



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Mariana Costa Neves

Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas orientado pelo Doutor Américo Lopes de Freitas e pela Professora Doutora Bárbara Silva Rocha apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Fevereiro de 2023



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Relatório de Estágio

Mestrado em Análises Clínicas

Mariana Costa Neves

Relatório de Estágio Curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas orientado pelo
Doutor Américo Lopes de Freitas e pela Professora Doutora Bárbara Silva Rocha
apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Estágio Realizado em Avelab, Laboratórios Médicos de Análises Clínicas em Aveiro

Fevereiro de 2023

Agradecimentos

Agradeço a todos aqueles que disponibilizaram um pouco de tempo e ofereceram apoio para a minha aprendizagem e formação.

Obrigada!

Índice

Abreviaturas.....	11
Resumo.....	13
Abstract.....	13
1. Introdução.....	15
2. Caracterização do laboratório de estágio.....	16
2.1. Fase pré- analítica.....	16
2.2. Fase analítica.....	17
2.3. Fase pós- analítica.....	18
3. Controlo de qualidade.....	18
3.1. Controlo de qualidade Interno e Externo.....	18
4. Hematologia.....	19
5. Imunologia.....	19
6. Bioquímica.....	20
6.1. Equilíbrio Hidro Eletrolítico.....	21
6.2. Função Renal.....	22
6.2.1. Ureia, Creatinina e Ácido úrico.....	22
6.2.2. Proteinúria e Microalbuminúria.....	23
6.2.3. Análise sumaria de urina.....	24
6.3. Proteínas plasmáticas.....	25
6.3.1. Albumina.....	25
6.3.2. α , β e γ globulinas.....	25
6.3.3. Proteína C Reativa.....	26
6.3.4. Eletroforese das proteínas.....	26
6.4. Doenças cardíacas.....	27
6.4.1. Biomarcadores Cardíacos: Creatinina Cinase, Troponina, Peptídeos natriuréticos.....	27
6.4.2. Metabolismo dos lípidos - Colesterol total, Colesterol-LDL, Colesterol- HDL, Triglicéridos.....	28
6.5. Diabetes <i>mellitus</i>	29
6.5.1. Glicémia.....	29
6.5.2. Prova de Tolerância à Glucose Oral.....	29
6.5.3. Hemoglobina Glicada.....	30
6.6. Função hepática.....	30

6.6.1. Marcadores de lesão hepatocelular- Transaminases, fosfatase alcalina e γ -glutamyltransferase.....	30
6.6.2. Síntese Hepática - Albumina e Tempo de protrombina.....	31
6.6.3. Excreção da bilirrubina.....	31
6.6.4. Destoxificação da Amónia.....	31
6.7. Metabolismo mineral.....	32
6.7.1. Cálcio.....	32
6.7.2. Fosfato.....	32
6.7.3. Magnésio.....	33
7. Microbiologia.....	34
7.1. Controlo de qualidade.....	34
7.2. Exame microscópico direto.....	34
7.3. Coloração de Gram.....	34
7.4. Coloração Ziehl-Neelsen.....	35
7.5. Coloração de Azul de Lactofenol.....	35
7.6. Meios de cultura.....	35
7.7. Testes de identificação presuntiva.....	37
7.8. Antibiogramas.....	38
7.9. Produtos biológicos.....	39
7.9.1. Urina.....	39
7.9.2. Exsudados Vaginais, Retais e Uretrais.....	40
7.9.3. Infecções do trato respiratório.....	42
7.9.3.1. Exsudados Nasofaríngeos.....	42
7.9.3.2. Expetoração.....	43
7.9.4. Fezes.....	43
7.9.4.1. Pesquisa de Rotavirus e Adenovirus nas fezes.....	44
7.9.4.2. Pesquisa de <i>Helicobacter pylori</i> nas fezes.....	44
8. Conclusão.....	45
9. Bibliografia.....	46
10. Anexo.....	51

Índice de Figuras

Figura 1 - Mecanismos conducentes a proteinúria : (A) Proteinuria Glomerular e (B) Proteinúria Tubular.....	23
Figura 2 - Perfil normal da eletroforese das proteínas plasmáticas.....	26

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Equipamentos usados para analisar as diferentes amostras na Avelab.....	18
Tabela 2 - Meios e caldos usados no laboratório Avelab e a sua função.....	36
Tabela 3 - Provas de identificação bacteriana usada no Laboratório Avelab e a sua função.....	38
Tabela 4 - Cartas de identificação e respetivo TSA utilizado no laboratório Avelab...	39
Tabela 5 - Produto Biológico do trato urinário com o seu método de colheita e processamento respetivo.....	40
Tabela 6 - Produtos Biológicos do trato genital com os seus métodos de colheita e processamento respetivo.....	41
Tabela 7 - Produto Biológico do trato respiratório superior com o seu método de colheita e processamento respetivo.....	42
Tabela 8 - Produto Biológico do trato respiratório inferior com o seu método de colheita e processamento respetivo.....	43
Tabela 9 - Produto Biológico trato gastrointestinal com o seu método de colheita e processamento respetivo.....	44

Abreviaturas

ALP: Fosfatase alcalina

ALT: Alanina Aminotransferase

Apo (a): Apoproteína (a)

AST: Aspartato Aminotransferase

BNPs: Peptídeos natriuréticos cerebrais

CK: Creatina Cinase

CPR: Proteína C Reativa

cTnl: Troponina I cardíaca

cTnT: Troponina T cardíaca

DGS: Direção Geral de Saúde

DM: Diabetes *mellitus*

EDTA: Anticoagulante Ácido Etilenodiaminotetracético Tripotássio

HbA1c: Hemoglobina Glicada

HDL: Lipoproteínas de alta densidade

IDL: Lipoproteínas de densidade intermédia

Ig: Imunoglobulinas

ITU's: Infeções do trato urinário

LCR: Líquido Cefalorraquidiano

LDL: Lipoproteínas de baixa densidade

LPL: Lipoproteína Lipase

MRSA: *Staphylococcus aureus* metilina resistente

PTH: Hormona paratiróide

TG: Triglicerídeos

TP: Tempo de protrombina

TSA: Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana

TTPA: Tempo de Tromboplastina parcial ativado

VLDL: Lipoproteínas de densidade muito baixa

γ GT: γ -glutamilttransferase

Resumo

O presente relatório destina-se a descrever as tarefas realizadas durante o estágio curricular do Mestrado de Análises Clínicas, da Faculdade de Farmácia, da Universidade de Coimbra, que decorreu durante 6 meses no Laboratório central da Avelab, Laboratórios Médicos de Análises Clínicas em Aveiro. Estes 6 meses de estágio permitiram adquirir e aperfeiçoar aptidões sobre trabalho em equipa, as diferentes formas de processamento de amostras, os controlos de qualidade interna e externa, a validação e a aquisição de competências em várias áreas laboratoriais, como Imunologia, Bioquímica, Hematologia e Microbiologia. Nele abordo as fases pré-clínica, fase clínica e pós-clínica e serão descritas com mais detalhe as atividades desenvolvidas nas áreas de Bioquímica e Microbiologia.

Palavras-chave: Análises Clínicas, Bioquímica, Microbiologia, Avelab.

Abstract

This report is intended to describe the tasks carried out during the curricular internship of the Master's in Clinical Analysis of Pharmacy the Faculty of the University of Coimbra. This internship was for 6 months in Avelab Clinical Analysis Laboratory. During this time, it allowed me the acquisition and improvement of teamwork skills, different ways of processing samples, internal and external quality controls, validation, acquisition of various laboratory skills in areas such as Immunology, Biochemistry, Hematology and Microbiology. In this report I will describe the pre-analytical, analytical, post-analytical phases and in more detail the activities developed in the areas of Biochemistry and Microbiology.

Keywords: Clinical Analysis, Biochemistry, Microbiology, Avelab.

I. Introdução

Ao longo dos anos as análises clínicas, tornaram-se indispensáveis na área da saúde, auxiliando no diagnóstico clínico, na terapêutica e na monitorização das patologias. Estas permitem uma rápida obtenção de resultados através de uma prática laboratorial eficaz e rigorosa. Com métodos cada vez mais sensíveis, auxiliados por equipamentos automatizados, é possível simultaneamente analisar um elevado número de amostras e reduzir o manuseamento e a percentagem de erros por parte dos técnicos.

O presente relatório de estágio descreve as tarefas realizadas ao longo de 6 meses na Avelab, Laboratórios Médicos de Análises Clínicas em Aveiro no âmbito curricular do Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

O estágio permitiu-me consolidar informação, adquirir novos conhecimentos e integrar-me na rotina laboratorial nas áreas de Imunologia, Hematologia, Bioquímica e Microbiologia. As áreas de Bioquímica e Microbiologia são abordadas de forma mais aprofundada, assim como o que acontece desde a fase pré-analítica até à fase pós-analítica.

2. Caracterização do laboratório de estágio

O estágio curricular decorreu no Laboratório central da Avelab, Laboratórios Médicos de Análises Clínicas. A Avelab iniciou atividade em 1956, em Aveiro, por uma equipa de médicos que têm especialização em análises clínicas, técnicos superiores de laboratório, enfermeiros e pessoal administrativo. O laboratório central localiza-se na Rua Cerâmica do Vouga n.º13 3080-011 Aveiro, havendo mais de 120 postos de colheita espalhados pelo país. A AVELAB dispõe de um sistema de gestão da qualidade segundo a Norma ISO 9001, proporcionando assim um rigoroso seguimento e controlo de todos os processos que se realizam.

A Direção do laboratório é assegurada por especialistas em Análises Clínicas nomeadamente um Diretor Clínico e três farmacêuticos especialistas.

O laboratório central é dividido nas aéreas da Hematologia, Bioquímica, Imunologia e Microbiologia. Possui uma sala de receção aos utentes, quatro salas de colheita, uma sala de triagem de amostras, uma aérea administrativa, gabinetes para a equipa clínica, laboratórios para cada uma das aéreas acima referidas e salas de lavagem e desinfeção de materiais. O laboratório funciona todos os dias uteis com o horário das 7h30 às 19h e aos sábados das 8h às 13h. A equipa efetua colheitas em domicílios e lares de idosos, realizando também análises para hospitais e clínicas privadas e no âmbito da medicina do trabalho.

2.1. Fase pré-analítica

Na fase pré-clínica é efetuado o registo do paciente no sistema informático, todas as análises que lhe foram prescritas e outras informações pertinentes para a obtenção de um resultado laboratorial fidedigno. Através desse registo são geradas várias etiquetas que possuem um código de barras, o nome, o número do processo e o posto de colheita onde foi efetuada a recolha, que vão permitir identificar as respetivas amostras.

