS-1000i. Amostras de sangue total, colhidos para tubos com citrato para a realização da velocidade de sedimentação (VS) no aparelho MONITOR 20E ELECTRA LAB e para avaliação da hemostase e coagulação no equipamento STA COMPACT.

O hemograma inclui a contagem das células do sangue como os glóbulos vermelhos, leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos), plaquetas e de reticulócitos. São também avaliados os parâmetros eritrocitários como o volume globular médio (VGM), a concentração média da hemoglobina globular (CMHG), o hematócrito, a hemoglobina, a hemoglobina globular média (HGM) e a distribuição do diâmetro dos eritrócitos (RDW). Na presença de alterações no hemograma, é efetuado um esfregaço sanguíneo, realizado e corado manualmente pela técnica de May-Grunwald-Giemsa.

Relativamente à coagulação avaliam-se parâmetros, tais como: o tempo de protrombina, que inclui o cálculo de International Normalised Ratio (INR), tempo de trombolastina parcial ativada (TTPa) e o doseamento do fibrinogénio.

9.2 Imunologia

No sector de Imunologia o processamento das amostras é efetuado geralmente em soro, no entanto podem ser também em plasma ou urina. No laboratório Uália, o equipamento utilizado é o IMMULITE 2000, que efetua imunoensaios de quimioluminescência. O sistema utiliza amostras de soro, plasma e/ou urina para diagnóstico *in vitro* recorrendo a esferas de poliestireno revestidas com uma camada de anticorpos durante a fase sólida.

Neste analisador são efetuadas as quantificações de grande parte dos parâmetros, tais como: marcadores tumorais, parâmetros da função tiroideia, parâmetros da avaliação da

fertilidade, cinética do ferro, pesquisa de Citomegalovirus, Rubéola, Toxoplasmose e marcadores de serologia infecciosa.

Neste sector realiza-se também a determinação do perfil electroforético, processadas no aparelho semiautomático HYDRASIS por electroforese em gel de agarose. A electroforese permite separar as proteínas séricas de acordo com a sua carga e a um determinado pH. A coloração é realizada com negro de amido.

No Laboratório Uália são realizados controlos diários para todos os parâmetros, com exceção do aparelho Hydrasis, onde o controlo só é feito quando são processadas as amostras, nomeadamente uma vez por semana. No que diz respeito às calibrações, são realizadas aquando de mudança de lote dos reagentes ou são pedidas periodicamente pelo equipamento.

10. Conclusão

A concretização do mestrado em Análises clínicas foi sem dúvida para mim um grande desafio tanto a nível pessoal como profissional.

Felizmente após terminar a licenciatura em Análises Clínicas, arranjei trabalho na área, mas ao fim de alguns anos senti vontade e necessidade de voltar a estudar, uma vez que, os meus conhecimentos estavam a estagnar e a área das análises clínicas estava a progredir rapidamente.

Até à realização deste estágio tinha tido só contato com a realidade de um laboratório privado onde existe uma determinada rotina laboratorial onde os utentes estão capazes de se deslocar ao laboratório e de fazer as suas próprias análises, enquanto no ambiente hospitalar existe um universo de patologias e de pedidos de análises completamente diferentes.

Tanto a componente teórica do mestrado como a componente prática nomeadamente o estágio, permitiram-me aprofundar conhecimentos, adquirir outros, tanto a nível teórico como prático, mas sem dúvida continuar com a certeza de que a área das Análises Clínicas é cada vez mais imprescindível na qualidade e prolongamento da vida do utente, tanto na deteção precoce de determinadas patologias, como no tratamento de outras.

Apesar de ser uma área muito automatizada, se não estiverem presentes excelentes profissionais, com uma boa interação e comunicação entre toda a equipa, sem a realização dos procedimentos de qualidade interno e externo, as tecnologias de nada são capazes.

Com a finalização de mais uma etapa na minha vida, sinto ainda hoje que tenho muito para aprender, mas também que cada dia que passa os meus conhecimentos ficam mais consolidados e sem dúvida que esta é a área que me fascina e que me quero tornar cada vez melhor!!