Na colheita, o responsável explica de forma simples e clara todo o procedimento que vai ser executado de modo que o paciente entenda. O nome e a data de nascimento devem ser confirmados e corresponder aos indicados na requisição da colheita e nas etiquetas de identificação que vão para os tubos e recipientes da amostra, permitindo obter resultados válidos. Podem ser recolhidos diferentes tipos de amostras, sendo as mais comuns: o sangue total, soro ou plasma, urina, fezes, exsudatos (uretral, nasofaríngeo, vaginal, etc.) e secreções corporais, como expectoração e espermogramas. É importante salientar que quando se trata

de uma colheita de sangue há uma determinada ordem específica de colheita de tubos de vácuo.

Após a colheita as amostras devem ser transportadas para a área de processamento o mais rápido possível, de modo a prevenir o deterioramento de analitos por efeito da temperatura elevada. Quando vêm de postos de colheita, as amostras devem estar devidamente identificadas, refrigeradas ou congeladas e na posição vertical para evitar contaminações. No entanto, o laboratório deve ter critérios para a rejeição de amostras como nos casos de: volume insuficiente, tubo de colheita incorreto, erro de identificação do paciente, amostras com hemólise e lipêmicas, armazenamento ou transporte impróprios.

Ao chegarem ao laboratório as amostras são direcionadas para a triagem onde a sua qualidade é devidamente inspecionada de forma a não haver qualquer erro. Após essa inspeção, as amostras são encaminhadas para as diferentes áreas do laboratório (Bioquímica, Hematologia, Urinálise, etc.), sendo que em cada setor vão ser triadas e retiradas as respectivas alíquotas identificadas com o respetivo processo. No caso dos testes que não possam ser realizados no mesmo dia, as amostras são imediatamente congeladas a -20°C .

2.2. Fase Analítica

Depois das amostras serem devidamente triadas em cada setor, são encaminhadas para os respetivos equipamentos (Tabela I) e são distribuídas consoante os exames a realizar. Existem testes tais como, VDRL, Coombs, entre outros que precisam de ser realizados manualmente e outros muito específicos, como vitamina C, catecolaminas, análises a cálculos renais, entre outros que a Avelab não realiza. Neste caso através de várias parcerias fora do país como por exemplo com o Laboratório Cerba Internacional - Oficinas centrales, em Barcelona, as amostras são previamente separadas em alíquotas e enviadas através de um transportador para o laboratório creditado.

Tabela I - Equipamentos usados para analisar as diferentes amostras na Avelab.

Setor	Equipamento	Análise
Bioquímica	ALINITY c	Química clínica
	ALINITY i	Imunoensaio
	Capillarys Sebia 2	Eletroforese de proteínas
Microbiologia	VITEK® 2 Compac	Identificação microbiana e de testes de sensibilidade aos antibióticos fiáveis
	Aution Max AX-4030	Analizador de urina tipo II
	SediMAX conTRUST	Analizador de sedimentos urinários
Hematologia	Sysmex XN-2000	Hemograma
	Hb NEXT	Hemoglobina glicada
	VES-MATIC CUBE 30	Velocidade de sedimentação
	STA Compact Max	Hemostasia (TP, aPTT, D-Dímeros, fibrinogénio, Antitrombina III, Fator VW, Fator VIII)
Imunologia	Phadia 250	Testes de autoimunidade

2.3. Fase pós-analítica

Nesta fase, os valores que os equipamentos registam durante a análise são automaticamente partilhados para o computador, ficando assim os resultados no processo do paciente. No caso dos testes realizados manualmente os resultados são introduzidos no sistema pelo técnico. Após a obtenção dos resultados, estes devem ser validados pelos técnicos superiores, com supervisão dos especialistas em Análises Clínicas, que relacionam os diferentes resultados obtidos com o historial clínico do paciente de forma a obter um diagnóstico correto.

3. Controlo de qualidade

No laboratório é necessário avaliar e controlar todas as etapas do processo desde a fase pré-analítica até à fase pós-analítica. Existem diversos mecanismos para assegurar a qualidade do processo, nomeadamente a utilização de manuais de procedimentos, Controlo de Qualidade Interno e Externo e a formação contínua dos técnicos superiores.

3.1. Controlo de qualidade Interno e Externo

O controlo de qualidade interno é necessário para alcançar uma maior precisão dos resultados obtidos pelos equipamentos. Deve ser feita uma calibração e controlo sempre que se utiliza um novo kit e novos lotes de reagentes. É importante que os controlos sejam analisados nas mesmas condições em que se encontram as amostras, para haver validação

analítica fidedigna dos resultados dos pacientes. Já os resultados devem estar dentro das regras de Westgard, podendo ser apresentados em numeração ou gráficos.

A avaliação externa permite avaliar a exatidão dos resultados obtidos processados pelo equipamento, que posteriormente vão ser comparados aos valores obtidos por outros laboratórios que estão integrados no mesmo programa.

4. Hematologia

A hematologia é a área científica que se dedica ao estudo do sangue dos seres vivos e das suas patologias. Nesta área, a amostra de eleição é o sangue total que é colhido num tubo de tampa roxa que contem o anticoagulante Ácido Etilenodiaminotetracético Tripotássio (EDTA), para a determinação do hemograma, da velocidade de sedimentação e da hemoglobina glicada (HbA1c). A amostra é centrifugada e o plasma é usado para vários testes, como na determinação do grupo sanguíneo pelo sistema ABO e no teste de Coombs direto e indireto. No caso da hemóstase é utilizado o tubo com tampa azul que contém o anticoagulante citrato de sódio, para avaliar a coagulação, como tempo de Protrombina (TP), o tempo de Tromboplastina parcial ativado (aPTT), os D-Dímeros, o fibrinogénio, TT, a Antitrombina III, o Fator VW e o Fator VIII.

Neste sector, tive a oportunidade de incorporar e de realizar todo o tipo de tarefas manuais como, processar as amostras para colocar nos diversos equipamentos automáticos (Tabela I) para a determinação dos parâmetros hematológicos, realização de esfregaços sanguíneos e sua observação microscópica, determinação dos grupos sanguíneos, realização do teste de Coombs direto e indireto, execução de procedimentos do controlo de qualidade, assim como manutenção dos aparelhos. A interpretação e a comparação de resultados obtidos de outras áreas são de grande importância neste setor para os resultados serem validados.

5. Imunologia

A área de Imunologia é extremamente importante porque tem como principal objetivo o estudo do sistema imunológico, cuja função é a defesa do hospedeiro. Este é composto por um conjunto de células e moléculas que respondem de forma coletiva e coordenada a substâncias que são reconhecidas como estranhas ao nosso organismo. O sistema imunológico pode ser subdividido em dois grandes ramos: o sistema imunológico inato e o sistema imunológico adquirido (Owen *et al.*, 2013).

Nesta área no laboratório Avelab, os equipamentos utilizados são Alinity c e o Alinity i (Tabela 1), que usam diferentes métodos fotométricos, potenciométricos e de quimioluminescência, dependendo do parâmetro a analisar. Também é usado o aparelho Phadia 250, que realiza testes de autoimunidade e marcadores de doenças autoimunes. Os principais produtos biológicos usados são o soro e o plasma.

Neste setor, realizei a análise de vários parâmetros incluídos nos seguintes grupos de patologias: alergia, autoimunidade, serologia infecciosa, endocrinologia, função cardiovascular, serologia, oncologia, monitorização terapêutica de medicamentos e pesquisa de drogas de abuso, entre outros. Para além da dinâmica diária, aprendi a importância funcionamento do controlo de qualidade e da validação dos resultados.

6. Bioquímica

Nesta área estuda-se as várias vias metabólicas e suas alterações que podem originar patologias, desde a função hepática, renal, pancreática, cardiovascular, entre outras. O soro, plasma, urina são as amostras processadas neste sector tal como o Líquido Cefalorraquidiano (LCR), que são obtidas após centrifugação. As amostras são distribuídas em dois principais equipamentos que são o Alinity c e o Alinity i (Tabela 1) que usam diferentes métodos como, fotométricos e potenciométricos e de quimioluminescência respetivamente, dependendo do analito a analisar (Anexo).

O método potenciométrico é usado clinicamente com a finalidade de analisar os iões potássio, sódio e cloreto. A Potenciometria permite quantificar a concentração de iões numa solução através da diferença de potencial entre o eléctrodo indicador (seletivo de iões) e o eléctrodo de referência, estando ambos mergulhados na solução a analisar (solução do analito), através da qual não passa corrente eléctrica (D’Orazio and Meyerhoff, 2015).

Outro método usado pelo equipamento Allinity é o método fotométrico. Este método consiste na medição da diminuição da absorção de um feixe de luz (ultravioleta ao visível, infravermelho), que, é provocada pela quantidade de analito que está numa solução ou líquido (Skoog *et al.*, 2018).

A fotometria usa a lei de Beer-Lambert, que permite calcular os coeficientes obtidos a partir da medição de transmitância, esta consiste na razão entre a quantidade de luz transmitida por uma solução/amostra e a quantidade de luz que incide nesta (Kricka and Park, 2015). Uma relação entre a absorvância e a concentração do analito é, então, estabelecida por uma função de calibração específica do teste para obter medições altamente precisas (Skoog *et al.*, 2018).

A quimioluminescência, é um método que tem sido amplamente utilizado no desenvolvimento de imunoenaios. Consiste na emissão de luz quando um elétron retorna de um nível de energia excitado ou superior para um nível de energia inferior sendo que, a excitação é causada por uma reação química (uma oxidação de um composto orgânico) e não por foto iluminação (Kricka and Park, 2015).

6.1. Equilíbrio Hidro Eletrolítico

O equilíbrio de fluidos e eletrólitos é fundamental para o tratamento de qualquer paciente gravemente doente. A dosagem sérica de sódio (Na^+), potássio (K^+), cloreto (Cl^-) e frequentemente bicarbonato (HCO_3^-), constituem o ionograma sérico que fornece muitas informações sobre o estado hídrico e eletrolítico de um paciente (Gaw *et al.*, 2013). Estes contribuem para a manutenção da pressão osmótica e distribuição da água pelos vários compartimentos do corpo, encontram-se principalmente na forma de íões livres (Scott *et al.*, 2008).