I I. Bibliografia

1. ISO 15189:2012 Medical laboratories - **Requirements for quality and competence.** (2012). International Organization of Standardization, Genève, Switzerland.
2. Plebani, M., Sciacovelli, L., Aita, A., Chiozza, M. L. - **Harmonization of pre-analytical quality indicators.** *Biochimica Medica*, 24 (1), (2014) 105-13.
3. Hawkins, R. - **Managing the Pre- and Post-analytical Phases of the Total Testing Process.** *Annals of Laboratory Medicine*, 32, (2012) 5-16.
4. Vieira, K. F., Shitara. E. S., Mendes, M. E., Sumita N. M. - **Usefulness of quality indicators in the management of clinical laboratories.** *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 47 (3), (2011), 201-210.
5. Rin, G. - **Pre-analytical workstations: A tool for reducing laboratory errors.** *Clínica Chimica Acta*, 404, (2009), 68-74.
6. Plebani, M., - **Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine?** *Clínical Chemistry and Laboratory Medicine*. 44 (6), (2006), 750-759.
7. Chaves, C. D. - **Controlo de qualidade no laboratório de análises clínicas.** *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 46, (2013).
8. Pang, R. - **A Practical Guide to Internal Quality Control (IQC) for Quantitative Tests in Medical Laboratories** (Proposed Guidelines). Hong Kong Association of Medical Laboratories Ltd., (2009).
9. Plebani, M. - **External Quality Assessment Programs; Past, Present and Future.** *Jugoslav Medical Biochem*, 24, (2005) 201-206.
10. Kang J.S., Lee M.H. - **Overview of Therapeutic Drug Monitoring,** *The Korean Journal of Internal Medicine* 24, (2009) 1-10.
11. Ullman M.D. Burtis C.A., Tietz -**Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,** Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 6th Ed. (2008).
12. Malati T. - **Tumour Markers: An Overview,** *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 22 (2007) 17-31.
13. Carl A. et al. - **Tumor Markers.** In Burtis,. Trad. TIETZ Fundamentals of Clinical, p.338-362. Chemistry. 6^{ed} St Louis, Missouri: Saunders Elsevier, (2008).
14. Molina R., Filella X., - **Marcadores Tumorales. Estado atual y perspectivas de futuro II.** Roche Diagnosis S.I (2003).
15. Tate, Seeley Stephens - **Anatomia e fisiologia,** 3^{ed}. Copyright 1995, ISBN: 972-96610-5-7.

16. Carl; Ashwood, Edward; Bruns, David; Sawyer, Barbara. - **Enzymes**. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. St. Louis, Missouri: Elsevier, Saunders, (2008), p. 317-336.
17. M., Fody E., Schoeff L. - **Pancreatic Function and Gastrointestinal Function**. In Bishop, Clinical Chemistry Principles, Techniques, Correlations, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 7th Ed. (2013), p.590-601.
18. Scott Mitchell; Legrys Vicky; Klutts Stacey, - **Electrolytes and Bloods Gases**. In: Burtis, Carl; Ashwood, Edward; Bruns, David; Sawyer, Barbara. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. St. Louis, Missouri: Elsevier, Saunders, (2008), p. 431-449.
19. Kovesdy C.P., - **Significance of Hypo- and Hypernatremia in Chronic Kidney Disease**, Nephrology Dialysis Transplantation 27 (2012) p.891-898.
20. Polancic, Joan E. - **Electrolytes**. In Bishop, Michael L.; Fody, Edward P.; Schoeff, Larry Trad. Clinical Chemistry Techniques, principles, Correlations. 6.^{Ed} Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2009, p. 356-383.
21. Direcção-Geral da Saúde, Norma Diagnóstico e **Classificação da Diabetes Mellitus**, N° 002/2011 26/07/2018
22. Henry, John Bernard; - **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais**, 19^a Ed., Editora Manole LTDA.
23. Goldstein, D. E. et al. - **Tests of glycemia in diabetes**. Diabetes Care. Vol.27. n°7 (2004), p.1761-73.
24. Lewandrowski K., Chen A., Januzzi J., - **Cardiac Markers for Myocardial Infarction: A brief review**, American Journal Of Clinical Pathology 118 (2002) p.93-99.
25. Apple Fred; Allan, Jaffe - **Cardiovascular Disease**. In: Burtis, Carl; Ashwood, Edward; Bruns, David; Sawyer, Barbara. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. St. Louis, Missouri: Elsevier, Saunders, (2008), p. 614-630.
26. Zhu, N. et al. – Pim-I. - **Kinase Phosphorylates Cardiac Troponin I and Regulates Cardiac Myofilament Function**. Cell Physiol Biochem. Vol 45, n°6 (2018).
27. Thymchak, Lynda L. - **Amino Acids and Proteins**. In Bishop, Michael L.; Fody, Edward P.; Schoeff, Larry Trad. Clinical Chemistry Techniques, Principles, Correlations. 6.^{Ed} Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2009, p. 223-265.
28. Jay, Bock - **Cardiac Injury, Atherosclerosis, and Thrombotic Disease**. In: McPherson, Richard; Pincus, matthew. HENRY'S Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Philadelphia: Elsevier, Saunders, (2011)p. 249-258.
29. Endres, David B.; K. Rude, Robert - **Disorders of Bone**. In: Burtis, Carl A. et al. Trad. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6.^{Ed}. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, (2008) p.711-734.