O sódio existe em maior quantidade no fluido extracelular, desempenha um papel crítico na manutenção do volume e da pressão sanguínea, regulando osmoticamente o movimento passivo da água com concentrações que variam entre 133 e 146 mmol/L num indivíduo normal (Rajeev *et al.*, 2013). O Na^+ é filtrado pelo glomérulo e é reabsorvido nos túbulos proximais renais com o Cl^- . Este movimento de é acompanhado passivamente pela água (Scott *et al.*, 2008).

A hiponatremia é causada devido à perda de sódio ou à retenção da água, por uma perturbação no equilíbrio eletrolítico. A retenção hídrica tem associada a síndrome de secreção inapropriada de ADH (SIADH) e a perda de Na^+ pode estar associada a perdas gastrointestinais (Gaw *et al.*, 2013).

Por outro lado, a hipernatremia ocorre quando as perdas de água são superiores às de sódio, o que pode acontecer na diurese osmótica, como constatado nos pacientes com diabetes *mellitus* mal controlados. Quando há aumento da concentração sérica de Na^+ sem ingestão de água adequada, por exemplo no hiperaldosteronismo primário (síndrome de Conn), há secreção excessiva de aldosterona e conseqüente retenção de sódio pelos túbulos renais (Gaw *et al.*, 2013).

O potássio é o catião que existe em maior concentração no fluido intracelular. A sua concentração nos eritrócitos é mais elevada do que no plasma, pelo que para o seu doseamento não podem ser utilizadas amostras hemolisadas (Lorenz, 2009). O K^+ é absorvido

pelo trato gastrointestinal e é rapidamente distribuído pelo organismo, sendo o excesso excretado pelos rins (Scott *et al.*, 2008).

Quando existe uma situação de hipercaliémia significa que as concentrações de K^+ estão elevadas no plasma, o que pode ser causado pela saída deste íon da célula para o fluido extracelular. A esta condição estão associadas doenças como, insuficiência renal, acidose metabólica, hipoaldosteronismo, entre outras (Gaw *et al.*, 2013).

O anião cloreto (Cl^-) encontra-se maioritariamente no espaço extracelular, variando as suas concentrações entre 95-108mmol/L (Lorenz, 2009). O cloreto da alimentação é absorvido, praticamente na sua totalidade, no trato gastrointestinal (Scott *et al.*, 2008).

As causas de retenção de cloreto acompanham na maioria das vezes as de retenção de sódio, logo em muitos casos de hipoclorémia ou hiperclorémia ocorre também hiponatremia ou hipernatremia porque se a concentração de sódio aumentar ou diminuir, as concentrações de cloreto variam no mesmo sentido (Lorenz, 2009).

6.2. Função renal

Os rins são responsáveis por manter a hemostasia e o equilíbrio de eletrólitos no organismo. As suas principais funções incluem ainda: formação de urina, regulação do equilíbrio hidroelectrolítico, regulação do equilíbrio ácido-base, excreção de produtos do metabolismo e fármacos, e produção de hormonas (Kaplan *et al.*, 2009).

Para a avaliação da função renal, os parâmetros podem ser divididos em funções glomerulares e tubulares. Aqueles que são mais frequentes determinados no laboratório de análises são a creatinina, a ureia, o ácido úrico, a Taxa de filtração glomerular, a microalbuminúria e proteinúria.

6.2.1. Ureia, Creatinina e Ácido úrico

A ureia, que resulta do catabolismo de proteínas e aminoácidos, é filtrada pelo glomérulo, com algumas perdas a nível do trato gastrointestinal e da pele. Quando a concentração sérica da ureia está aumentada por pode ser por uma dieta rica em proteínas, aumento do catabolismo proteico e, desidratação. A sua medição isolada na urina tem pouca relevância no diagnóstico clínico, pelas razões acima citadas. No entanto, as medições séricas de creatinina fornecem melhores informações acerca da função renal (Lamb *et al.*, 2015).

O ácido úrico resulta da oxidação das bases das purinas dos ácidos nucleicos, a adenosina e guanosina. Depois, é transportado no plasma até ao rim, onde é filtrado pelo glomérulo e a secreção ocorre nos túbulos distais para a urina (Kaplan *et al.*, 2009).

O excesso de ácido úrico pode ser devido, por exemplo ao consumo de álcool, que exerce um aumento da produção metabólica (purinas endógenas, entre outras) e nos rins, uma diminuição da excreção renal que contribui para Insuficiência Renal (Lamb *et al.*, 2015).

A creatinina é sintetizada nos rins, fígado e pâncreas através de duas reações enzimáticas. Quando ocorre a contração muscular, a creatina livre presente no músculo converte-se espontaneamente em creatinina, motivo pela qual a concentração de creatinina é influenciada pela massa muscular (Lamb *et al.*, 2015).

A creatinina é filtrada a nível glomerular e não é absorvida pelos túbulos renais. Assim, apenas uma pequena percentagem da creatinina urinária provém da secreção tubular (Kaplan *et al.*, 2009). O teste da clearance da creatinina permite avaliar a Taxa de Filtração Glomerular (TFG), porque é mais sensível do que a medição da creatinina plasmática, e não se justifica a sua medição se a creatinina plasmática apresentar resultados acima dos valores de referência. O teste de clearance faz-se quando o paciente não apresenta sinais visíveis de doença renal, e os valores de concentração de creatinina e de ureia estão dentro dos valores de referência no plasma. A amostra de eleição é a urina 24 horas (Kaplan *et al.*, 2009).

6.2.2. Proteinúria e Microalbuminúria

A permeabilidade glomerular e a capacidade de filtração dos rins são processos que ajudam a controlar a quantidade de proteína perdida na urina. A membrana basal do glomérulo onde o sangue é filtrado não permite a passagem de albumina e de proteínas de elevado peso molecular. Assim, a proteinúria, que se define por um excesso de proteínas na urina, pode ser usada como marcador de lesão renal e prediz a sua evolução. É fundamental avaliar a lesão renal em pessoas com hipertensão arterial, doença renal e, diabetes, porque são doenças crónicas que tendem a causar alterações histológicas e funcionais nos glomérulos (Gaw *et al.*, 2013).

Na proteinúria glomerular, a permeabilidade glomerular e está aumentada, fazendo com que as proteínas que normalmente não se encontram na urina sejam filtradas. Além disso, as proteínas que antes existiam em concentrações baixas passam a estar em concentrações altas, como por exemplo, no caso da albuminúria (Figura 2A) (Gaw *et al.*, 2013).

Por outro lado, existe também proteinúria tubular onde as beta-2-microglobulina e a alfa-1-microglobulina, que normalmente não são filtradas porque se encontram em concentrações baixas e podem ser filtradas e não são reabsorvidas por falha nos mecanismos de reabsorção tubular logo, vão aparecer na urina e permitem detetar lesão tubular (Figura 2B) (Gaw *et al.*, 2013).

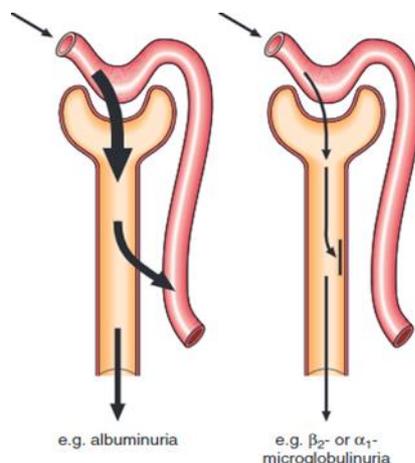


Figura 1- Mecanismos conducentes a proteinúria : (A) Proteinúria Glomerular e (B) Proteinúria Tubular (Adaptado de Gaw *et al.*, 2013).

Na diabetes o parâmetro determinado com mais frequência para avaliação da função renal é a pesquisa de microalbuminúria, que consiste na excreção mínima de albumina na urina. A microalbuminúria, não é detetada pelas tiras reagentes (Kaplan *et al.*, 2009).

6.2.3. Análise sumaria de urina

A Análise Sumária da Urina ou Urina Tipo II é feita pelo equipamento automatizado Aution Max AX-4030, é importante para a monitorização de uma grande variedade de patologias, tais como lesão renal aguda e crónica, infeções do trato urinário, auxílio na monitorização da diabetes entre outras. A amostra de eleição é a primeira urina da manhã colhida por jato intermédio para um contentor estéril. Esta análise compreende uma análise macroscópica onde são avaliadas características, físicas tais como (cor, aspecto e odor), bem como análises bioquímicas (pH, glicose, bilirrubina, sangue (hematúria), corpos acetónicos, nitritos, leucócitos, urobilinogénio e proteínas) e análise do sedimento urinário (cristais, cilindros, glóbulos vermelhos e brancos e células epiteliais). A sumária de urina tipo II é, também usada para análises microbiológicas, útil no diagnóstico de infeções (Gaw *et al.*, 2013).

6.3. Proteínas plasmáticas

As proteínas plasmáticas existem na corrente sanguínea e têm funções com importância biológica. As de maior relevância são as imunoglobulinas (α , β e γ -globulinas) e a albumina. O objetivo da sua determinação é saber a capacidade de síntese do fígado, porque é onde maior parte das proteínas plasmáticas são sintetizadas, estas originam proteínas de fase aguda que reagem rapidamente a um processo inflamatório. Podem ser proteínas de fase aguda positivas como por exemplo, proteína C reativa ou podem ser proteínas de fase negativa que, existem em menor concentração como por exemplo a albumina. O doseamento das proteínas plasmáticas permite a ajuda no diagnóstico de lesões renais, insuficiência hepática, imunodeficiências congénitas ou adquiridas, entre outras (Hortin 2015).

6.3.1. Albumina

A albumina é uma proteína com baixo peso molecular que existe em elevada concentração no plasma sendo sintetizada no fígado. Tem a capacidade de fazer o transporte de vários iões e substâncias lipossolúveis (cálcio, hormonas, fármacos, bilirrubina não conjugada e ácidos gordos), mantem a pressão oncótica do plasma e tem uma grande capacidade tampão graças a sua composição aminoacídica (Hortin 2015).

Quando existe uma diminuição da proteína designa-se hipoalbuminémia: pode estar associada a causas tais como processos inflamatórios (significa que não está diminuída a sua síntese, há fuga para o espaço intersticial), diminuição da síntese por má nutrição, má absorção (no caso de enteropatias) e insuficiência hepática, doença renal e sobrehidratação. Por outro lado, a hiperalbuminémia é causada desidratação, por torniquetes prolongados e dietas hiperproteicas (Hortin 2015).

6.3.2. α , β e γ globulinas

As frações das imunoglobulinas podem ser divididas em específico em α -1, α -2, β e γ -globulinas (Hortin 2015).

No grupo α -1 globulinas existem várias proteínas importantes, uma delas é a α -1 antitripsina. Esta tem a função de inibir as proteases e o seu aumento no plasma está relacionado com processos inflamatórios. No caso contrário quando há uma diminuição pode indiciar doenças hepáticas e patologias pulmonares (Hortin 2015).

Na fração das α -2 globulinas as proteínas que mais se estudam, quando há um aumento significativo devido a uma lesão ou inflamação, são a haptoglobina e a α -2-macroglobulina, que inibe as proteases do plasma (Hortin 2015).

Nas β -globulinas há várias proteínas de relevância como por exemplo a transferrina, cuja função é o transporte de ferro e seu armazenamento no fígado. É uma proteína de fase aguda negativa cuja concentração diminui situações de infecção. Por outro lado, também pode estar diminuída em patologias hepáticas e renais. O estudo desta proteína ajuda no diagnóstico de anemias por deficiência de ferro, em que o valor de transferrina está aumentado, mas o valor da saturação está diminuído. Em outra situação a anemia pode ser de uma patologia crônica em que a transferrina pode ter valores normais ou baixos, mas a saturação está elevada (Hortin 2015).

As γ -globulinas mais predominantes no plasma são as imunoglobulinas IgG, IgA e IgM. (Gaw et al., 2013). Estas, são glicoproteínas sintetizadas pelos linfócitos B utilizadas pelo sistema imunológico. Estruturalmente são compostas por duas cadeias leves idênticas e por duas cadeias pesadas, também idênticas. Quando há uma diminuição das gamaglobulinas, por anomalias genéticas ou adquiridas, pode haver comprometimento da resposta imune. Pelo contrário, quando os valores estão aumentados pode ser por uma infecção, inflamação, doenças autoimunes e neoplasias (mieloma múltiplo) (Gaw et al., 2013).

6.3.3. Proteína C Reativa

A proteína C Reativa (PCR) é sintetizada no fígado, tal como maior parte das proteínas plasmáticas. Quando existe uma situação de inflamação ou infecção, aumenta bastante. Esta circula maioritariamente no plasma, fazendo com que apenas com uma punção venosa consigamos dosear a sua concentração e monitorizar o processo inflamatório (Hortin 2015).

Em determinação de situações, como início de um enfarte agudo do miocárdio, a concentração plasmática de PCR pode ser baixa, por isso desenvolveram-se métodos de alta sensibilidade, a proteína c reativa de alta sensibilidade (hsCRP), que podem ser usados como biomarcadores de previsão (Hortin 2015).

6.3.4. Eletroforese das proteínas

A eletroforese de proteínas ou proteinograma é um método simples feito pelo equipamento Capillarys Sebia 2 que, permite separar as proteínas do soro. No gel de agarose a amostra é colocada juntamente com um corante e um marcador de cada uma das proteínas, sendo posteriormente aplicada uma corrente elétrica com o objetivo de estimular a separação das

proteínas de acordo com o seu potencial elétrico, tamanho e peso molecular. Após a separação, as proteínas conseguem ser visualizadas através de um padrão de bandas, indicando a presença ou ausência das proteínas. O resultado são cinco frações de proteínas: albumina, α -1, α -2, β e γ -globulinas (Figura 2) (Bazydlo and Landers, 2015).

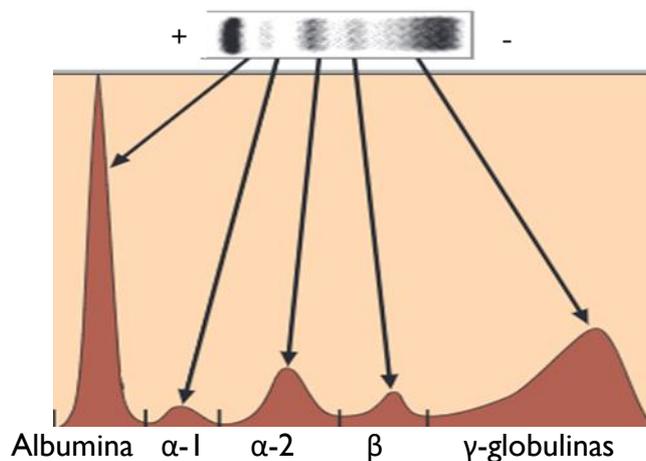


Figura 2 - Eletroforese das proteínas plasmáticas: perfil normal. (Adaptado de (Gaw *et al.*, 2013))

6.4. Doenças cardíacas

6.4.1. Biomarcadores Cardíacos: Creatinina Cinase, Troponina, Peptídeos natriuréticos

A creatina cinase (CK) é uma enzima que está presente no músculo-esquelético, músculo cardíaco e no cérebro. Quando existe uma lesão, várias isoenzimas específicas vão ser libertadas para a corrente sanguínea tais como: CK-MM é mais específica para a lesão músculo-esquelético, a CK-BB específica para a lesão cerebral e a CK-MB específica para lesão do miocárdio. Por outro lado, os valores desta enzima podem estar alterados pela prática de exercício físico, logo é preciso um conjunto de outros biomarcadores para ajudar no diagnóstico correto (Apple *et al.*, 2015).

Um outro marcador cardíaco para ajudar no diagnóstico quando há uma lesão cardíaca é a troponina. Existem duas a nível cardíaco que são a Troponina T (cTnT) e a Troponina I (cTnI) e uma específica a nível da contração muscular a Troponina C. Estando as cTnT e a cTnI localizadas nos cardiomiócitos, quando existe dano nas células cardíacas, estas são lançadas para a corrente sanguínea onde permanecem altas durante 1-2 semanas (Apple *et al.*, 2015).

Os peptídeos natriuréticos cerebrais (BNPs) são libertados para a corrente sanguínea quando existe *stress* cardíaco, mais propriamente distensão. Também é possível determinar a cadeia N-terminal inativa do pro-BNP (NT-proBNP), que quando está aumentada também é

libertada para a corrente sanguínea e é muito importante no diagnóstico de insuficiência cardíaca (Apple *et al.*, 2015).

6.4.2. Metabolismo dos lípidos - Colesterol total, Colesterol-LDL, Colesterol-HDL, Triglicéridos

O perfil lipídico é útil no diagnóstico de doenças cardiovasculares como por exemplo, da aterosclerose, que é caracterizada por uma acumulação de lípidos nas paredes das artérias. As lipoproteínas principalmente envolvidas neste processo são as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) que são ricas em colesterol. A sucessão de reações de oxidação promovem a sua acumulação e modificação na parede arterial (Remaley *et al.*, 2015).

O colesterol tem origem na alimentação e é fundamental à manutenção da integridade das membranas plasmáticas, circula na corrente sanguínea incorporado nas lipoproteínas, permite a síntese de sais biliares e é um precursor das hormonas esteroides. Várias lipoproteínas em circulação: a) as LDL, que são lipoproteínas que têm elevado teor de colesterol, transportando-o até células, onde pode ficar acumulado originando doenças cardiovasculares; b) as lipoproteínas de alta densidade (HDL), que fazem o transporte reverso do colesterol, ou seja, o retorno do colesterol depositado nas células periféricas para o fígado onde os lípidos vão ser metabolizados, o que pode ter um efeito protector relativamente ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares; c) existem as lipoproteínas de densidade intermédia (IDL) que são produzidas na corrente sanguínea e vão ser endocitadas e metabolizadas no fígado ou convertidas em circulação em LDL; d) os Quilomicrons são produzidos no intestino delgado a partir dos lípidos consumidos da dieta (colesterol, fosfolípidos e triglicéridos (TG)), e são libertados para a linfa e depois para a corrente sanguínea e transportam TG no sangue e por fim e) as lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) que são produzidas no fígado, maioritariamente a partir de hidratos de carbono da dieta e transportam TG (produzidos no fígado) no sangue (Remaley *et al.*, 2015). As IDL, os quilomicrons e as VLDL não são habitualmente determinadas na prática analítica.

Os TG incorporados nestas lipoproteínas são transportados na corrente sanguínea, e são hidrolisados pela enzima lipoproteína lípase (LPL) que faz assim o catabolismo dos quilomicrons e das VLDL. Os TG são degradados em glicerol e ácidos gordos, que vão para o fígado e incorporados nos tecidos musculares e adiposos respetivamente. Assim sendo, as VLDL remanescentes podem voltar para o fígado ou por outro lado, podem continuar na circulação e dar origem às lipoproteínas de densidade intermédia (IDL) e estas por ação da

LPL vão dar origem às LDL. Logo, altas concentrações de TG podem levar ao desenvolvimento de aterosclerose porque contribuem para a formação de LDL (Remaley et al., 2015).

6.5. Diabetes mellitus

A diabetes *mellitus* (DM) é classificada como um conjunto de distúrbios metabólicos caracterizados por hiperglicemia acompanhados de alterações no metabolismo das proteínas e dos lípidos (qualquer tecido ou órgão pode ser afetado). Podem ser classificados em: diabetes tipo I, caracterizada por uma insulinopenia absoluta ou diabetes tipo II, onde pode existir grande resistência à insulina ou diminuição da sua produção. Também pode ser diagnosticado diabetes gestacional, porque é diagnosticada durante a gestação, entre outras (Norma 002/2011 da DGS) (Sacks 2015).

6.5.1. Glicémia

Um paciente saudável tem valores de glicémia plasmática em jejum $<110\text{mg/dl}$. Quando apresenta valores de glicemia em jejum ≥ 110 e $<126\text{mg/dl}$ considera-se que o paciente apresenta uma hiperglicemia intermédia caracterizada por uma anomalia da glicémia em jejum, com risco a desenvolver diabetes. Adicionalmente, pacientes que apresentem uma glicémia em jejum $\geq 126\text{mg/dl}$, devem repetir a análise 1 a 2 semanas depois, de modo ao diagnóstico de diabetes ser correto. Contudo um paciente que tenha uma glicémia ocasional $\geq 200\text{mg/dl}$ e que tenha sintomas tais como polidipsia, poliúria, perda ponderal entre outros, cumpre também os critérios de diagnóstico de diabetes *mellitus* (Norma 002/2011 da DGS).