30. Higgins Trefor; Beutler Ernest; Doumas Basil, - **Hemoglobin, Iron, and Bilirubin**. In: Burtis, Carl; Ashwood, Edward; Bruns, David; Sawyer, Barbara. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. St. Louis, Missouri: Elsevier, Saunders, (2008), p. 509-526.
31. Caquet, René, - **Guia Prático de Análises Clínicas**, 1ª Edição, (2004).
32. Molina E. Patricia, Ashman Richard., - **Endocrine Physiology**. 4^{ed.} (2013).
33. Dufour R., - **Liver Disease**. In Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 5^{ed.} (2012), p. 16337-1693.
34. Pincus M., Tierno P., Gleeson E., Bowne W.,- **Evaluation of Liver Function**. Mcpherson R.A., Pincus M.R. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 23^{Ed.} (2016), p.289-305.
35. Myron, Johnson - **Amino Acids and Proteins**. In: Burtis, Carl; Ashwood, Edward; Bruns, David; Sawyer, Barbara. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. St. Louis, Missouri: Elsevier, Saunders, (2008)p. 286-316.
36. Henry J. B.,- **Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods**, 20^a Edição, (2001).
37. Lamb Edmund; Price Crhistopher - **Creatinine, Urea, and Uric acid** In: Burtis, Carl; Ashwood, Edward; Bruns, David; Sawyer, Barbara. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. St. Louis, Missouri: Elsevier, Saunders, (2008), p. 363-372.
38. Rifai Nader; Warnick Russell; Remaley Alan - **Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiovascular Risk Factors**. In: Burtis, Carl; Ashwood, Edward; Bruns, David; Sawyer, Barbara. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. St. Louis Missouri: Elsevier, Saunders, (2008) p. 402-430.
39. Ferreira, Wanda F. Canas; Sousa, João Carlos - **Microbiologia**. volume I, 2^{ed.} Lidel, edições técnicas, Setembro (1998).
40. Manuselis George; Mahon Connie - **Bacterial Cell Structure, Physiology, Metabolism, and Genetics**. In: Mahon Connie; Lehman Donald; Manuselis George. Textbook of Diagnostics Microbiology. Missouri: Saunders, Elsevier, (2015)p. 2-22
41. Biomérieux. Manual de meios de cultura e suplementos, 2003.
42. Fonseca, Ana Et Al. - Ministério da Saúde/ Instituto Dr. Ricardo Jorge. Portugal: **Programa Nacional de Controlo de Infeção**, (2004), p. 8-20.
43. Fonseca, Ana Et Al. - **Orientações para a Elaboração de um Manual de Boas Práticas em Bacteriologia**. Ministério da Saúde/ Instituto Dr. Ricardo Jorge. Portugal: Programa Nacional de Controlo de Infeção, (2004), p. 62-80.
44. Betty A. Forbes, PhD, (ABMM), F (AAM), Daniel F. Sahm, PhD (ABMM), F (AAM), et al., Bailey Scott. - **Diagnostic Microbiology**, 12th Edition, Elsevier.

12. Anexos

1. Dispersão das magnitudes biológicas do SPC do CHL

A avaliação da dispersão das magnitudes biológicas pressupõe o conhecimento e experiência para determinar as 3 principais situações passíveis de ocorrer, para cada magnitude biológica em causa. Dependendo de vários fatores como o tipo de magnitude biológica, ciclos circadianos, tipo de amostra biológica, número de pacientes usados na avaliação e presença ou ausência de estabilidade do método de doseamento, podemos observar:

A - Equilíbrio Biológico e respetiva estabilidade do método de doseamento da magnitude biológica