6.5.2. Prova de Tolerância à Glucose Oral

A Prova de Tolerância à Glucose Oral (PTGO) é uma prova usada no diagnóstico da diabetes. As amostras que são analisadas são colheitas de sangue venoso às 0 horas (em jejum) e 2 horas após a ingestão de uma solução com 75g de glucose em menos de 5 minutos. Um paciente com glicémia abaixo de 140mg/dl considera-se saudável; quando o valor da glicémia se apresenta entre 140 e $<200\text{mg/dl}$ quer dizer que o paciente tem uma anomalia da tolerância da glucose. Por outro lado, glicémias $\geq 200\text{mg/dl}$ fazem diagnóstico de diabetes *mellitus* (Norma 002/2011 da DGS).

Nas grávidas, a PTGO deve ser realizada até às 24-28 semanas de gestação em que não apresentem alterações no metabolismo da glucose, colheitas a 3 horas diferentes são obrigatórias. O resultado de valores da glucose às 0 horas inferior de 92mg/dl , valores de glucose abaixo de 180mg/dl após 1 hora e valores de glucose inferiores de 153mg/dl após 2

horas são considerados saudáveis. Para fazer o diagnóstico de diabetes gestacional basta um destes valores estar aumentado (Norma 002/2011 da DGS) (Sacks 2015).

6.5.3. Hemoglobina Glicada

A hemoglobina glicada (HbA1c) resulta do aumento da concentração de glicose no interior do eritrócito e a sua interação, com a terminal amina da folha β da hemoglobina. Esta é uma reação irreversível sendo que a hemoglobina glicada apenas, quando o eritrócito é destruído (tempo de meia vida de 120 dias). Assim a determinação da HbA1c e o controle glicémico dos últimos 3 meses é útil no diagnóstico e monitorização da doença (Sacks 2015).

Um paciente com valores de HbA1c $<6,5\%$ é considerado saudável; no entanto, pacientes com valores de HbA1c $\geq 6,5\%$ devem repetir a colheita distinta 1-2 semanas para ser possível fazer diagnóstico de diabetes *mellitus* (Norma 033 /2011 da DGS).

6.6. Função hepática

O fígado é a maior glândula do organismo e, tem funções fisiológicas muito importantes, como metabolismo dos hidratos de carbono e manutenção da glicémia dentro dos valores fisiológicos, síntese e metabolismo das proteínas, destoxificação da amónia, metabolismo de xenobióticos e excreção da bilirrubina e dos sais biliares. As alterações destas funções podem ser determinadas através do doseamento de marcadores hepático, alguns mais associados a lesões hepatocelulares, outros a lesões colestáticas e outros ainda a défices de função hepática (Dufour 2015).

6.6.1. Marcadores de lesão hepatocelular- Transaminases, fosfatase alcalina e γ -glutamyltransferase

A lesão hepatocelular é caracterizada pela destruição dos hepatócitos, dos canalículos biliares e obstrução a nível (intra-hepática ou pós-hepática) destes. A Aspartato Aminotransferase (AST) e a Alanina Aminotransferase (ALT), como se encontram no citosol dos hepatócitos, vão para a corrente sanguínea quando há lesão hepática, no entanto, não são específicas de alterações hepáticas porque existem em outros órgãos (coração, músculo esquelético). Por este motivo, não validam por si só uma lesão hepática, devendo ser associadas a outros marcadores de lesão hepática (Dufour 2015).

A Fosfatase alcalina (ALP) e a γ -glutamyltransferase (γ GT) estão presentes nos ductos biliares e libertam-se quando há lesão destas estruturas, mas não são específicas do fígado pois existem em outros órgãos (por exemplo no rim e no intestino). Adicionalmente, ao doseamento da

bilirrubina é também útil no diagnóstico de lesões colestáticas é também porque conjugada nos hepatócitos é secretada para os canalículos biliares (Dufour 2015).

6.6.2. Síntese Hepática - Albumina e Tempo de protrombina

Para avaliar a síntese hepática existe um outro marcador importante que é o tempo de protrombina, porque no fígado ocorre a síntese dose fatores de coagulação II, VII, IX e X (Dufour 2015). Concluindo, valores diminuídos de albumina e valores aumentados do tempo de protrombina traduz perturbações hepáticas relativas à síntese de proteínas.

6.6.3. Excreção da bilirrubina

A bilirrubina não conjugada (indireta) é derivada do grupo heme das hemeproteínas que faz parte da hemoglobina. Devido à sua insolubilidade, é transportada na corrente sanguínea ligada à albumina, sendo direcionada para o fígado onde a albumina se dissocia da bilirrubina não conjugada e esta liga-se à ligandina. Nos hepatócitos a bilirrubina indireta sofre conjugação com ácido glucorónico, uma reacção catalisada pela uridina difosfato glucoronil transferase e dá origem à bilirrubina conjugada (direta). No fim esta, é secretada para os canalículos biliares drenando pelos ductos biliares que se unem no ducto biliar comum. Na bÍlis, a bilirrubina armazenada na vesícula biliar, sendo posteriormente excretada para o intestino (Higgins *et al.*, 2015).

A hiperbilirrubinémia conjugada pode ter origem, na diminuição da secreção pelos hepatócitos têm para os canalículos biliares ou na eliminação de bilirrubina direta. Por outro lado, a hiperbilirrubinémia não conjugada pode ocorrer da, deficiência no transporte, incorporação hepática de bilirrubina indireta, alterações na conjugação e hemólise (grupo heme) (Higgins *et al.*, 2015).

6.6.4. Destoxificação da Amónia

A amónia vem das proteínas da dieta e das proteínas endógenas, estas são biotransformadas. O ão amónia é altamente neurotóxico atravessando a barreira hematoencefálica assim, é necessário que o ão amónia seja transportado para o fígado, isto acontece através do ciclo da ureia, sendo que todas as enzimas que processam este ciclo estão localizadas no fígado mais propriamente nos hepatócitos (ocorre no interior da mitocôndria), depois é convertido em ureia e eliminado na urina (Pasquali and Longo, 2015).

Havendo uma deficiência na enzima carbamoil fosfato sintase, o ão amónia não é transformado em carbonil fosfato e fica acumulado na corrente sanguínea chama-se

hiperamonémia. Se a deficiência for na enzima ornitina transcarbamoilase, há um aumento do íon amônia e ácido urótico sendo eliminado na urina e dá origem a acidúria orótica. Temos uma insuficiência na capacidade de destoxificação hepática (Pasquali and Longo, 2015) (Dufour 2015).

6.7. Metabolismo mineral

O metabolismo mineral é regulado por hormonas como Calcitriol (1,25 dihidroxivitamina D) e a PTH (hormona paratiróide) que controlam a regulação de elementos como o cálcio, o fosfato e o magnésio (Risteli *et al.*, 2015).

6.7.1. Cálcio

O cálcio é o mineral mais abundante do corpo humano existe em grandes quantidades, cerca de 99% do cálcio disponível no organismo está armazenado nos ossos. O cálcio total plasmático existe em concentrações de 9,5mg/dl, encontra-se na forma livre (ionizado), ligado a proteínas e complexado, sendo que o cálcio livre é forma biologicamente ativa (Risteli *et al.*, 2015).

Quando as concentrações do cálcio estão aumentadas (hipercalcémia), podem-se equacionar causas como hipertiroidismo e tumores ósseos. A hipocalcemia (concentrações baixas) pode ter como causas a hipoalbuminémia, insuficiência renal crónica e hipoparatiroidismo (Risteli *et al.*, 2015).

6.7.2. Fosfato

O fosfato tem duas formas, o fosfato inorgânico que é o maior componente e forma hidroxiapatite e o fosfato orgânico existente nos ácidos nucleicos e, fosfolípidos, é sendo regulado pela PTH (Risteli *et al.*, 2015).

As hipofosfatémias podem ser devido ao deslocamento de fosfato do espaço extracelular para o intracelular, podem ser devidas a perdas renais por excesso de eliminação e diminuição da absorção intestinal, pelo que ambas podem ser devidas ao excesso de produção de PTH. Por outro lado, quando há hiperfosfatémia as concentrações estão altas resultam por exemplo hipoparatiroidismo e baixa eliminação renal (Risteli *et al.*, 2015).

6.7.3. Magnésio

O magnésio é um catião, a maior parte deste no organismo não tem carga e está ligado a proteínas ou armazenado nos ossos, logo no sangue circula numa concentração baixa. Então as suas concentrações dependem em grande parte, da maneira pela qual o organismo obtém magnésio, de por exemplo alimentos e nas quantidades que é excretado na urina e nas fezes (Risteli *et al.*, 2015).

A hipomagnesiémia (baixos níveis de magnésio) acontece porque este inibe competitivamente a entrada cálcio no neurónio, perdas renais (por exemplo diuréticos) e gastrointestinais (por exemplo síndromes de mal absorção). Pelo contrário, concentrações elevadas (hipermagnesiémia) podem ter várias causas, mas geralmente ingestão excessiva resultante da administração por exemplo de antiácidos (Risteli *et al.*, 2015).

7. Microbiologia

O ser humano pode ser colonizado por diversos tipos de microrganismos como bactérias, fungos, parasitas e vírus que existem no ambiente.

Na microbiologia, as amostras recebidas são de grande variedade como, urinas, fezes, exsudados, expetoração, fragmentos de unhas, entre outras. Estas seguem procedimentos que permitem o isolamento de diferentes microrganismos de forma a determinar as resistências e sensibilidades aos antibióticos para auxílio na terapêutica.

As amostras são distribuídas em equipamentos automatizados (Tabela I). No setor existem outros equipamentos como centrífugas, estufas e microscópios.

7.1. Controlo de qualidade

O controlo de qualidade interno serve para avaliação das cartas de suscetibilidade antimicrobiana, onde são testadas estirpes *American Type Culture Collection* (ATCC) de forma a ser garantida uma maior precisão e exatidão na identificação bacteriana de estirpes sensíveis.

O controlo de qualidade externo é avaliado com uma amostra microbiológica de uma entidade externa chamada “*United Kingdom National External Quality Assessment Service*” (UK NEQAS) que vem acompanhada de informações clínicas. Os resultados são emitidos à entidade para posterior avaliação da qualidade.

7.2. Exame microscópico direto

As amostras são observadas em exame microscópio direto de forma a permitir a avaliação rápida de características morfológicas de microrganismos.

No laboratório AVELAB são efetuadas colorações de Gram, e Ziehl-Neelsen e a Coloração de Azul de Lactofenol para a identificação de bactérias e fungos, respetivamente ao microscópio.

7.3. Coloração de Gram

A coloração de Gram serve para identificar a morfologia bacteriana para, distinguir se são Gram positivas ou Gram negativas.

As bactérias Gram positivas possuem uma camada grossa de peptidoglicano, membrana plasmática, proteínas e complexos antigénicos (ácidos lipoteicóicos e teicóicos) que têm função de aderência (Nester *et al.*, 2012). Estas bactérias Gram positivas retêm o violeta de genciana (primeiro corante), corando de roxo escuro. Por outro lado, as bactérias Gram

negativas possuem uma membrana externa onde existem lipopolissacarídeos, porinas que servem de canal para a passagem de vários antibióticos, um peptidoglicano mais fino e uma membrana plasmática (Nester *et al.*, 2012). As bactérias Gram negativas descoram com o diferenciador (álcool-acetona) e coram de rosa com o corante secundário, a Carbofucsina. Após a preparação, faz-se a observação microscópica com uma gota de óleo de imersão, na objetiva de 100x.

Muitas bactérias Gram-negativas causam patologias nos seres humanos como: infecções intestinais e urinárias, gonorreia, entre outras (Nester *et al.*, 2012).

7.4. Coloração Ziehl-Neelsen

A coloração Ziehl-Neelsen é um procedimento usado para detecção bacilos álcool – ácido resistentes (BAAR) que não absorvem facilmente os corantes, como por exemplo as micobactérias. Estas têm uma parede celular com altas concentrações de ácidos micólicos, que impedem a absorção de corantes como os usados na coloração de Gram (Nester *et al.*, 2012).

A coloração requer várias etapas: adiciona-se um corante vermelho (fucsina de Ziehl) no esfregaço e aquece-se lentamente o vidro até à formação de vapores, o que facilita a coloração. A adição do álcool-ácido (diferenciador) descora as bactérias que não têm estes ácidos micólicos na sua parede celular. Como resultado do procedimento da coloração, os microrganismos álcool-acido-resistentes são rosa-avermelhados, tornando-os fáceis de distinguir de células e outros microrganismos que estão corados de azul (azul metileno) (Nester *et al.*, 2012).

7.5. Coloração de Azul de Lactofenol

No laboratório Avelab a amostra mais recebida para a pesquisa de fungos são unhas, utiliza-se o corante azul de lactofenol. No entanto, existem outras amostras que podem ser recebidas como cabelos, escamas de pele, entre outras.

7.6. Meios de cultura

Após o exame microscópico procede-se ao exame cultural. Este serve para promover o crescimento de colónias dos agentes patogénicos presentes na amostra, para posterior identificação em antibiogramas.

Existem meios de cultura sólidos e meios de cultura líquidos. Nos meios sólidos observa-se colónias isoladas e puras, já nos meios líquidos observa-se a turvação que significa crescimento bacteriano potenciado por ação de metabolitos presentes no meio (Martos *et al.*, 1997).

No laboratório Avelab usam-se diferentes meios de cultura (Tabela 2) e consoante o tipo de amostra que foi observada no exame microscópico direto é que vão ser selecionados. São divididos consoante a sua composição e podem ser:

- Meios não seletivos, onde o crescimento da maioria dos organismos ocorre sem requisitos exigentes;
- Meios seletivos, que são suplementados com inibidores que suprimem o crescimento de organismos indesejados;
- Meios de enriquecimento, que podem ser caldos ou meios sólidos, com nutrientes necessários ao crescimento bacteriano quer esteja presente uma única ou várias espécies de microrganismos;
- Meios diferenciais, que pela adição de ingredientes específicos ou corantes permitem a identificação de microrganismos de diferentes colónias.

Os meios inoculados com as bactérias em estudo são incubados na estufa entre 35°C e 37°C durante 18-24 horas. Para bactérias exigentes em atmosfera de 5% a 10% de dióxido de carbono.

Tabela 2 - Meios e caldos usados no laboratório Avelab e a sua função (Murray *et al.*, 2016)

Meios de cultura	Função
CHROMagar Orientation	Meio nutritivo pois permite o crescimento de todo o tipo de bactérias e diferencial porque é cromogéneo (espécie desenvolve colónias com uma cor específica).
ChromID MRSA SMART (Gelose <i>Staphylococcus aureus</i> Meticilina Resistente)	Meio seletivo e diferencial (cromogénio) que permite isolamento e deteção de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente ou não à meticilina.
ChromID StreptoB	Meio cromogénico para rastreio de <i>Streptococcus agalactiae</i> em amostras vaginais/retais.
Caldo Todd-Hewitt	Meio seletivo, inibidor de bactérias Gram negativas e de enriquecimento para <i>Streptococcus</i> do grupo B (<i>S. agalactiae</i>) a partir de exsudados vaginais e retais.
Caldo de Selenito	Meio líquido enriquecido para a <i>Salmonella spp</i> em amostras de fezes porque inibe a maioria das Enterobacteriaceae.
Gelose Campyloset	Meio seletivo para o isolamento de <i>Campylobacter spp.</i> a partir de amostras de fezes (atmosfera de microaerofilia).

Gelose Candida Select	Meio diferencial e seletivo identificação da espécie <i>Candida albicans</i> e diferenciar presuntivamente outras espécies (<i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida kefyr</i> , entre outras).
Gelose de chocolate (PVX)	Meio enriquecido e não seletivo estimula o crescimento de <i>Neisseria spp.</i> e <i>Haemophilus spp.</i>
Gelose CLED	Meio diferencial e não seletivo no isolamento de bactérias presentes na urina (infecções). Tem (“swarming”) pelo <i>Proteus spp.</i>
Gelose MacConkey	Meio seletivo para Gram negativo e diferencial para permite distinguir as bactérias fermentadoras das não fermentadoras, inibem algumas bactérias Gram positivas.
Gelose Manitol Salgado	isolamento de <i>Staphylococcus spp.</i> e a identificação presuntiva de <i>S. aureus</i> inibe a maior parte dos Gram negativo.
Gelose Mueller-Hinton	Meio não seletivo para o estudo da suscetibilidade aos antimicrobianos (método de difusão em disco).
Gelose Sabouraud Gentamicina Cloranfenicol	Meio seletivo para isolamento de fungos e leveduras.
Gelose de Sangue	Meio não seletivo e diferencial que permite o crescimento de microrganismos fastidiosos ou não fastidiosos com a observação do tipo de hemólise.
Meio Löwenstein-Jensen (LJ)	Meio de isolamento seletivo para as micobactérias.
Levine	Meio de isolamento seletivo para bactérias Gram negativo nomeadamente enterobacterias.
Salmonella-Shigella agar (SS)	Meio seletivo e diferencial para crescimento isolado de <i>Salmonella spp.</i> e <i>Shigella spp</i> em amostras fecais.

7.7. Testes de identificação presuntiva

Depois da observação do crescimento bacteriano nos meios de cultura que foram previamente incubados, na maioria das vezes é necessário realizar alguns testes manuais bioquímicos que ajudam na identificação das bactérias respetivas (Tabela 3).

Tabela 3 - Provas de identificação bacteriana usada no Laboratório Avelab e sua função (Nester et al., 2012)

Teste	Para que serve
Teste da Catalase	Deteção da catalase em bactérias, distinguindo <i>Staphylococcus spp.</i> (catalase positiva) de <i>Streptococcus spp</i> (catalase negativa) por adição de peróxido de hidrogénio (H ₂ O ₂).
Teste da Coagulase	Deteta a coagulase (fator aglutinante) em microrganismos. Diferenciação entre <i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase-positiva) dos estafilococos coagulase-negativa.
Teste do Indol	Pesquisa a enzima triptofanase e determina a capacidade das bactérias que a possuem de degradarem triptofano produzindo indol, ácido pirúvico e amónio. Se a coloração na superfície do meio for cor de cereja o teste é positivo (exemplo: <i>Escherichia coli</i>).
Teste da Oxidase	Distingue entre a família <i>Enterobacteriaceae</i> por exemplo a (<i>Escherichia coli</i>) (oxidase negativa) de outros <i>Pseudomonas</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Campylobacter</i> (oxidase positiva indicada pela cor purpura).
Teste TDA (triptofano-desaminase)	É um meio com ureia indol após a adição de cloreto férrico diferencia bacilos Gram negativos e urease positiva baseado na capacidade de produção de ácido indolpirúvico. Reação positiva o meio adquire uma coloração acastanhada e o pH aumenta e pelo contrário de uma reação negativa onde o meio adquire uma coloração alaranjada.

7.8. Antibiógramas

Os TSA são realizados em bactérias que, são isolados de diferentes amostras clínicas para determinar que agentes antimicrobianos podem ser eficazes no tratamento de infeções (Marsik and Mister, 2019).

No laboratório Avelab, é utilizado o Vitek 2 Compact. Este é um método automatizado que permite a identificação microbiana e testes de sensibilidade aos antibióticos. Este método também permite melhorar a eficiência do laboratório com o baixo tempo de processamento e possibilidade de realização rápida de relatórios (Biomérieux USA, 2023).

Para fazer esta identificação são usadas colónias previamente isoladas em meios de cultura (Tabela 2) e identificadas como Gram positiva ou Gram negativa. Para os testes é feita uma suspensão para identificação da bactéria segundo a escala de turvação McFarland (Gram negativo 0.55-0.65 McFarland; Gram positivo 0.65+ McFarland: *Campylobacter spp.*, *Neisseria spp.* e *Haemophilus spp* 2.70-3.30 McFarland) que é medida com a ajuda de um densitómetro.

O teste de sensibilidade é feito a partir da amostra de identificação em que são pipetados 145µL para bactérias Gram negativo e 280µL para bactérias Gram positivo.

A Tabela 4 mostra as cartas de identificação e os testes de sensibilidade usados no Laboratório Avelab.

Tabela 4 - Cartas de identificação e respetivo TSA utilizado no laboratório Avelab

Carta de identificação (ID)	Teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA)
Gram Negativos	N355 (<i>Enterobacteriaceae</i>); N373 (<i>Pseudomonas spp.</i> e <i>Acinetobacter spp.</i>).
Gram Positivos	P648 (<i>Staphylococcus spp.</i>); P586 (<i>Enterococcus spp.</i>); STO3 (<i>Streptococcus spp.</i>)
NH	<i>Campylobacter spp.</i> , <i>Neisseria spp.</i> e <i>Haemophilus spp.</i>

Quando existem falhas no equipamento, utiliza-se o método TSA manual Kirby-Bauer (método difusão em disco) em gelose Mueller-Hinton através da técnica de sementeira em toalha onde são colocados os discos impregnados de antibióticos que permitem determinar a concentração mínima inibitória (CMI). Após incubação, são medidos os diâmetros dos halos de inibição de crescimento para cada disco e os resultados são comparados com as tabelas do EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) e são classificados como sensível, intermédio ou resistente (Marsik and Mister, 2019).