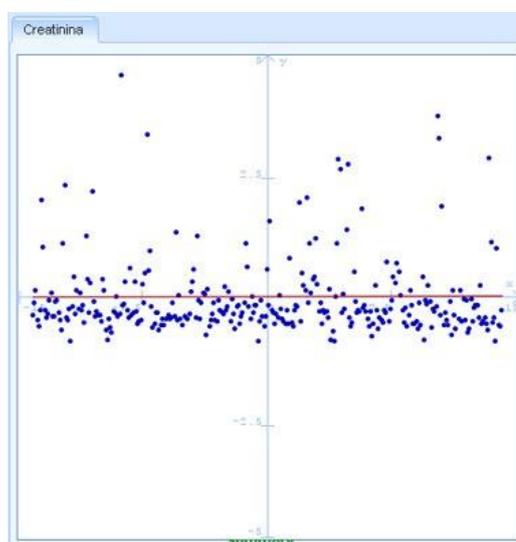


Gráfico I- Dispersão dos doseamentos da creatinina, de um dado período de tempo (obtido pelo Sistema Informático do Laboratório SIL - *Modulab Gold*). A reta de regressão linear (traçada automaticamente pelo SIL, a vermelho) indica um equilíbrio na média de resultados obtidos para a creatinina durante todo o período de tempo da avaliação. Tal equilíbrio é diretamente proporcional à estabilidade do método de doseamento da creatinina nesse equipamento, durante o mesmo período de avaliação.

B- Desequilíbrio biológico (“momentum” biológico)

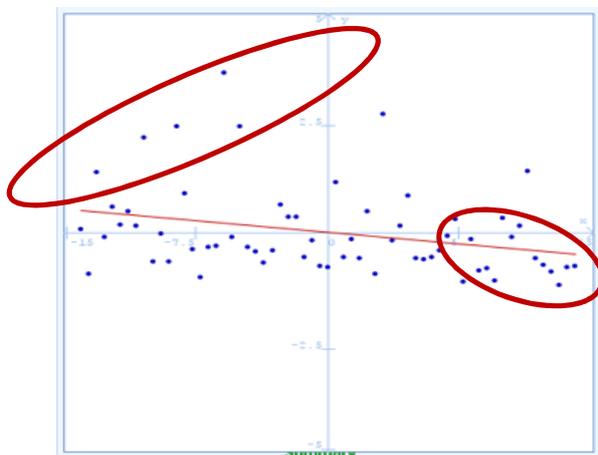


Gráfico 2 - A reta de regressão linear representa uma descida da média dos resultados obtidos durante o período de avaliação. Tal deveu-se apenas porque no início do período de avaliação encontramos mais amostras com doseamentos elevados do que no final do mesmo período de avaliação (o método de doseamento encontrava-se estável durante esse período de avaliação e tal pode-se observar quando alargamos o período de avaliação para trás no tempo e com mais pacientes).

C - Desequilíbrio por instabilidade do método de doseamento

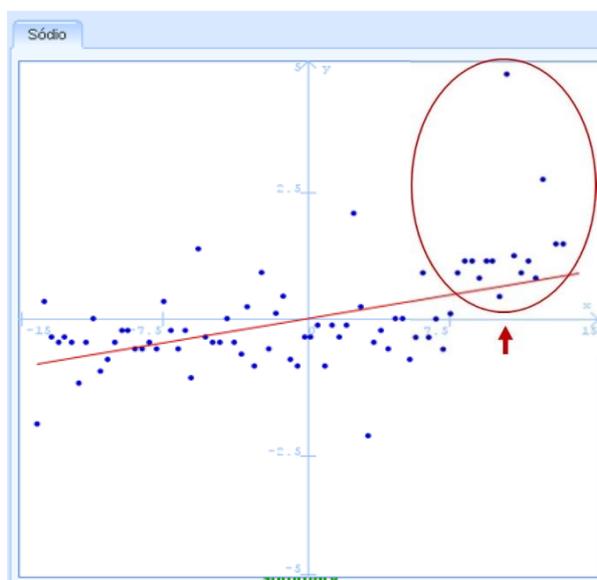


Gráfico 3 – Aqui, a partir de certa altura podemos observar uma seção/corte na dispersão dos doseamentos do sódio, onde o grupo final de pacientes (dentro da elipse a vermelho) encontra-se nitidamente acima da média de doseamentos que se estavam a obter desde o início do período de avaliação. Nessas condições, observamos que a reta de regressão linear (reta traçada pelo SIL a vermelho) indica uma clara tendência de subida da média dos doseamentos de sódio, no mesmo período de avaliação. Neste caso trata-se de uma clara indicação de alteração técnica (na forma de erro sistemático) no método de doseamento

do sódio. Se passarmos nesse momento um controlo de qualidade interno, confirmamos se este erro é clinicamente relevante caso este ultrapasse os limites definidos nas cartas de controlo interno.