7.9. Produtos biológicos

No setor de Microbiologia do laboratório Avelab, chegam várias amostras de produtos biológicos que devem ser processados de acordo com os respetivos procedimentos específicos e também de acordo com o microrganismo que se pretende analisar.

7.9.1. Urina

As infeções do trato urinário (ITUs) estão entre as infeções bacterianas mais comuns e, podem ser assintomáticas ou sintomáticas. Ocorrem com mais frequência em mulheres, uma vez que a sua uretra tem um menor comprimento e as bactérias chegam à bexiga (Cistite) mais rapidamente do que nos homens, mas também afeta idosas, pacientes que fizeram transplante renal, crianças, entre outros (Reid 2019).

Podem ser causadas por fungos (*Candida albicans*) ou bactérias, a mais comum é a *Escherichia coli* que pode causar infeção sem ter outras doenças associadas. Existem outras Enterobactérias que podem provocar infeções urinárias se o paciente estiver internado e com

fatores de risco associados como algália permanente, temos por exemplo a *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus coagulase negativa*, *Enterobacter spp.*, entre outras (Reid 2019).

Tabela 5 - Produto Biológico do trato urinário com o seu método de colheita e processamento respetivo

Produto biológico	Método de colheita	Método de Processamento
Urina	<p>Lavar bem as mãos e em seguida a região urogenital com água e sabão</p> <p>Adultos: Jato intermédio da primeira urina da manhã para um recipiente esterilizado após desperdiçar a primeira porção do jato urinário</p> <p>Crianças: Colher para um saco coletor estéril e depois transferir para um recipiente esterilizado Transporte imediato ou sob refrigeração de 2°C a 8°C até 18 horas</p>	<p>Centrifuga-se a amostra para a observação do sedimento urinário ao microscópio.</p> <p>Exame direto: Observação e contagem de: Células epiteliais; Cilindros; leucócitos; Eritrócitos; - (Reportar parasitas flagelados caso existam, fungos ou cristais(muitos).</p> <p>Coloração Gram: Gram positivo- coco em cacho ou cadeia Gram negativo- Bacilos e Diplococcos Fungos leveduriformes e pseudohifas</p> <p>Exame cultural: Meio CHROMagar Orientation, meio gelose de sangue, Meio CLED, Meio PVX, Meio Sabouraud.</p>

Após a incubação no meio de cultura, verifica-se a presença ou não de crescimento bacteriano, assim procede-se a contagem de colónias e se necessário efetuar identificação presuntiva (Tabela 3). Na presença de polimorfismo bacteriano sugerir a repetição de colheita de urina com os devidos cuidados de assepsia. Depois realiza-se o TSA.

7.9.2. Exsudados Vaginais, Retais e Uretrais

As infeções no trato urogenital afetam homens como mulheres e podem ser provocadas por bactérias, leveduras ou vírus.

A vaginite é uma inflamação de etiologia infecciosa ou não infecciosa da mucosa vaginal. A infeção vaginal caracteriza-se pela presença de corrimento vaginal, prurido, eritema e odor. As principais causas da vaginite de origem infecciosa são vaginose bacteriana (VB) a candidíase vulvovaginal (*Candida albicans*) e a tricomoníase (*Trichomonas vaginalis*).

A uretrite gonocócica é caracterizada pela presença de corrimento uretral e/ou disúria provocado por *Neisseria gonorrhoeae*. A uretrite não gonocócica deve-se à presença de tricomoníase (*Trichomonas vaginalis*).

Muitas mulheres grávidas, para rastreio fazem a pesquisa de *Streptococcus agalactiae* do grupo b de Lancefield, uma vez que aquando da gravidez há um grande risco de transmissão desta bactéria durante o parto ao recém-nascido. Assim é possível prevenir infeções invasivas como pneumonia, meningite, entre outras para o recém-nascido (Suvarna and Mahon, 2019).

O resultado é positivo se no meio crescer colónias formato arredondado, de pequenas dimensões e cor-de-rosa, sugestivas de *Streptococcus agalactiae*, no entanto se crescer colónias azuis o resultado vai ser dado como negativo.

Tabela 6 - Produtos Biológicos do trato genital com os seus métodos de colheita e Processamento respetivo

Produto biológico	Método de colheita	Método de Processamento
Exsudados vaginais	Higiene da região perianal e vulvovaginal com água e sabão; Recolha uma zaragatoa e depois colocar no meio de conservação para exame cultural e direto conservação da amostra à temperatura ambiente até 24horas.	Exame cultural (inocular a zaragatoa) em Meio Gelose de sangue, Meio PVX e Meio Sabouraud. Exame direto: Observação de células epiteliais, leucócitos, eritrócitos e protozoárias flagelados (<i>Trichomonas vaginalis</i>); Coloração Gram: Observação “clue cells”, Bacilos Dörderlein e pleomórficos; Cocobacilos de Gram variável sugestivos de <i>Gardnerella vaginalis</i> ; Bacilos de Gram negativo curtos e curvos sugestivos de <i>Mobiluncus spp</i> ; Fungos leveduriformes ou pseudohifas.
Exsudados uretrais	Higienização da glande com água e sabão; Colher antes da primeira urina da manhã, (quando não é possível, aguardar no mínimo 1 hora após a micção); Colher zaragatoa para exame cultural e exame direto; Conservação e transporte à temperatura ambiente até 24horas.	Exame cultural (inocular a zaragatoa) em Meio PVX e Meio Sabouraud. Exame direto: Observação de leucócitos, eritrócitos e protozoários flagelados (<i>Trichomonas vaginalis</i>); Coloração Gram: Observação de Diplococos de Gram negativo intra e extracelulares; Fungos leveduriformes ou pseudohifas.
Exsudados vaginorretais	Colheita vagino-retal (o contacto fecal deve ser evitado); Colher uma zaragatoa para exame cultural	A amostra inoculada primeiramente em caldo Todd-Hewitt e após 24 horas repicar para o meio sólido chromID StreptoB.

Depois do respetivo tempo de incubação verifica-se o crescimento bacteriano, e faz-se a identificação bacteriana e os TSA

7.9.3. Infecções do trato respiratório

O trato respiratório desempenha um papel importante na defesa contra infecções, através de barreiras naturais como, pêlos nasais, células mucociliares que revestem as superfícies mucosas, microbiota normal, entre outras. As infecções podem ser causadas por um vírus, uma bactéria, um fungo ou um parasita e são específicas de acordo com a área atingida (Pacheco and Cook, 2019).

7.9.3.1. Exsudados Nasofaríngeos

No trato respiratório superior, as infecções mais comuns são: faringite, sinusite, laringite, rinite, entre outras. No setor de Microbiologia da Avelab, chegam exsudados orofaríngeos para pesquisa de *Streptococcus* b hemolíticos do grupo A de Lancefield e exsudados nasais para pesquisa de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). A meticilina é um antibiótico muito usado em ambientes hospitalares para o tratamento destas infecções, pertence ao grupo das penicilinas, assim a resistência a estes antibióticos é um problema devido ao grande potencial de disseminação e alta mortalidade (Clark 2019).

Tabela 7 - Produto Biológico do trato respiratório superior com o seu método de colheita e processamento respetivo

Produto biológico	Método de colheita	Método de Processamento
Exsudados Nasofaríngeos	<p>Para exsudados faríngeos: Colher a amostra com uma zaragatoa pela zona das amígdalas, porção posterior da faringe e qualquer área inflamada ou ulcerada, evitando tocar na língua e úvula; Transporte imediato ao laboratório ou colocar em meio de transporte.</p> <p>Para exsudados nasais: Recolher com zaragatoa inserida no orifício nasal(até encontrar uma certa resistência) e rodar a zaragatoa na mucosa nasal Transporte imediato ou colocar em meio de transporte ou refrigerar por um período máximo de 8 horas entre 2°C a 8°C.</p>	<p>Pesquisa de antígeno no <i>Streptococcus</i> do grupo A em amostras da faringe por métodos imunocromatográficos.</p> <p>Exame cultural para amostras da orofaringe: Meio Gelose de sangue</p> <p>Pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA) com exame cultural no meio ChromID MRSA SMART.</p>

7.9.3.2. Expetoração

As infecções no trato respiratório inferior ocorrem na traqueia, nos brônquios, nos bronquíolos e alvéolos, dando origem a bronquiolites, pneumonias entre outras. Estas acontecem, quando os microrganismos patogênicos colonizam ou invadem as vias aéreas superiores e se disseminam para o pulmão por inalação de aerossóis infecciosos, aspiração e via sanguínea (Pacheco and Cook, 2019).

No setor de Microbiologia, a amostra mais recebida no laboratório é a expetoração e nesta faz se exame direto e exame cultural para pesquisa de bactérias patogênicas e micobactérias.

Tabela 8 - Produto Biológico do respiratório trato respiratório inferior com o seu método de colheita e processamento respetivo

Produto biológico	Método de colheita	Método de Processamento
Expetoração	Colher a primeira expetoração da manhã em jejum para 3 recipientes estéreis; Transporte imediato ou deve ser refrigerada entre 2° a 8°C num período máximo de 24 horas.	Exame direto: Observação de numerosas células epiteliais pavimentosas não tem critérios para ser semeada; Se observação de poucas células epiteliais pavimentosas e muitos leucócitos Coloração de Gram para avaliação da flora predominante presente na amostra Coloração de Ziehl-Neelsen para a pesquisa de bacilos ácido-álcool-resistentes como o <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , conhecido por bacilo de Koch (BK). Exame cultural: Meio PVX, meio gelose de sangue e Gelose MacConkey.

7.9.4. Fezes

No ser humano existe uma grande variedade de bactérias que podem causar infecções no trato gastrointestinal. A maior parte da colonização deste, é feita pela família das bactérias Enterobacteriaceae, no entanto existem bactérias desta família que não fazem parte da flora intestinal como *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.*, entre outras.

Tabela 9 - Produto Biológico trato gastrointestinal com o seu método de colheita e processamento respetivo

Produto biológico	Método de colheita	Método de Processamento
Fezes	Para exame Bacteriológico e Micológico: Colher para um recipiente limpo, seco, estéril, uma pequena porção de fezes Conservar as fezes entre 2° a 8°C até 72 horas se não conseguir entrega imediata	Exame direto: Observação de: leucócitos e eritrócitos; Coloração Gram: Observa-se a flora predominante; Exame cultural: Caldo selenite; Meio Salmonella-Shigella (SS); Meio Sabouraud; Meio Campyloset (meio para <i>Campylobacter spp.</i>).

7.9.4.1. Pesquisa de Rotavirus e Adenovirus nas fezes

O Rotavírus e adenovírus são as principais causas de gastroenterite infantil (serotipos 40 e 41). O adenovírus é transmitido via fecal-oral, originando uma gastroenterite viral que tem um efeito mais significativo em lactentes e faz um grande dano tecidual, que leva a uma grande perda de fluidos e eletrólitos podendo ser fatal (Murray *et al.*, 2016).

São usados testes imunocromatográficos para detetar especificamente a presença de antigénios de agentes patogénicos nas fezes. Se houver presença dos vírus na amostra a linha controlo e as linhas teste aparecem coloridas.

7.9.4.2. Pesquisa de *Helicobacter pylori* nas fezes

São usados testes imunocromatográficos para detenção qualitativa e presuntiva de antigénios de *Helicobacter pylori* em fezes. Se houver presença da bactéria na amostra a linha controlo e a linha teste aparecem coloridas.

8. Conclusão

O estágio no laboratório Avelab, permitiu-me a passagem pelos vários setores para adquirir e aprofundar os diversos conhecimentos teóricos que fui aprendendo durante o Mestrado em Análises Clínicas. Aprendi vários procedimentos laboratoriais como por exemplo controlo de qualidade, processamento de amostras, distribuição das amostras, validação dos resultados entre outras. Com estes novos conhecimentos, sinto que estou competente para iniciar a minha carreira a nível profissional, devido a ajuda dos professores que foi excelente e aos técnicos do laboratório da Avelab, que foram muito acessíveis e pacientes em ensinar tudo o que sabem para melhorar o nosso desempenho curricular.

9. Bibliografia

Apple Fred S, Goetze Jens Peter, Jaffe Allan S. Cardiovascular Disease In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier, Missouri, pp.632-650, 2015.

Bazydlo Lindsay A.L, Landers James P. Electrophoresis In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier, Missouri, pp.171-182, 2015.

Biomerieux – Vitek 2 Compact Instrument, USA, 2023. [Consultado a 23-01-2023]. Disponível em: <https://biomerieuxdirect.com/industry/Bacteriology/ID-AST-Auto/Automated%3AVITEK-system/VITEK-2-Compact-Equipment/VITEK-2-Compact-InstrumentSalesNew/VITEK%26reg-2-COMPACT/p/27630>

Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, et al. Errors in laboratory medicine. Clin Chem. 48, 691-698, 2002.

Clark Nina M. Skin and Soft Tissue Infections In: Mahon Connie R, Lehman Donald C. (6th Ed), Diagnostic Microbiology. Elsevier, Missouri pp.802-803, 2019

Delaney MP, Price CP, Lamb EJ. Kidney Disease In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier, Missouri, pp. 651-674, 2015.

D’Orazio Paul, Meyerhoff Mark E. Electrochemistry and Chemical Sensors gases In: Burtis CA, Bruns DE (6th Ed), Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier, Missouri, pp.151-170, 2015.

Dennis J. Ernst. Collection of Diagnostic Venous Blood Specimens, (7th Ed). pp.7-30, 2017.

Diagnóstico e classificação da Diabetes Mellitus, in Norma da Direção Geral de Saúde Norma nº 002/2011

Diário da República nº98. (2001). Manual de Boas Práticas Laboratoriais [Acedido a 3 de outubro de 2022]. Disponível na internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/qualidade/manual_de_boas_praticas_laboratoriais_despacho_8835_2001__3595280995cb5f62196dbc.pdf

Dufour DR. Liver Disease In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier, Missouri, pp.700-723, 2015.

Forbes Betty A, Sahm Daniel F, Weissfel Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology (12th Ed) St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. ISBN 139780323030656.

Gaw Allan, Srivastava Rajeev, Murphy Michael J, O'reilly Denis St. J, Cowan Robert A. Clinical Biochemistry: An Illustrated Colour Text (5th Ed). pp.12-35, 2013.

Gaw Allan, Srivastava Rajeev, Murphy Michael J, O'reilly Denis St. J, Cowan Robert A. Clinical Biochemistry: An Illustrated Colour Text (5th Ed). pp.52-53, 2013.

Higgins Trefor, Eckfeldt John H, Barton James C, Doumas Basil T. Hemoglobin, Iron, and Bilirubin gases In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier, Missouri, pp.499-521, 2015.

Hortin Glen L. Amino Acids, Peptides, and Proteins In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier, Missouri, pp.286-317, 2015.

Kaplan Joshua M, Roy Martin. Renal function In: Kaplan Lawrence, Pesce Amadeo (5th Ed), Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation 30pp.567-583, 2009.

Kricka L.J, Park Jason Y. Optical Techniques In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier, Missouri, pp.129-150, 2015.

Lamb Edmund J, Price Christopher. Creatinine, Urea, and Uric Acid In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier, Missouri, pp.364-375, 2015.

Lorenz John M. Physiology and Pathophysiology of Body Water and Electrolytes In: Kaplan Lawrence, Pesce Amadeo (5th Ed), Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation, pp.543-548, 2009.

Marsik Frederic J, Mister Paula. Antimicrobial Susceptibility Testing in: Mahon Connie R, Lehman Donald C. (6th Ed), Diagnostic Microbiology. Elsevier, Missouri pp.268-290, 2019.

Martos Pedro García; Barrio María Teresa Fernández del; SALIDO, Fernando Paredes. Microbiología clínica aplicada, 3ª Ed, Espanha, Editora Díaz de Santos, S.A., 1997. ISBN 8479782811

Murray Patrick, Rosenthal Ken S, Michael A. Pfaller. Medical Microbiology(8th Ed), pp.19-21, 2016. ISBN: 9780323299565

Nester Eugene W, Anderson Denise G, Evans Roberts, Jr, Nester Martha T. *Microbiology: A Human Perspective (7th Ed)*, pp.46-48, 2012. ISBN 9780073375311

Nester Eugene W, Anderson Denise G, Evans Roberts, Jr, Nester Martha T. *Microbiology: A Human Perspective (7th Ed)*, pp.58-61, 2012. ISBN 9780073375311

Nester Eugene W, Anderson Denise G, Evans Roberts, Jr, Nester Martha T. *Microbiology: A Human Perspective (7th Ed)*, pp.243-245, 2012. ISBN 9780073375311

Owen, J, Punt, J, Stranford, S. (2013). *Kuby Immunology (Freeman, Ed.; 7th ed.)*. ISBN: 9781464119910

Pacheco Susan M, Cook James L. Upper and Lower Respiratory Tract Infections In: Mahon Connie R, Lehman Donald C. (6th Ed), *Diagnostic Microbiology*. Elsevier, Missouri pp.758-791, 2019.

Pasquali Marzia, Longo Nicola. Newborn Screening and Inborn Errors of Metabolism In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier, Missouri, pp.870-884, 2015.

Prescrição e Determinação da Hemoglobina Glicada A1c in Norma da Direção Geral de Saúde Norma nº 033/2011 Atualizada: 06/12/2012

Reid Gail. Urinary Tract Infections In: Mahon Connie R, Lehman Donald C. (6th Ed), *Diagnostic Microbiology*. Elsevier, Missouri. pp.881-895, 2019.

Remaley Alan T, Rifai Nader, Warnick G. Russell. Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins and Other Cardiac Risk Factors Metabolism In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier, Missouri, pp.388-411, 2015.

Risteli Juha, Winter William E, Kleerekoper Michael, Risteli Leila Disorders of Bone and Mineral Metabolism In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier, Missouri, pp.741-768, 2015.

Sacks David B. Diabetes In: Burtis CA, Bruns DE (7th Ed), *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier, Missouri, pp.608-631, 2015.

Scott Mitchell G. et al., Electrolytes and blood gases In: Burtis CA, Bruns DE (6th Ed), *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier, Missouri, pp.431-439, 2008.

Skoog Douglas A, Holler F. James, Crouch Stanley R. Principles of Instrumental Analysis (7th Ed), *Cengage Learning*. 3, pp.58, 2018.

Skoog Douglas A, Holler F. James, Crouch Stanley R. Principles of Instrumental Analysis (7th Ed), *Cengage Learning*. 13, pp.320-322, 2018.

Suvarna Kalavati, Mahon Connie R. Streptococcus, Enterococcus, and Other Catalase-Negative, Gram-Positive Cocci In: Mahon Connie R, Lehman Donald C. (6th Ed), *Diagnostic Microbiology*. Elsevier, Missouri. pp.329-333, 2019.

10. Anexo

Tabela I - Alguns parâmetros de bioquímica com o respectivo método analítico utilizado pelo equipamento ALINITY ci

Analito	Amostra	Técnica/ Método
Ionograma (Na ⁺ ,K ⁺ ,Cl ⁻)	Soro/Plasma sem EDTA	Potenciometria
Ureia	Soro/Plasma/Urina	Fotometria
Creatinina	Soro/Plasma/Urina	Fotometria
Ácido úrico	Soro/Plasma/Urina	Fotometria
Microalbuminúria	Urina	Fotometria
Proteínas na urina	Urina	Fotometria
Proteínas totais	Soro/Plasma	Fotometria
Albumina	Soro/Plasma	Fotometria
Imunoglobulinas (IgG, IgA e IgM)	Soro/Plasma	Fotometria
Proteína C reativa	Soro/Plasma	Fotometria
Creatina Cinase	Soro/Plasma	Fotometria
Troponina	Soro/Plasma	Fotometria
Peptídeos natriuréticos	Soro/Plasma	Fotometria
Colesterol total	Soro/Plasma	Fotometria
Colesterol-LDL	Soro/Plasma	Fotometria
Colesterol-HDL	Soro/Plasma	Fotometria
Triglicerídeos	Soro/Plasma	Fotometria
Glucose	Soro/Plasma	Fotometria
Proteína C Reativa	Soro/Plasma	Fotometria
Creatinina Cinase	Soro/Plasma	Fotometria
Troponina	Soro/Plasma	Fotometria
Amónia	Soro/Plasma	Fotometria
Alanina aminotransferase	Soro/Plasma	Fotometria
Aspartato aminotransferase	Soro/Plasma	Fotometria
Fosfatase Alcalina	Soro/Plasma	Fotometria
Gama Glutamiltransferase	Soro/Plasma	Fotometria
Cálcio	Soro/Plasma	Fotometria
Fosfato	Soro/Plasma	Fotometria
Magnésio	Soro/Plasma	Fotometria